

Avaliação da Cicatrização Óssea Troclear de coelhos utilizando implantes à base de Policaprolactona, Beta-Trifosfato de cálcio e Wollastonita ou Bredigita associados ou não à Vancomicina

Evaluation of the Trochlear Bone Scarring of rabbits using implants based on Polycaprolactone, Calcium Beta-Trifosphate and Wollastonite or Bredigit associated or not with Vancomycin

DOI:10.34115/basrv4n5-005

Recebimento dos originais: 04/08/2020

Aceitação para publicação: 16/09/2020

Priscila Samara Figueirêdo de Araújo

Médica Veterinária

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande

Endereço: Rua Belmont Bezerra, 73, Canutos e Filhos, Caicó-RN, CEP: 59300-000

E-mail: priscilasamaravet@gmail.com

Joel Alves Camboim

Médico Veterinário

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande

Endereço: Av. Apolônio Nobrega, 177, Castelo Branco, João Pessoa-PB, CEP: 58050-260

E-mail: joelcamboim@gmail.com

Tábatah Rodriguez de Carvalho Pinheiro

Mestranda pelo programa de Pós-graduação em Ciência e Saúde Animal - UFCG

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande

Endereço: Rua João da Mata, nº 116, Apto 106, Brasília, Patos-PB, CEP: 58700-080

E-mail: tabatahrodriguez@hotmail.com

Edna Karolayne Pereira

Médica Veterinária

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande

Endereço: QS 10 conjunto 210C, Casa 16, Areal (Águas Claras), Brasília-DF, CEP: 71978-190

E-mail: ekpereira5@gmail.com

Fernanda Ramalho Ramos

Mestranda pelo programa de Pós-graduação em Ciência e Saúde Animal – UFCG

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande

Endereço: Rua João da Mata, 36, apto. 602, centro, Patos – PB, CEP: 58700-080

E-mail: fernandaramalhoramos@gmail.com

José Antônio Pires da Costa Silva

Mestrando pelo programa de Pós-graduação em Ciência Animal - UFCG

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande

Endereço: Rua Desembargador João Paes, 62, Tabira-PE, CEP: 56780-000

E-mail: joseantoniopires19@gmail.com

Mirele Adriana da Silva Ferreira

Médica Veterinária

Endereço: Sítio Laje de Onça, Zona Rural, Tavares-PB, CEP: 58753-000

E-mail: mihferreira17@gmail.com

Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá

Doutor em Ciência Animal pela Universidade Federal de Minas Gerais

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande

Endereço: Av. Universitária, S/N, Santa Cecília, Patos-PB, CEP: 58708-110

E-mail: mjcdesa@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a cicatrização óssea troclear de coelhos pelo uso de *scaffolds* à base de policaprolactona (PCL), beta-trifosfato de cálcio (β -TCP) e wallostonita (W) ou bredigita (BRE) associados ou não à vancomicina (VANCO). Foram utilizados 12 coelhos adultos, sendo 8 machos e 4 fêmeas, mestiços da linhagem Nova Zelândia, pesando em média 3,0 kg. Os animais tiveram seus membros divididos por sorteio em quatro grupos de acordo com a composição do biomaterial implantado. Os implantes foram introduzidos na tróclea femoral dos animais de acordo com o grupo experimental. Foram realizadas avaliações clínico-ortopédicas, radiográficas e histopatológica. Os animais apresentaram evolução clínica normal sem alterações da marcha ou atrofia muscular. Na avaliação radiográfica foi observada gradativa redução da reação inflamatória em comparação as avaliações dos 30 e 60 dias, sugerindo biocompatibilidade dos implantes em ambos os grupos, não foi observada diferença entre os grupos. Na avaliação histológica e morfométrica, os grupos com implantes PCL/ β -TCP/W/VANCO e PCL/ β -TCP/BRE/VANCO em sua composição apresentaram maior quantidade de tecido neoformado ao redor dos implantes do que os grupos PCL/ β -TCP/W e PCL/ β -TCP/BRE.

