



Universidade Federal
de Campina Grande

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA REPARAÇÃO ÓSSEA UTILIZANDO
IMPLANTES DE SILICATO DE CÁLCIO EM TÍBIA DE COELHOS**

Peterson Renê da Silva Alexandre

2016



Universidade Federal
de Campina Grande

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA REPARAÇÃO ÓSSEA UTILIZANDO
IMPLANTES DE SILICATO DE CÁLCIO EM TÍBIA DE COELHOS**

Peterson Renê da Silva Alexandre

Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto

Patos, PB

Dezembro de 2016

A381a Alexandre, Peterson Renê da Silva
Avaliação histológica da reparação óssea utilizando implantes de silicato de cálcio em tíbia de coelhos / Peterson Renê da Silva Alexandre. – Patos, 2016.
37f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016.

"Orientação: Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto"

Referências.

1. Silicato de cálcio. 2. Tíbia. 3. Implantes. 4. Biomateriais. I. Título.

CDU 616-089:619

*“Sonhe... Enquanto tiver sonhos, haverá vida
e haverá motivos para se viver!”
(Autor desconhecido).*

AGRADECIMENTOS

Ao meu Grande Deus, sou grato por me permitir viver este sonho, me acrescentando forças em momentos de fraqueza, proporcionando esperança em momentos de desespero, derramando graça e misericórdia diariamente sobre a minha vida durante essa longa estrada na graduação.

Aos meus pais, Eliane Lopes e Josivan Ferreira ficam minhas eternas e imensas gratidões por acreditarem intensamente nos meus sonhos, por vivenciar todos os momentos que me foi permitido experimentar na graduação, gratidão essa que se estende desde o auxílio espiritual, moral, financeiro, educacional. Cheguei até o fim dessa jornada por nós.

Aos meus irmãos, Petrius Renato e Priscilla Karoline, pilares essenciais nessa jornada, ombros amigos que me fizeram falta em momentos difíceis longe de casa, porém sempre se fazendo presente prestando auxílio e conforto, minha gratidão por eles irá além das formas possíveis de retribuição, pelo resto da minha vida.

Às minhas tias, Vânia, Zete, Eda, Rosa, Eliane, Mônica, sou grato por agirem como mães enquanto estive distante, sempre se preocupando e mantendo meu sonho vivo, sendo meus suportes espirituais, educacionais, emocionais e financeiro. Essa conquista partiu de todo amor presente em cada coração dessas mães que Deus me abençoou.

Aos meus tios, Gera, Bio, Naldo, por serem exemplos de caráter e honestidade, financiadores dessa trajetória, conselheiros e acima de tudo, símbolos de amor familiar. Agradeço por acreditar em mim, até mais do que eu merecia.

Aos meus avôs, Josefa e Sebastião, só Deus sabe o quanto sou grato por ser neto de duas almas bondosas e generosas, por saber que estão também vivenciando, junto com toda nossa família, esse momento ímpar na minha história. Meus amados avós, essa conquista é nossa, pois permitiram que eu subisse mais um degrau na vida, me educando, amando, corrigindo, financiando e orando para que tudo pudesse sair conforme o planejado.

Aos meus avôs, Gilda (*in memoriam*) e Alexandre (*in memoriam*), infelizmente é um momento que não poderemos vivenciar juntos, mas levo-os no coração e com o propósito de orgulhá-los sempre, fazendo com que fiquem felizes com as conquistas que vieram e estão por vir.

Aos meus primos e prima, Yago, Willian, Lais, Larissa, Williane, Evelyn, durante muitos anos convivendo juntos, minha gratidão por serem auxiliares dessa jornada, por contribuírem inúmeras vezes, para que tudo ocorresse e o sonho pudesse ser sonhado.

Ao Pastor Josemir e Família, guiando-me espiritualmente e abençoado em momentos difíceis durante esses anos que morei fora de casa.

Aos meus amigos de turma, Tallisson, Emílio, Agrício, Michel, Davi, Arthur, Karol, Araceli, Taynara, Sandy, Priscila, Ana Luiza, André, Anderson, Marcelo, Renato, João Lucas, Jânio, que proporcionaram momentos inesquecíveis, onde não faltaram risadas, alegrias, choros e apoio em momentos delicados. Estarei sempre a disposição para ajudar no que for necessário.

Ao meu amigo, Marcelo Sá, muito grato por todo conhecimento adquirido durante o curto tempo que convivemos, imensa satisfação em aprender sobre cirurgia ortopédica veterinária e construir uma amizade sólida.

Aos meus amigos, Renato Otaviano, Gracineide Felipe, Lylian Karlla, Ana Clara, gratidão em ter trabalhado com vocês e adquirir muito conhecimento durante esses anos de convivência, com certeza lembrarei-me de vocês por onde eu passar, referenciando-os como meus primeiros instrutores e incentivadores no início da prática cirúrgica e anestésica. Muito obrigado e espero orgulhá-los com um bom trabalho na minha carreira.

A Renata Cortez, com certeza uma pessoa fundamental, principalmente nessa reta final de curso, agradecer todo esforço realizado para que eu pudesse conquistar dia a dia os objetivos diários, agradeço por se desdobrar em mil pra me ver feliz, em me suportar quando estou estressado. Agradeço seu carinho e amor todos os dias.

Aos meus professores, os aprendizados de hoje que levarei para vida profissional vem da qualidade extrema que vocês possuem, meu muito obrigado, em especial ao Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto, por me “adotar” como orientado, mesmo muito atarefado, aceitou a proposta de me acolher nessa reta final de curso.

Há muito mais pessoas que participaram ativamente da minha pequena história na cidade de Patos, no curso de Medicina Veterinária, na Universidade Federal de Campina Grande. Agradeço a todos, com o coração em alegria por ter convivido com cada um de vocês. Os nomes são muitos, que não caberiam em algumas folhas deste documento, mas

saibam, que não esqueci do que cada um de vocês fez por mim, e pouco a pouco, os que eu tiver oportunidade, irei retribuir, com muito amor e dedicação, assim como recebi de vocês.

O caminho é longo, o suor cairá diariamente sobre meu rosto, porém estou feliz em estar concluindo esta etapa e dando inicio a novos desafios! Obrigado Medicina Veterinária, por me mostrar que posso ser feliz, fazer o que amo e sonhar a cada dia com uma Medicina animal mais forte e viva!