Palavras-chave: biomateriais, polímeros, regeneração tecidual.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the trochlear bone healing of rabbits by the use of polycaprolactone based scaffolds (PCL), calcium beta-trifosphate (β -TCP) and wallostonite (W) or bredigita (BRE) associated or not with vancomycin (VANCO). Twelve adult rabbits were used, 8 male and 4 female, mestizo from the New Zealand lineage, weighing on average 3.0 kg. The animals had their limbs divided by lot in four groups according to the composition of the implanted biomaterial. The implants were introduced in the femoral trochlea of the animals according to the experimental group. Clinical-orthopedic, radiographic and histopathological evaluations were performed. The animals presented normal clinical evolution without gait changes or muscle atrophy. In the radiographic evaluation a gradual reduction of the inflammatory reaction was observed in comparison to the 30 and 60 days evaluations, suggesting biocompatibility of the implants in both groups, no difference was observed between the groups. In the histological and morphometric evaluation, the groups with PCL/ β -TCP/W/VANCO and PCL/ β -TCP/BRE/VANCO implants in their composition presented a greater amount of neofomed tissue around the implants than the groups PCL/ β -TCP/W and PCL/ β -TCP/BRE.

Keywords: biomaterials, polymers, tissue regeneration.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, todas as áreas médicas vêm passando por grandes avanços pautados em melhorias substanciais na cura de doenças que antes causavam aos pacientes grande desconforto, piorando dessa forma a qualidade de vida, ou mesmo levando os pacientes ao óbito. Um dos principais responsáveis por tantas evoluções é a interdisciplinaridade com outras áreas, por exemplo: as engenharias, informática, robótica, entre outros.

Nesse contexto, a cirurgia em parceria com a engenharia de materiais formou uma área conhecida como engenharia de tecidos, o que se tornou de fundamental importância para o tratamento de lesões orgânicas em tecidos específicos, que apresentam baixa capacidade de regeneração. Dentre estes tecidos, podemos citar as cartilagens articulares, que mesmo com tantos aperfeiçoamentos médicos, ainda se apresentam como problema em potencial aos cirurgiões, pois sua capacidade regenerativa é muito limitada, o que provoca aumento da morbidade nos pacientes.

Só nos Estados Unidos da América no ano de 2001, os gastos com um tipo de lesão articular conhecido como osteoartrite (AO) foi de 89 bilhões de dólares, onde além dos gastos, estas lesões provocam um impacto profundo na qualidade de vida de pacientes portadores destas afecções (LEIGH et al., 2001). Os tratamentos atuais para regeneração das cartilagens articulares podem ser conservativos ou cirúrgicos, porém não apresentam bons resultados, uma vez que o tecido lesado é substituído por tecido fibroso ou fibrocartilagem, que apresentam funções biomecânicas inferiores ao tecido cartilagenoso.

Sendo assim, o uso dos biomateriais tem ganhado notoriedade dentro destes casos, visto que estes têm a proposta de oferecer aos pacientes um menor tempo de cura, podendo assim representar uma melhor opção no tratamento destes, além de que estes uma vez colocados no sítio da lesão, não necessitam serem removidos posteriormente, poupando assim o paciente de um novo procedimento cirúrgico.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no setor de Cirurgia de Pequenos Animais do Hospital Veterinário Ivon Macêdo Tabosa (HV) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) campus de Patos, após aprovação pelo Comitê de Ética do Uso de Animais (CEUA) da instituição sob o protocolo de número 018/2018.

- Desenho experimental

Foram utilizados ao todo 12 coelhos adultos, sendo 8 machos e 4 fêmeas, mestiços da linhagem Nova Zelândia, pesando em média 3,0 kg, provenientes de um criatório situado na cidade de Patos-PB.

Durante o período experimental, estes ficaram alojados em gaiolas individuais previamente higienizadas e foram vermifugados com albendazol 10% na dose de 20 mg/kg de peso vivo por via oral, permanecendo por um período de 10 dias antes do início da experimentação para adaptação, recebendo ração comercial específica para coelhos duas vezes ao dia e água potável à vontade.

Os grupos experimentais foram divididos de acordo com os implantes:

- **Grupo PCL/ β -TCP/W:** grupo constituído por animais que receberam implantes à base de policaprolactona (PCL), beta-trifosfato de cálcio (β -TCP) e wollastonita (W).
- **Grupo PCL/ β -TCP/W/VANCO:** grupo constituído por animais que receberam implantes à base de policaprolactona (PCL), beta-trifosfato de cálcio (β -TCP), wollastonita (W) e vancomicina (VANCO).
- **Grupo PCL/ β -TCP/BRE:** grupo constituído por animais que receberam implantes à base de policaprolactona (PCL), beta-trifosfato de cálcio (β -TCP) e bredigita (BRE).
- **Grupo PCL/ β -TCP/BRE/VANCO:** grupo constituído por animais que receberam implantes à base de policaprolactona (PCL), beta-trifosfato de cálcio (β -TCP), bredigita (BRE) e vancomicina (VANCO).

- **Obtenção dos *scaffolds***

Os implantes foram confeccionados no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO).