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Sistema Ósseo	14
2.2 Biocerâmicas	14
2.3 Silicato de cálcio	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Pré-operatório	21
3.2 Transoperatório	21
3.3 Pós-operatório	22
3.4 Avaliação Microscópica	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5 CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS	34

LISTA DE FIGURAS

	PÁGINAS
FIGURA 1- Osteocondução observada em implantes de biocerâmica densa de silicato de cálcio após 12 meses de implantação em tíbia de ovelhas.....	18
FIGURA 2- Mapa da composição elemental da interface entre o osso cortical de tíbia de ovelhas e a biocerâmica densa de silicato de cálcio após 12 meses de implantação em tíbia de ovelhas.....	18
FIGURA 3- Perfis de liberação Ca^{2+} e aumento do pH da cerâmica silicato de cálcio em tampão Tris-HCl.....	19
FIGURA 4- Níveis de osteocalcina humana intacta em culturas de osteoblastos realizados na presença de silicato de cálcio.....	20
FIGURA 5- Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio. Setas vermelhas: trabéculas ósseas.....	24
FIGURA 6- Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio. Setas vermelhas: trabéculas ósseas.....	24
FIGURA 7- Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio. Setas vermelhas: cavitações com material basofílico granular.....	25
FIGURA 8- Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio. Setas vermelhas: cavitações com material basofílico granular.....	26
FIGURA 9- Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando a presença de osteoblastos (setas vermelhas), o implante de silicato de cálcio inerte (esfera preta) e o osso neoformado (esfera branca).....	27

FIGURA 10- Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando a presença de osteoblastos (setas vermelhas), o implante de silicato de cálcio inerte (esfera preta) e o osso neoformado (esfera branca).....	27
FIGURA 11- Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando a delimitação do defeito ósseo (barras pretas), osso neoformado (esfera preta), sistema de Havers e trabéculas ósseas (setas pretas).....	28
FIGURA 12- Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando a delimitação do defeito ósseo (barras pretas), osso neoformado (esfera preta), sistema de Havers e trabéculas ósseas (setas pretas).....	28
FIGURA 13- Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando a região cortical do osso neoformado (esfera preta), adjacente ao implante de silicato de cálcio (esfera branca).....	31
FIGURA 14- Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando o implante de silicato de cálcio (esfera preta) na região cortical com osso neoformado (seta vermelha).....	32

LISTA DE TABELAS

	PÁGINAS
Tabela 1- Valores individuais e médios da área de osso neoformado, em μm^2 , na região distal de tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, aos 30 (T30) e 60 (T60) dias após a cirurgia.....	29
Tabela 2- Valores individuais e médios da área de osso neoformado, em μm^2 , na região proximal de tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, aos 30 (T30) e 60 (T60) dias após a cirurgia.....	29
Tabela 3- Valores individuais e médios da área preenchida pelo implante, em μm^2 , na região distal de tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, aos 30 (T30) e 60 (T60) dias após a cirurgia.....	30
Tabela 4- Valores individuais e médios da área preenchida pelo implante, em μm^2 , na região proximal de tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, aos 30 (T30) e 60 (T60) dias após a cirurgia.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

β -Ca₃(PO₄)₂: β -Fosfato Tricálcico

α -Ca₃(PO₄)₂: α -Fosfato Tricálcico

β -TCP: β -Fosfato Tricálcico

α -TCP: α - Fosfato Tricálcico

TCP: Fosfato Tricálcico

HAp: Hidroxiapatita

BCP: Fosfato de Cálcio Bifásico

SiO₂: Óxido de Silício

Na₂O: Óxido de Sódio

CaO: Óxido de Cálcio

P₂O₅: Óxido de Fósforo

MgO: Óxido de Magnésio

CaF₂: Fluoreto de Cálcio

SBF: Meio Biológico Artificial

α -CaSiO₃: α -Silicato de Cálcio

β -CaSiO₃: β -Silicato de Cálcio

Ca²⁺: Cálcio

PO₄³⁻: Fosfato

OH⁻: Hidróxido

α -W: α -Wollastonita

W-TCP: Wollastonita-Fosfato Tricálcico

pH: Potencial Hidrogênionico

ALEXANDRE, PETERSON RENÊ DA SILVA. **Avaliação histológica da reparação óssea utilizando implantes de silicato de cálcio em tíbia de coelhos**. Patos, UFCG. 2016. 37p. (Trabalho de conclusão de curso de Medicina Veterinária).

RESUMO

A utilização dos diversos biomateriais existentes tem sido uma prática frequentemente estudada e utilizada na ortopedia veterinária, devido à necessidade de adequação mecânica de implantes e enxertos ao meio biológico onde será implantado. Os implantes à base de silicato de cálcio são possíveis substitutos do tecido ósseo, assim como todo composto que possui silicato em sua estrutura, apresentando favorável biocompatibilidade, desencadeando uma resposta osteogênica através da estimulação e ativação das células osteoblásticas. Recentemente tem sido proposta uma nova biocerâmica inspirada no Bioeutectic. Ela é produzida mediante a sinterização de uma mistura de pós de $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e $\alpha\text{-CaSiO}_3$ com a composição do ponto eutético do sistema (40 %m $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 60 %m $\alpha\text{-CaSiO}_3$) a 1350 °C. Objetivou-se com este estudo analisar a funcionalidade histológica e morfológica da biocerâmica composta por silicato de cálcio na reparação óssea, comparado a reparação fisiológica sem auxílio de implantes de qualquer outra natureza, em tíbias de coelhos. Foram utilizados 10 coelhos adultos, machos, da raça Nova Zelândia, hípidos, pesando em média 3,5 kg. Nas regiões metafisárias proximal e distal de ambas as tíbias, criou-se em cada uma delas um defeito circular em plano ósseo medindo 2,4 mm de diâmetro. Em um dos membros implantou-se o silicato de cálcio em ambos os defeitos criados. Os resultados obtidos demonstraram uma menor formação óssea das regiões onde o silicato de cálcio foi implantado, em relação à resposta da reparação fisiológica. Conclui-se que o implante de silicato de cálcio se mostrou bioativo, osteocondutor, e não citotóxico, porém retardou a cicatrização óssea.

ALEXANDRE, PETERSON RENÊ DA SILVA. **Histological Evaluation of Bone Repair Using Calcium Silicate Implants in Rabbit Tibia.** Patos, UFCG. 2016. 37 p. (Work of completion of course of Veterinary Medicine).

ABSTRACT

The use of the various existing biomaterials has been a practice frequently studied and used in veterinary orthopedics, due to the necessity of the mechanical adequacy of implants and grafts to the biological environment where it will be implanted. Calcium silicate implants are possible substitutes for bone tissue, as well as any compound that has silicate in its structure, presenting favorable biocompatibility, triggering an osteogenic response through the stimulation and activation of the osteoblastic cells. Recently, a new bioceramic inspired by Bioeutectic has been proposed. It's produced by sintering a mixture of α -Ca₃(PO₄)₂ and α -CaSiO₃ powders with the eutectic dot composition of the system (40% m α -Ca₃(PO₄)₂ 60% m α -CaSiO₃) at 1350 ° C. The purpose of this study was analyze the histological and morphological functionality of the bioceramics which are composed of calcium silicate in the bone repair, compared to the physiological repair without the aid of implants of any other nature, in rabbit's tibia. Ten healthy male New Zealand rabbits weighing on average 3.5 kg were used. In the proximal and distal metaphyseal regions of both tibias, a circular defect in the bone plane measuring 2.4 mm in diameter was created. In one of the limbs calcium silicate was implanted in both created defects. The obtained results demonstrated a smaller bone formation of the regions where the calcium silicate was implanted, in relation to the response of the physiological repair. It was concluded that the calcium silicate implant was bioactive, osteoconductive, and non-cytotoxic, but delayed bone healing

1 INTRODUÇÃO

A utilização dos diversos biomateriais existentes tem sido uma prática frequentemente estudada e utilizada na ortopedia veterinária, devido à necessidade existente que é a adequação mecânica de implantes e enxertos ao meio biológico onde será implantado ou enxertado. Os enxertos comumente utilizados na busca da reparação óssea incluem aloenxerto ósseo do osso esponjoso, autoenxerto e enxertos vascularizados da crista íliaca e da tíbia. Outra alternativa é a utilização de cimentos ósseos e cerâmicas bioativas preenchendo a região a ser reparada.

As biocerâmicas geralmente são utilizadas para fixação de tecidos conectivos duros. Possuem semelhança química e morfológica com a parte mineral dos tecidos ósseos ocorrendo a osteocondução, sendo a cerâmica substituída por novo tecido ósseo durante e sucessivamente ao tratamento com a vantagem de não causar rejeição. Biocerâmicas compreendem duas fases, orgânica e cerâmica, sendo esta segunda predominantemente hidroxiapatita.

Os implantes à base de silicato de cálcio são possíveis substitutos do tecido ósseo, assim como todo composto que possui silicato em sua estrutura, apresentando favorável biocompatibilidade e capacidade de unir-se ao tecido ósseo sadio, desencadeando uma resposta osteogênica através da estimulação e ativação das células osteoblásticas.

O silicato de cálcio possui propriedades hidráulicas e espontaneidade de consolidação mecânica ao entrar em contato com a água. Quando utilizado como cimento apresenta biocompatibilidade e bioatividade satisfatórios, sendo componente estrutural para implante ósseo.

Objetivou-se com este trabalho analisar a funcionalidade histológica e morfológica da biocerâmica composta por silicato de cálcio na reparação óssea, em coelhos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sistema Ósseo

O tecido ósseo possui conformação sólida, constantemente submetida a estresses que contribuem no seu desenvolvimento e arquitetura estrutural. A adaptação aos estímulos mecânicos por atrofia e hipertrofia, determina a arquitetura do esqueleto através de leis mecânicas (KISNER, 1998).

A Lei de Woff relaciona o crescimento ósseo aos estresses e estiramento localizados no osso; ou seja, é a capacidade do osso de adaptar-se às mudanças de tamanho, forma e estrutura, dependendo dos estresses mecânicos impostos a esse tecido (GOULD, 1993).

O estímulo mecânico incentiva o modelamento e remodelamento ósseo. Os ossos submetidos ao estiramento mecânico desenvolvem cargas elétricas, onde as regiões comprimidas, geralmente côncavas, apresentam uma carga negativa, e as regiões estendidas, tendem a ser convexas, apresentam uma carga positiva. Nas regiões comprimidas predomina a atividade osteoclástica, e nas regiões onde ocorre estiramento predomina a atividade osteoblástica (CHAMAY; TSCHANTZ, 1972).

2.2. Biocerâmicas

A associação da cirurgia com a engenharia de materiais vem evoluindo e sendo crescente no decorrer da última década, objetivando desenvolver terapias capazes de maximizar e acelerar processos regenerativos de tecidos orgânicos sem provocar efeitos adversos aos pacientes, sendo essa associação profissional chamada de engenharia de tecidos. Baseando-se nesse contexto, a utilização dos biomateriais como as cerâmicas de fosfato de cálcio no intuito de acelerar a regeneração óssea já está bem estabelecida na literatura (BORGES, 1998; FLEMING; CORNELL; MUSCHLER, 2000).

As biocerâmicas baseadas em fosfatos de cálcio vêm sendo usadas com sucesso por mais de 30 anos em procedimentos de reparação óssea, nas especialidades de traumatologia, odontologia e cirurgia maxilo-facial. As principais causas de seu sucesso são as suas biocompatibilidade, bioatividade e ósseocondutividade (HENCH, 1991). As biocerâmicas comerciais de fosfato de cálcio geralmente são compostas de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$, com $0 \leq x \leq 1$), β -fosfato tricálcico ($\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) ou sua mistura, doravante denominados HAp, β -TCP e fosfato de cálcio bifásico (BCP), respectivamente (LEGEROS et al., 2003; DE AZA; DE AZA; DE AZA, 2005; DOROZHKIN, 2007a;).

Apesar de serem bem aceitas pelos profissionais, as biocerâmicas de fosfatos de cálcio apresentam algumas desvantagens. Por exemplo, a taxa de bioreabsorção das biocerâmicas de HAp é muito baixa e elas permanecem sem degradarem-se por vários anos após o implante, fazendo com que as propriedades mecânicas e biológicas do local regenerado sejam diferentes daquelas do osso normal sadio (DOROZHKIN, 2007a).