- ***Scaffolds* PCL/ β -TCP/W e PCL/ β -TCP/BRE:** estes foram preparados pelo método de evaporação do solvente seguido de lixiviação de partícula para obtenção dos *scaffolds* porosos, o agente lixiviado foi o Cloreto de Sódio (NaCl). Os procedimentos foram realizados com base nas pesquisas de Kothapalli et al. (2005). O NaCl utilizado como agente porogênico foi peneirado a fim de obter partículas com tamanho entre 100 e 500 micrômetros para favorecer a produção de poros no *scaffold* que proporcione a regeneração óssea. A percolação das partículas de NaCl é importante para a formação de poros interconectados. Portanto, a fração volumétrica do agente porogênico deve ser suficiente para proporcionar maior contato entre as partículas. Para obtenção das dispersões de PCL/ β -TCP/W, o agente porogênico foi adicionado ao diclorometano sob agitação magnética a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 30 minutos. Em seguida, o β -TCP e a wollastonita foram adicionados a mistura e ficaram sob agitação magnética por 1h a temperatura ambiente (25 ± 2 °C), posteriormente as soluções foram colocadas em banhos de ultrassom por 30min, para uma melhor homogeneização das partículas. Em

seguida, o PCL foi adicionado às dispersões até a completa dissolução do polímero. As dispersões foram deixadas sob agitação magnética e capela de exaustão para evaporação do solvente, por aproximadamente 4h, a fim de obter uma pasta que posteriormente foi moldada em molde de teflon para obtenção dos *scaffolds*. Estes, ainda no molde, foram deixados na capela de exaustão por 24h para completa evaporação do solvente. Após esse período, os mesmos foram retirados do molde e colocados em água deionizada por 3 dias para extração do NaCl. Para obtenção dos *scaffolds* PCL/TCP/BRE foi utilizada a mesma metodologia descrita anteriormente. A proporção de BRE/TCP e W/TCP foi determinada em 60-40%, em volume, respectivamente. A bredigita foi utilizada como fonte de Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Silício (Si). A wollastonita foi utilizada como fonte de Ca e Si, já o TCP foi utilizado como fonte de Ca e Fósforo (P).

- **Scaffolds PCL/ β -TCP/W/VANCO e PCL/ β -TCP/BRE/VANCO:** para obtenção das dispersões de PCL/ β -TCP/W/VANCO e PCL/ β -TCP/BRE/VANCO seguiu-se a mesma metodologia descrita na etapa anterior. O fármaco vancomicina foi adicionado à dispersão após a dissolução do polímero. As dispersões foram deixadas sob agitação magnética e capela de exaustão para evaporação do solvente, por aproximadamente 4h, a fim de obter uma pasta que posteriormente foi moldada em molde de teflon para obtenção dos *scaffolds*. Estes, ainda no molde, foram deixados na capela de exaustão por 24h para completa evaporação do solvente. Nesta etapa não foi realizada a lixiviação do agente porogênico a fim de evitar que o fármaco fosse liberado.

- Procedimento cirúrgico

No pré-operatório cada animal foi submetido a um jejum sólido por 6 horas e líquido por 2 horas. A tricotomia foi feita com aparelho específico e compreendeu ambos os joelhos, com ampla margem para o campo operatório. Foi administrado previamente ao procedimento operatório antibiótico profilático com cefalotina sódica na dose de 22 mg/kg via intravenosa (IV), 30 minutos antes da operação, com intuito de evitar processo infeccioso.

Como medicação pré-anestésica foi administrada acepromazina na dose de 1 mg/kg por via intramuscular (IM) e tiletamina-zolazepam quinze minutos após, para indução e manutenção anestésicas na dose de 10 mg/kg IM. Também foi realizada anestesia epidural lombo-sacra com mistura farmacológica de lidocaína 2% e bupivacaína 0,5% na proporção de 1/2/1/2, respectivamente, a compor um volume total de 0,22 mL/kg adicionado de 1 mg/kg de tramadol.

Figura 1 - Realização da anestesia epidural lombo-sacra.



Fonte: HVU-UFCG/CSTR (2018).

A antissepsia das áreas operatórias foi realizada com solução alcóolica de clorexidina 0,5%. Após a delimitação da área operatória com panos de campo, foi realizada uma incisão cutânea parapatelar lateral de 1 cm no joelho, seguida de artrotomia com exposição da articulação. Em seguida foi confeccionado uma lacuna óssea circular de 4 mm de diâmetro e 3 mm de profundidade com broca trefina. Logo após a confecção do orifício, os membros foram distribuídos de forma aleatória nos grupos experimentais e os *scaffolds* introduzidos. Em seguida a capsulorrafia com pontos “Wolf” interrompidos com fio náilon cirúrgico 2-0. Seguido pela redução do espaço morto do subcutâneo utilizando categute cromado 3-0 com padrão de sutura intradérmica e dermorrafia utilizando náilon cirúrgico 3-0 e padrão de sutura “Wolf” separados.