Nas últimas décadas muitas pesquisas têm se dedicado à preparação de materiais de fosfatos de cálcio, com substituições iônicas no retículo cristalino visando o incremento das taxas de osteogênese e reabsorção juntamente com a resistência do material. O silício em particular tem recebido grande atenção como substituinte em fosfatos de cálcio para aplicações biomédicas, especificamente em HAp e TCP (LANGSTAFF et al., 2001; GIBSON et al., 2002; PATEL et al., 2002; PORTER et al., 2003, 2004; BOTELHO et al., 2006; DOROZHKIN, 2007b; BEST et al., 2008).

O silício desempenha um papel essencial nos eventos metabólicos que conduzem à formação óssea endocondral e intramembranosa (CARLISLE, 1980a, 1980b) e, juntamente com o cálcio e o fósforo, atua na expressão de determinados genes responsáveis por controlar o ciclo celular de osteoblastos humanos e animais, e estimula a produção de novo osso (XYNOS et al., 2001; HENCH, 2003; BIELBY et al., 2005) .

Os biovidros baseados em SiO_2 , Na_2O , CaO , e P_2O_5 , desenvolvidos por Hench e colaboradores na década de 60, foram os primeiros biomateriais nos quais foi observada a bioatividade *in vitro* e a formação de uma forte ligação direta com o tecido ósseo quando implantados *in vivo* (HENCH et al., 1971). Após os biovidros, a bioatividade *in vitro* foi descrita para outros materiais que contem fósforo de diversas naturezas.

Foi estabelecido que vitro-cerâmicas de apatita-wollastonita do sistema $\text{MgO-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaF}_2$ (KOKUBO et al., 1986) e algumas cerâmicas de fosfato de cálcio eram também bioativas, e algumas delas ainda são usadas na prática clínica no preenchimento de defeitos ósseos, implantes dos ossos do ouvido médio, substitutos de corpos vertebrais, e implantes dentais (HENCH; ANDERSSON, 1993).

No entanto, biocerâmicas, biovidros e vitro-cerâmicas que contém fósforo não são os únicos materiais bioativos. Outros materiais carentes de fósforo na sua composição também são capazes de apresentar bioatividade. Nesse sentido, Ohura et al. (1991) observaram a formação de uma camada de apatita na superfície de vidros do sistema CaO-SiO_2 quando expostos a um meio biológico artificial (SBF). Também, mais recentemente, foi encontrado que cerâmicas cristalinas dos sistemas CaO-MgO-SiO_2 e CaO-SiO_2 , por exemplo, diopsido ($\text{CaMgSi}_2\text{O}_6$) e pseudowollastonita ($\beta\text{-CaSiO}_3$), são bioativas (DE AZA et al., 1994, 1996a;

NONAMI; TSUTSUMI, 1999; DE AZA et al., 2006;).

A cerâmica de pseudowollastonita (β -CaSiO₃) reage rapidamente no SBF da seguinte forma (DE AZA et al., 1996b):

1. Íons Ca²⁺ do retículo cristalino da pseudowollastonita são trocados por íons H⁺ presentes no SBF;
2. Devido à troca iônica anterior, forma-se uma camada superficial de sílice amorfa hidratada;
3. O pH na interface pseudowollastonita/SBF aumenta para aproximadamente 10,5 como resultado da troca iônica;
4. As concentrações de Ca²⁺, PO₄³⁻, e OH⁻ na interface alcançam o nível de sobresaturação e formam-se núcleos de apatita sobre a camada de sílice amorfa hidratada;
5. Ao mesmo tempo, acontece a dissolução parcial da camada de sílice hidratada nas condições de alto pH interfacial;
6. Os núcleos de apatita crescem até coalescer em uma camada homogênea sobre a superfície da cerâmica e o processo é interrompido pela impossibilidade da difusão das espécies iônicas.

Testes *in vivo* feitos em tibia de rato demonstraram que os osteoblastos migraram até a superfície dos implantes de pseudowollastonita e começaram a depositar osso novo que gradualmente foi se transformando em osso maduro (DE AZA et al., 2000, 2001). As cerâmicas de pseudowollastonita sintética não foram citotóxicas (DUFRANE et al., 2003; SARMENTO et al., 2004), tudo o contrário, os produtos resultantes da sua dissolução induziram calcificação em culturas de osteoblastos *in vitro* (SARMENTO et al., 2004; BROWN et al., 2004).

Embora pseudowollastonitas comerciais de alta pureza e baixo custo sejam disponíveis, quase todos os desenvolvimentos de biocerâmicas de pseudowollastonita têm sido realizados com wollastonita sintética, muito mais cara e difícil de obter. No entanto, já foi demonstrado que é possível produzir cerâmicas de pseudowollastonita partindo de um pó precursor de wollastonita natural de alta pureza. As cerâmicas obtidas apresentaram composição de fases, reatividade *in vitro*, bioatividade e citotoxicidade muito parecidas com as das cerâmicas totalmente sintéticas, mais ainda, apresentaram maior fiabilidade e resistência à compressão que as sintéticas (CARRODEGUAS et al., 2007).

Quando testadas *in vivo* em tibia de rato, ambas as biocerâmicas de

pseudowollastonita, natural e sintética, apresentaram biocompatibilidade, bioatividade e biodegradabilidade (MINARELLI-GASPAR et al., 2008).

No entanto, há uma desvantagem comum para todas as biocerâmicas bioativas: eles não são osteointegráveis. Quando uma biocerâmica bioativa é implantada no tecido ósseo, a interação entre o material e o tecido ósseo tem lugar apenas na interface e o seio do material permanece inalterado, o que origina tensões de cisalhamento como resultado da diferença em módulo de elasticidade entre o material e o osso (DE AZA et al., 1997).

A solução mais empregada para evitar a situação anterior é a criação de abundante macroporosidade interconectada na biocerâmica durante o seu processamento (ROY; LINNEHAN, 1974; PASSUTI et al., 1989; LIU, 1996). Essa porosidade, sempre que seja da ordem de 100-500 μm , permite que as células osteoprogenitoras colonizem o implante e circulem livremente os nutrientes necessários para a sua proliferação, assim como os resíduos do metabolismo celular sejam removidos.

Na década de 1990 foi reportada uma nova biocerâmica, composta de $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ($\alpha\text{-TCP}$) e $\alpha\text{-CaSiO}_3$ ($\alpha\text{-wollastonita}$, $\alpha\text{-W}$) (DE AZA; GUITIAN; DE AZA, 1996; DE AZA et al., 1998) chamada de Bioeutectic® (DE AZA; GUITIAN; DE AZA, 1998). A microestrutura do Bioeutectic® consiste em colônias quase esféricas de diminutas lâminas alternadas de $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e $\alpha\text{-CaSiO}_3$, sendo as primeiras bioativas e as segundas reabsorvíveis.

Testes *in vitro* realizados em soro sintético mostraram que as lâminas de $\alpha\text{-CaSiO}_4$ são dissolvidas rapidamente e as de $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ são transformadas pseudo-morficamente em apatita. Como resultado uma matriz porosa de apatita com uma estrutura porosa semelhante à do osso esponjoso é obtida (DE AZA et al., 2007). No entanto, o tamanho médio dos poros interconectados no Bioeutectic® é da ordem dos 2 μm , pequeno demais para permitir a colonização celular do implante. Além disso, a obtenção do Bioeutectic® envolve o emprego de temperaturas muito altas, tempos de processamento muito longos e o processo é limitado para peças pequenas.

2.3. Silicato de Cálcio

Recentemente foi desenvolvida uma nova biocerâmica inspirada no Bioeutectic®. Ela é produzida mediante a sinterização de uma mistura de pós de $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e $\alpha\text{-CaSiO}_3$ com a composição do ponto eutético do sistema (40 %m $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 60 %m $\alpha\text{-CaSiO}_3$) a 1350 °C. A cerâmica densa resultante, denominada Silicato de Cálcio (Wollastonita-Fostato tricálcico;

W-TCP), quando implantada na forma de cilindros em defeitos criados em tibia de ovelhas demonstrou ser biocompatível, bioativa e osteocondutiva (Figuras 1 e 2) (DE AZA et al., 2012).

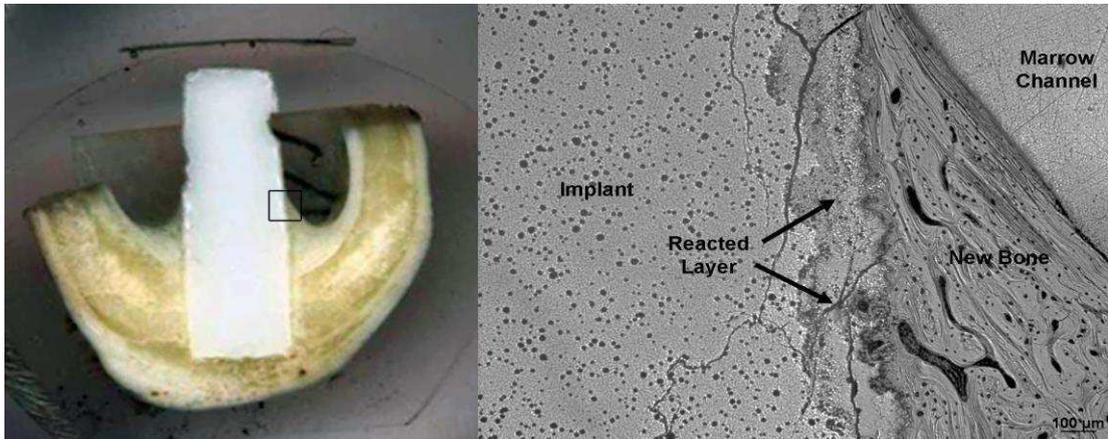


Figura 1 - Osteocondução observada em implantes de biocerâmica densa silicato de cálcio após 12 meses de implantação em tibia de ovelhas (DE AZA et al., 2012).

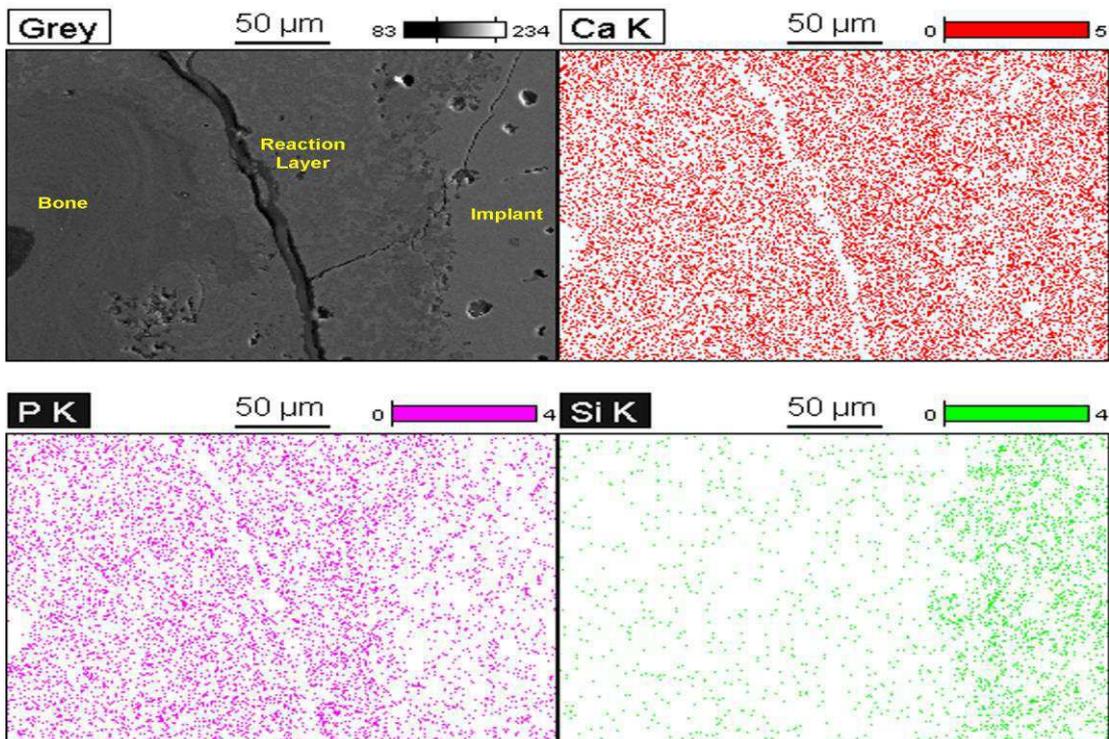


Figura 2 - Mapa da composição elemental da interface entre o osso cortical de tibia de ovelhas e a biocerâmica densa silicato de cálcio após 12 meses de implantação em tibia de ovelhas (DE AZA et al., 2012).