Nos primeiros 10 dias de pós-operatório (PO) foi feita a limpeza da ferida cirúrgica com solução de NaCl 0,9% e bactrovet spray até a remoção dos pontos externos. Para o controle da dor e também para evitar processo inflamatório exacerbado, foi administrado pela via intramuscular (IM), nos 3 primeiros dias de PO, meloxicam na dose de 0,2 mg/kg no primeiro dia e nos dois dias subsequentes 0,1 mg/kg.

Figura 2 - Delimitação do campo cirúrgico dos joelhos do coelho para realização do procedimento cirúrgico.



Fonte: HVU-UFCG/CSTR (2018).

Figura 3 - Incisão cutânea parapatelar lateral em joelho de coelho medindo aproximadamente 4 cm de comprimento.



Fonte: HVU-UFCG/CSTR (2018).

Figura 4 - Artrotomia e luxação patelar medial do coelho, com exposição da superfície troclear.



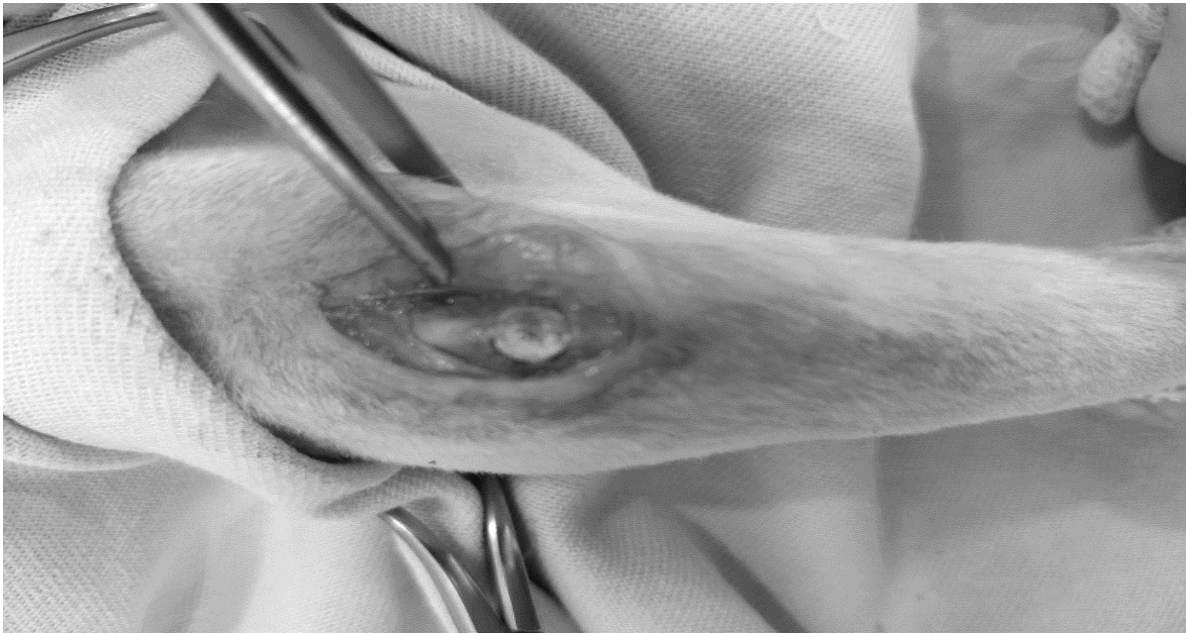
Fonte: HVU-UFCG/CSTR (2018).

Figura 5 - Confeção da lacuna óssea em superfície troclear do coelho para deposição do implante PCL/ β -TCP/BRE ou PCL/ β -TCP/W ou PCL/ β -TPC/BRE/VANCO ou PCL/ β -TPC/W/VANCO, com auxílio de broca trefina de 4mm de diâmetro, obtendo 3mm de profundidade.



Fonte: HVU-UFCG/CSTR (2018).

Figura 6 - Aplicação do implante recém moldado nas dimensões do defeito ósseo previamente estabelecido, em superfície troclear do coelho.



Fonte: HVU-UFCG/CSTR (2018).