Quando a cerâmica silicato de cálcio foi imersa em tampão Tris-HCl de pH 7,4 foi observada a liberação de íons (Figura 3) de cálcio e aumento do pH (CARRODEGUAS et al., 2012). Embora a liberação de fósforo e silício não tenha sido monitorada, é de esperar que também espécies iônicas destes elementos sejam liberadas, contribuindo para estimular as células mesenquimais a migrarem para o implante, se aderirem e se diferenciarem em células osteoprogenitoras (XYNOS et al., 2001; HENCH, 2003; BIELBY et al., 2005).

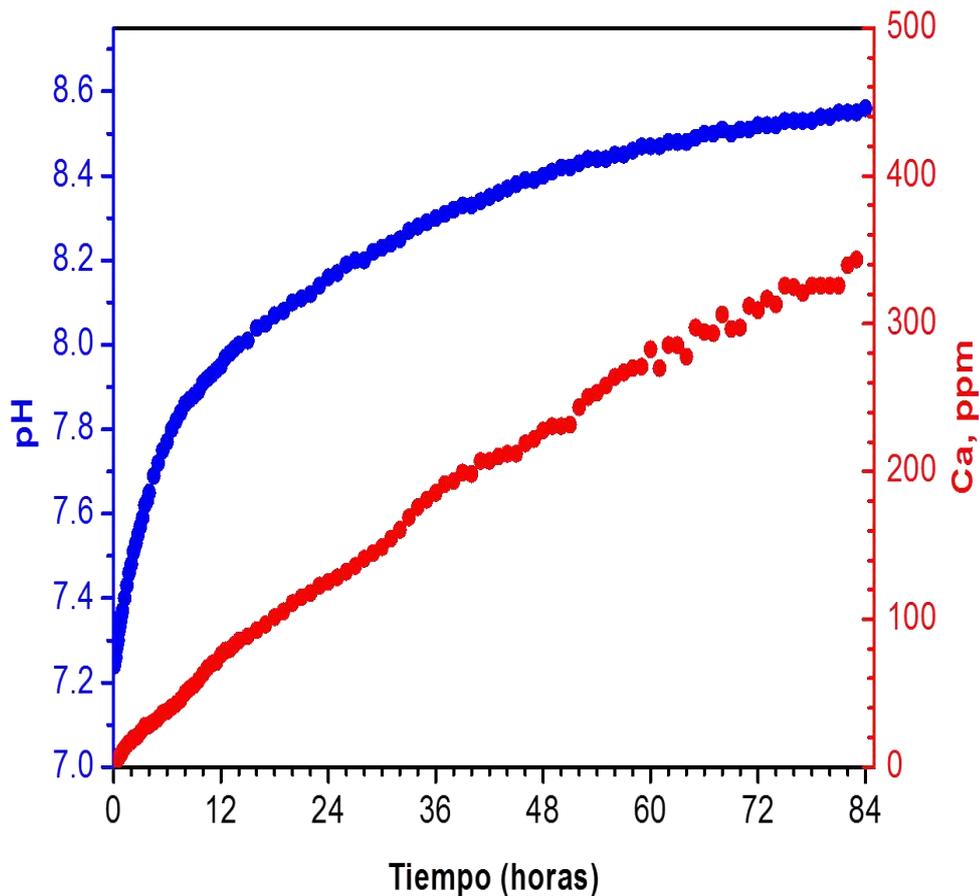


Figura 3 - Perfis de liberação Ca^{2+} e aumento do pH da cerâmica silicato de cálcio em tampão Tris-HCl (CARRODEGUAS et al., 2012).

Estes resultados preliminares permitem esperar que o silicato de cálcio seja adequado como material de reparação óssea. Quando testado *in vitro* em culturas de osteoblastos, foram encontrados níveis de osteocalcina superiores em presença da cerâmica de W-TCP que para os controles segundo ilustrado na Figura 4 (CARRODEGUAS et al., 2012).

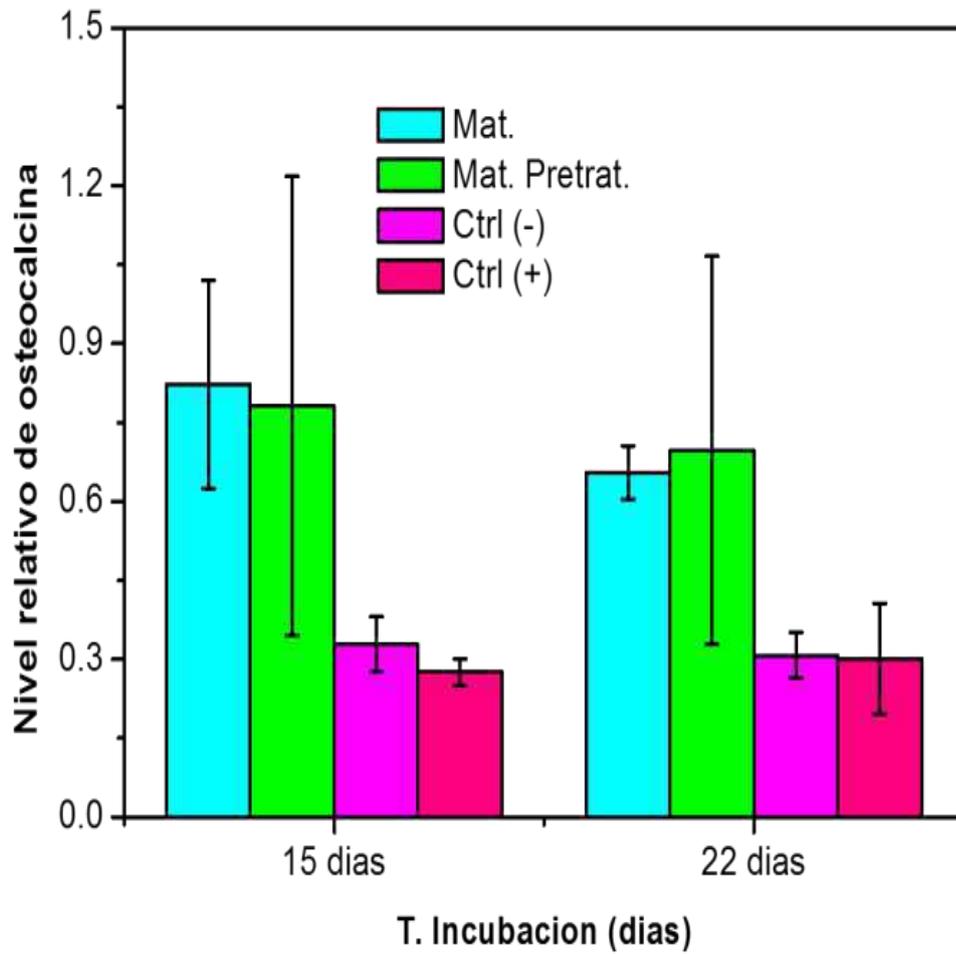


Figura 4 - Níveis de osteocalcina humana intacta em culturas de osteoblastos realizados na presença de silicato de cálcio (CARRODEGUAS et al., 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Campina Grande e aprovado sob o protocolo 285-2015.

O experimento foi desenvolvido no Setor de Cirurgia de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande e no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba.

Foram utilizados 10 coelhos adultos, machos, da raça Nova Zelândia, hígidos, pesando em média 3,5 kg. A hígidez dos animais foi comprovada através de exames clínicos e laboratoriais, como hemograma e perfil bioquímico.

Os animais foram alocados em gaiolas individuais e receberam ração concentrada própria para coelhos, capim e água à vontade desde 10 dias antes do início do experimento até o término deste.’

3.1 Pré-operatório

No pré-operatório cada animal foi submetido a jejum sólido por 12 horas e líquido por 6 horas. Os animais foram anestesiados com a associação de cloridrato de xilazina a 2%¹, na dose de 5 mg/kg, e cloridrato de cetamina a 10%², na dose de 30 mg/kg, ambos na mesma seringa e administrados por via intramuscular. Quando necessário, o prolongamento da anestesia foi realizado utilizando um quarto da dose original de cloridrato de cetamina, pela via intramuscular. Realizou-se tricotomia dos membros pélvicos de ambas as tíbias, anestesia epidural com lidocaína 2%³, na dose de 0,22 mL/kg, associada ao tramadol⁴, na dose de 1 mg/kg. Em seguida procedeu-se a antissepsia com clorexidina a 0,5% e a infiltração do local da incisão com 2 mL de lidocaína a 2%³ com vasoconstrictor, e em seguida colocaram-se os panos de campo estéreis.

3.2 Trans- operatório

Procedeu-se uma incisão cirúrgica de três centímetros de extensão na linha medial, na metáfise proximal e distal de ambas as tíbias, de ambos os membros, em todos os planos teciduais acima do periósteo, utilizando-se bisturi de lâmina 24. Em seguida, divulsionou-se a

¹ Xilazin 2% - Syntec do Brasil Ltda. - Hortolândia, São Paulo.

² Cetamin 10% - Syntec do Brasil Ltda. - Hortolândia, São Paulo.

³ Anestt 2% - Syntec do Brasil Ltda. - Hortolândia, São Paulo.

⁴ Tramal® 50mg/mL – Laboratórios Pfizer Ltda. – Guarulhos, São Paulo.

⁵ Chemitril® Injetável 2,5% - Biofarm Química e farmacêutica Ltda. Jaboicabal, São Paulo.

musculatura em espessura total com tesoura Metzenbaum, expondo o tecido ósseo.

Expostas as regiões metafisárias proximal e distal de ambas as tíbias, criou-se em cada uma delas um defeito circular em plano ósseo total medindo 2,4 mm de diâmetro, com auxílio de uma furadeira ortopédica utilizando uma broca 2,4 mm, sob irrigação constante de solução fisiológica NaCl a 0,9% para evitar lesão térmica nas bordas do defeito.

. Em um dos membros implantou-se o silicato de cálcio nos defeitos criados (Grupo tratamento), fixando-o às áreas receptoras através da sutura da musculatura sobre os mesmos com padrão de sutura em 'X' descontínuo com fio nylon 3-0. No membro contralateral os defeitos ósseos criados não foram preenchidos com nenhum produto, servindo como Grupo controle. Em ambos os membros as feridas foram fechadas realizando redução do espaço morto subcutâneo, fio poliglactina 910 3-0 e dermorrafia com fio nylon 3-0.

3.3 Pós-operatório

Imediatamente e 24 horas após a cirurgia, os coelhos foram tratados com enrofloxacina a 2,5%⁵, por via intramuscular, na dose de 5 mg/kg, curativo sob a ferida cirúrgica e retirada dos pontos após 10 dias.

3.4 Avaliação Microscópica

Foram criados dois momentos de avaliação histológica, um aos 30 e outro aos 60 dias após a cirurgia, os quais foram denominados T30 e T60, respectivamente. Para compor o T30, cinco animais foram escolhidos aleatoriamente e submetidos à eutanásia, empregando-se tiopental sódico a 5%, na dose de 20 mg/kg, pela via intravenosa, seguido pela indução do choque bulbar, administrando lidocaína a 2% pela via subaracnóidea, a partir da punção atlanto-occipital. O T60 foi composto com os animais remanescentes, nos quais a eutanásia foi realizada da mesma forma que no T30.

Cada amostra óssea das regiões metafisárias proximais e distais, foi cortada com serra de diamante e em seguida acondicionada em recipientes plásticos contendo formalina a 10%, para fixação, durante 7 dias.

Após a fixação os fragmentos foram descalcificados em ácido fórmico a 10%, tamponado com citrato de sódio para pH 4,5, sob vácuo moderado, durante 20 dias. A seguir, os fragmentos ósseos foram lavados em água corrente, desidratados em álcool 70, 80 e 90% por 12 horas cada e em álcool a 100% por seis horas e então diafanizados em dois banhos de xilol por duas horas.

Os fragmentos foram emersos em parafina e mantidos em estufa a 58% durante uma noite e depois incluídos. Cortes de 5 μm incluindo a interface osso-implante foram obtidos em micrótomo e montados em lâminas de vidro. De cada bloco de parafina foram obtidas pelo menos duas lâminas para submissão à técnica da hematoxilina-eosina (RIBEIRO; LIMA, 2000), após o que foram analisados por microscopia de luz, onde foi observada a regeneração tecidual (JUNQUEIRA et al., 1979; PROPHET et al., 1992).