- Avaliação clínico-ortopédica

Os animais foram avaliados diariamente durante os primeiros 10 dias de PO até a remoção dos pontos cirúrgicos externos. Após esse período, estes foram avaliados duas vezes por semana durante todo o período experimental. A avaliação se baseou do processo deambulatorio dos animais (presença de claudicação), presença de dor, e atrofia do grupo muscular quadríceps de ambos os membros que foi medida com auxílio de fita métrica. Para cada parâmetro avaliado foi atribuído escore de 1 para alteração discreta, 2 para alteração moderada e 3 para alteração intensa.

- Avaliação da marcha

A marcha anterior e posterior ao procedimento cirúrgico foi observada em cada animal a cada 15 dias totalizando 5 avaliações. Foram considerados como referência os parâmetros estabelecidos para claudicação em cães, adaptando-se para os coelhos. Durante este exame, os animais eram soltos em ambiente controlado onde uma parte estava revestida por um tapete de borracha e a outra possuía o piso liso.

- Avaliação radiográfica

Foram realizados exames radiográficos nas projeções craniocaudal (CC) e lateromedial (LM) dos joelhos operados nos 30 e 60 dias de PO. A avaliação se baseou na presença de lesões osteoartríticas, derrame sinovial e presença de osteófitos/osteosiófitos periarticular. Foram atribuídos escores de 1, 2 ou 3, para discreto, moderado ou intenso, respectivamente, de acordo com o grau de reação periosteal. Os

resultados foram então comparados entre os grupos experimentais de forma a acompanhar a evolução durante o período experimental.

- Avaliação histológica

Após 60 dias de acompanhamento, os animais foram eutanasiados para coleta de amostras e subsequente avaliação histopatológica. O protocolo de eutanásia adotado foi realizado através de administração de xilazina a 2% na dose de 5 mg/kg e cetamina a 5% na dose de 40 mg/kg, ambos por via IM. Após 15 minutos foi realizada a administração de propofol a 1% na dose de 5 mg/kg seguida da administração de cloreto de potássio a 19,1% na dose de 1 mL/kg, ambos por via intravenosa (IV).

Foram coletadas amostras dos seis membros de cada grupo experimental. Os membros de cada animal foram avaliados comparativamente entre os grupos. Após serem removidos os membros posteriores, foi realizada a coleta de amostras destinadas a avaliação histológica que foram fixadas em formalina tamponada a 10% durante 10 dias. Estas, depois da fixação, foram descalcificadas com uma solução de ácido nítrico a 7,5% durante 5 dias.

Posteriormente, os fragmentos foram desidratados por passagens em soluções de álcool em concentrações crescentes (70%, 80%, 90% e álcool absoluto). Em seguida, estes foram lavados em água corrente e incluídos em parafina líquida para subsequentemente serem cortados em fatias transversais de 5µm de espessura compreendendo a interface cartilagem/osso/lacuna óssea preenchida ou não pelo tratamento de acordo com o grupo experimental.

Seguindo o processo, os materiais teciduais foram montados em lâminas de vidro. De cada bloco foram obtidas 4 lâminas, sendo estas submetidas à técnica de coloração de hematoxilina-eosina (HE).

Para a avaliação histológica foram considerados achados de reparação sendo observados o tipo de tecido existente (fibroso e/ou ósseo), regularidade da superfície articular, celularidade existente e adesão tecidual ao biomaterial.

As mesmas lâminas seriam avaliadas pelo processo de morfometria para quantificação dos tecidos de reparo (fibroso, fibrocartilagem e/ou cartilagem hialina), comparando os grupos entre si, através do programa *Image Pro Plus*, versão 6.2®. Para ser efetuada essa análise, seriam feitas capturas e digitalização das imagens que compreenderam a interface implante/lacuna óssea. Imagens sequenciadas de cada lâmina seriam obtidas para quantificar em µm² todo o tecido neoformado em toda área da lacuna cartilaginosa. Foi obtida a média dos valores colhidos para cada grupo estudado e submetidos a análise estatística.

- Análise estatística

Para a comparação dos grupos quanto às diferentes avaliações, inicialmente foi conduzido o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para dados com distribuição normal, foi utilizada a análise de variância com um critério de classificação (*one-way* ANOVA), com comparações múltiplas pelo teste Dunnet; para dados com distribuição não-normal foi empregado o teste de Kruskal-Wallis, com comparações múltiplas pelo teste de Nemeyi. O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5% (ZAR, 1999) e foi empregado o software BioEstat 5.03.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES**- Avaliação clínico-ortopédica**

Durante todo o período de acompanhamento pós-operatório, nenhum animal apresentou algum episódio de claudicação, não sendo observada atrofia muscular, tumefação na região do joelho ou dor durante a palpação, flexão e extensão da articulação. A ausência de dor, assim como dos outros sinais de inflamação podem estar associados ao correto manejo da dor durante o pós-operatório assim como a abordagem cirúrgica bem empregada com mínimo de manipulação. Estes fatores são contribuintes à manutenção do uso dos membros operados, o que explica a ausência de atrofia muscular nos grupos quadríceps de ambos os membros.

Tais resultados condizem com Azevedo et al. (2012), que avaliou em seu experimento diferentes proporções de fosfato de cálcio na regeneração óssea de coelhos, associando ainda a ausência de processo inflamatório exacerbado a uma boa biocompatibilidade dos implantes ao tecido.

Também não foram observados sinais de infecção da ferida cirúrgica, o que pode estar associado a uma técnica asséptica durante todo o procedimento juntamente com a administração de antibiótico profilático no pré-operatório. Este fato também pode ser explicado devido à ausência de infecção prévia nos tecidos que receberam os implantes, como foi visto por Vergidis et al. (2015), a vancomicina se mostrou eficaz quando utilizada em um modelo experimental de ratos com osteomielite, o que sugere que o implante poderia ser utilizado em um modelo experimental para o combate à osteomielite.

- Avaliação da marcha

Durante todo o período de acompanhamento experimental, nenhum animal apresentou algum episódio de claudicação ou de qualquer alteração na marcha tanto no piso revestido quanto no piso liso, não havendo diferença entre os grupos experimentais. Isto pode ser explicado pela ausência de processo inflamatório exacerbado e de dor, fazendo com que os animais não apresentassem relutância à caminhar ou qualquer tipo de alteração em sua marcha.

- Avaliação radiográfica

Não foram observados sinais de doença articular, bem como não foram observadas diferenças significativas entre os grupos com relação aos escores de reação periosteal observados nas radiografias. Os escores se mantiveram moderados na avaliação com 30 dias, e reações discretas durante a avaliação aos 60 dias e estão representados na tabela 1. Estes indicam gradativa redução da reação inflamatória, sugerindo biocompatibilidade dos implantes em ambos os grupos.

Tabela 1. Médias de escores de reações periosteais avaliadas nas radiografias realizadas com 30 e 60 dias de pós-operatório.

	30 dias	60 dias
Grupo 1	1,0	1,3
Grupo 2	1,3	1,6
Grupo 3	1,4	1,2
Grupo 4	1,5	1,1

Fonte: HV/UFMG (2018).

Em ambos os momentos, foi possível observar em todos os grupos a presença de uma região de radiolucência compatível com o local de osteotomia.

Resultados semelhantes foram obtidos por Sousa Segundo et al. (2018) e Azevedo et al. (2012) onde ambos os estudos pesquisaram o uso de compostos contendo cerâmicas em sua composição, à exemplo da hidroxiapatita, que possui taxa de biodegradação mais lenta em relação a outros biomateriais. Assim como ocorre a relação com a policaprolactona, polímero de biodegradação lenta, estudado por Hendrikson et al. (2015) que fez a comparação biológica de implantes à base de PCL e ácido láctico para regeneração óssea.

- Avaliação histológica

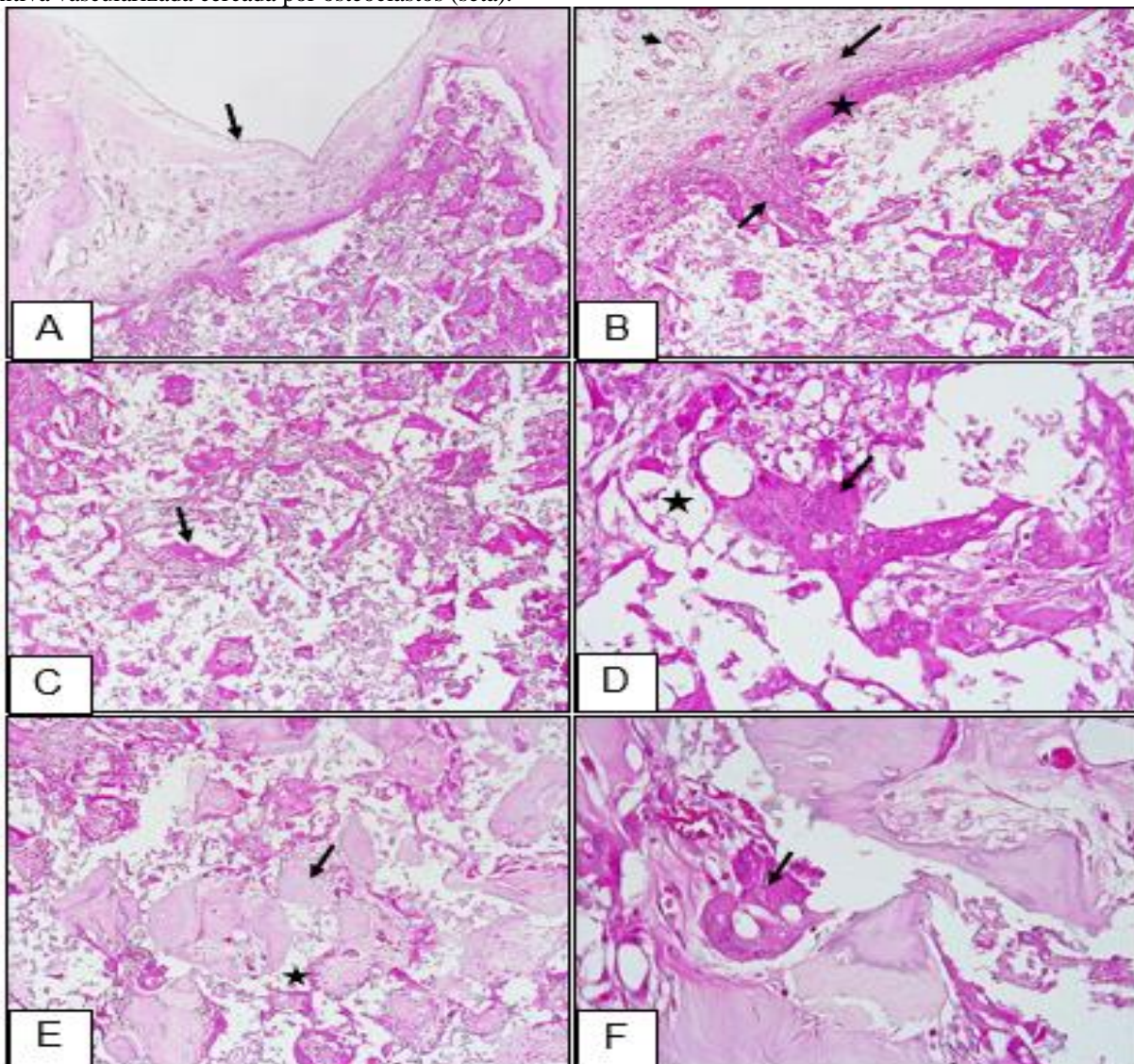
Durante as avaliações histológicas das amostras coletadas com 60 dias de PO, foi possível observar acentuada quantidade de células osteoprogenitoras por toda interface cartilagem/osso/lacuna óssea sendo em sua maioria osteoblastos, fibroblastos e osteoclastos, sinalizando a degradação e incorporação do implante. Estes achados são compatíveis aos de Guimarães et al. (2011) que avaliou histomorfometricamente o processo de reparo ósseo utilizando cimento fosfato de cálcio onde foram observados valores superiores de neoformação óssea nos grupos tratados com os implantes.

Resultados semelhantes foram também observados por Azevedo et al (2014) que comparou o uso de quitosana e β -TCP isoladamente ou em associação para regeneração óssea em coelhos, mostrando atividade osteoindutora.

Como observado por Azevedo et al. (2012), osteoblastos e osteoclastos, são células multinucleadas responsáveis por sintetizar os constituintes ósseos orgânicos, sendo capazes de armazenar fosfato e cálcio, contribuindo assim para mineralização da matriz óssea.

Os achados pertencentes aos grupos PCL/ β -TCP/W/VANCO e PCL/ β -TCP/BRE/VANCO apresentaram atividade celular semelhante aos grupos sem a associação à vancomicina, entretanto, nos grupos com a associação também foram observadas intensa presença de ilhotas ósseas, tecido neoformado e neovascularização em toda interface cartilagem/osso/lacuna óssea, o que pode indicar que a presença do fármaco intensificou o processo de cicatrização tecidual nesta região.

Figura 7 – Lâmina histológica do joelho de coelhos implantados com PCL/ β -TCP/BRE. (A) membrana conjuntiva (seta) no local do enxerto com biomaterial. (B) referida membrana bastante vascularizada (cabeça de seta) e contém algumas faixas de tecido conjuntivo denso (seta longa). Biomaterial enxertado (estrela). Projeções de tecido mesenquimal (seta curta). (C e D) forte reação de osteoclastos gigantes (seta) em redor de lacunas (estrela) contendo material basofílico amorfo finamente granular. (E e F) neoformação óssea (seta) ora cercada por membrana conjuntiva, ora cercada por osteoblastos. Entre estas formações nota-se espaços vazios contendo material finamente granular e vestígios de depósito de cálcio. Membrana conjuntiva vascularizada cercada por osteoclastos (seta).



Efeitos semelhantes foram descritos por Skelly et al. (2014) que relacionou a ação antibiótica da vancomicina a um benefício direto à capacidade osteoindutora do implante em seu estudo sobre a

utilização de compósitos à base de hidroxiapatita e vancomicina associados ou não a proteína morfogênica óssea na regeneração de defeitos ósseos não contaminados em ratos.

Em ambos os grupos experimentais foi possível observar a presença dos implantes após os 60 dias de PO, reafirmando assim os achados radiográficos e condizendo com os relatos de Azevedo et al. (2013) que utilizando hidroxiapatita e quitosana isoladamente ou associados para regeneração óssea em coelhos, notou que os grupos experimentais que continham biocerâmica apresentavam uma taxa mais lenta de biodegradação.

4 CONCLUSÃO

Com o presente trabalho podemos concluir que ambos os implantes apresentaram uma boa capacidade osteocondutora, assim como boa biocompatibilidade. E foi possível verificar que a adição da vancomicina potencializou a capacidade regenerativa do implante.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, A.S.; SÁ, M. J. C.; COSTA NETO, P. I.; FOOK, M. V. L.; PORTELA, R. A.; AZEVEDO S. S. Avaliação de diferentes proporções de fosfato de cálcio na regeneração do tecido ósseo de coelhos: estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 12-18, 2012.
- AZEVEDO, A.S.; SÁ, M. J. C.; FOOK, M. V. L.; COSTA NETO, P. I.; SOUSA, O. B.; AZEVEDO S. S. Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos. Estudo histológico e morfométrico. *Ciência Rural (UFSM. Impresso)*, v. 43, p. 1265-1270, 2013.
- AZEVEDO, A.S.; SÁ, M. J. C.; FOOK, M. V. L.; NÓBREGA NETO, P. I.; SOUSA, O. B.; AZEVEDO, S. S.; TEIXEIRA, M. W.; COSTA F. S.; ARAÚJO, A. L. Use of chitosan and B-tricalcium phosphate, alone and in combination, for bone healing in rabbits. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* v. 25, p. 481-486, 2014.
- GUIMARÃES, Karis Barbosa et al. Histomorphometric evaluation of calcium phosphate bone grafts on bone repair. *Brazilian Journal Of Otorhinolaryngology*, [s.l.], v. 77, n. 4, p.447-454, ago. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1808-86942011000400007>.
- HENDRIKSON, W.J.; et al. Biological and Tribological Assessment of Poly(Ethylene Oxide Terephthalate)/Poly(Butylene Terephthalate), Polycaprolactone, and Poly (L/DL) Lactic Acid Plotted Scaffolds for Skeletal Tissue Regeneration. *Advanced Healthcare Materials*. vol. 5, n. 2, 2015.
- KOTHAPALLI, Chandrasekhar R.; SHAW, Montgomery T.; WEI, Mei. Biodegradable HA-PLA 3-D porous scaffolds: Effect of nano-sized filler content on scaffold properties. *Acta Biomaterialia*, v. 1, n. 6, p.653-662, tradução nossa, nov. 2005.
- LEIGH, J. P.; SEAVEY, W.; LEISTIKOW, B. Estimating the costs of job related arthritis. *J Rheumatol.* v. 28, p. 1647-1654, 2001.
- SKELLY, J.D.; et al. J. Vancomycin-bearing synthetic bone graft delivers rhBMP-2 and promotes healing of critical rat femoral segmental defects. *Clin. Orthop. Relat. Res.* v. 472, p. 4015-4023, 2014.
- SOUSA SEGUNDO, F.A.; et al. Platelet-Rich Plasma, Hydroxyapatite, and Chitosan in the Bone and Cartilaginous Regeneration of Femoral Trochlea in Rabbits: Clinical, Radiographic, and Histomorphometric Evaluations. *Journal of Healthcare Engineering*. v. 2018, p. 1-6, 2018.
- VERGIDIS, P.; et al. Comparative activities of vancomycin, tigecycline and rifampin in a rat model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. *Journal of Infection*. 2015.
- ZAR, J. H. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 1999.