A neoformação óssea induzida foi quantificada através da análise morfométrica das lâminas, através do programa *Image Pro Plus*, versão 6.2®. Para realização da análise, foram realizadas capturas e digitalização das imagens que compreenderam a interface osso-implante. Foram obtidas imagens sequenciadas de cada lâmina analisada para quantificar em μm^2 o tecido ósseo neoformado em toda a interface osso-implante, além da área preenchida pelo implante.

Os resultados foram submetidos à análise descritiva e quantitativa dos achados histológicos e média da área de osso neoformado em relação ao grupo controle, sendo esta mensuração realizada através da morfometria.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A análise histológica realizada possibilitou mensurar o estímulo induzido pelos implantes de silicato de cálcio durante o período de reparação proposto neste experimento.

No presente estudo, no grupo tratamento evidenciou-se a presença de discreto infiltrado inflamatório com células mononucleares, indicando uma aceitação do sítio de implantação sem evidência de citotoxicidade, em ambos os, momentos de avaliação histológica, conforme relatado por Dufrane et al. (2003) e Sarmento et al (2004).

No grupo tratamento, em ambos os momentos de avaliação histológica foram evidenciadas trabéculas ósseas imaturas com intensa proliferação de osteoblastos em suas adjacências (Figuras 5 e 6), conforme relatado por De Aza et al. (2000, 2001) que demonstraram em tíbia de ratos que os osteoblastos migraram até a superfície dos implantes de pseudowollastonita e iniciaram uma deposição de osso neoformado gradualmente até se transformar em osso maduro.

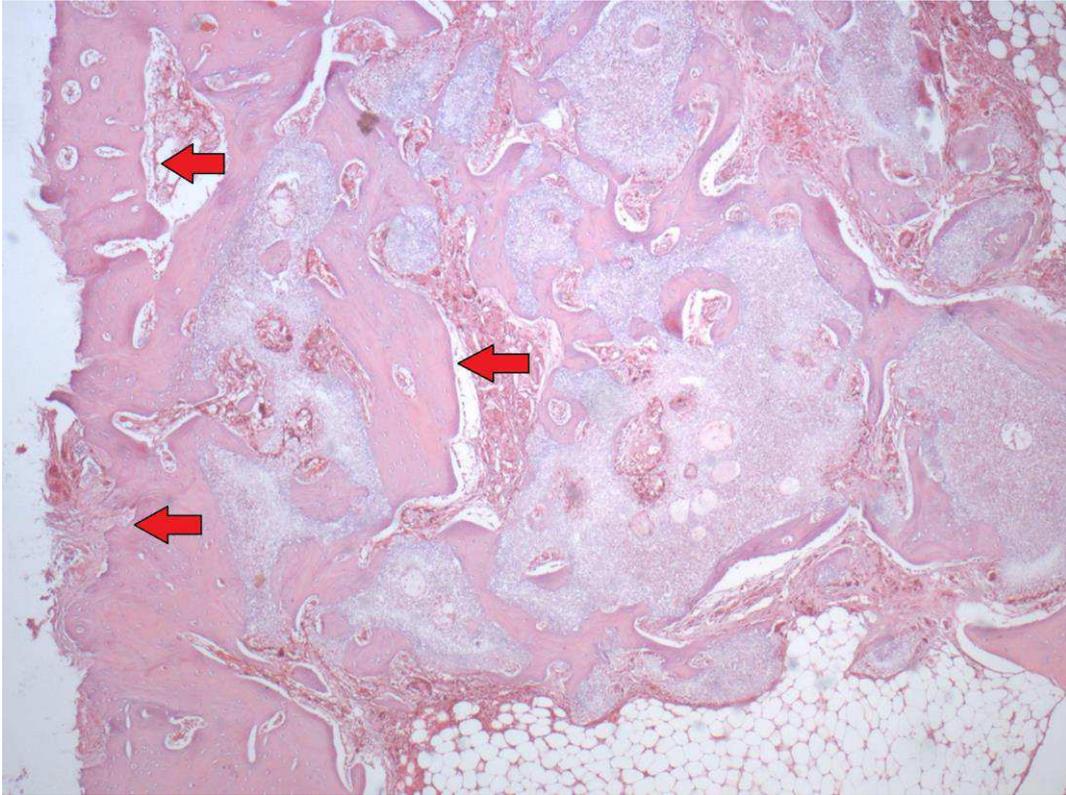


Figura 5 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio. Setas vermelhas: trabéculas ósseas. Aumento de 4x. Fonte: HV-UFCG, 2016.

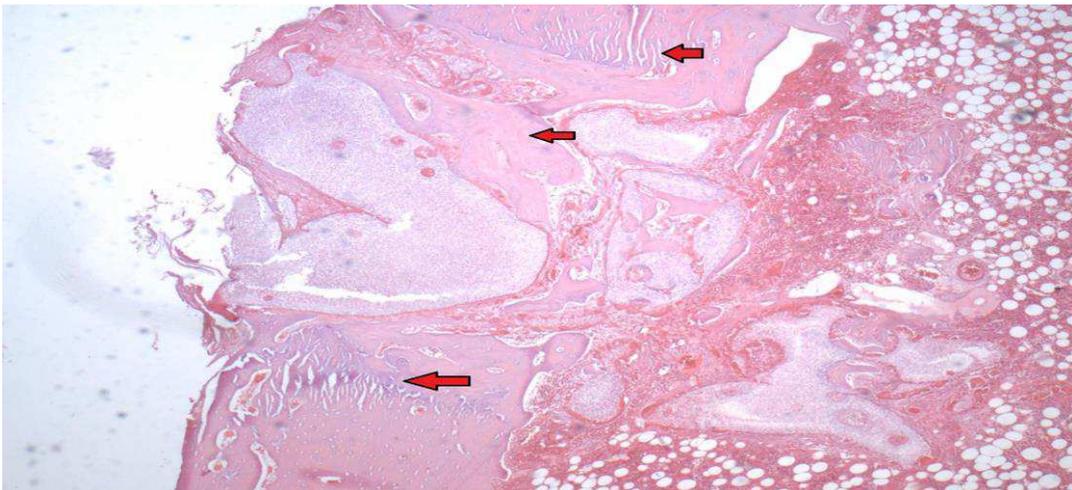


Figura 6 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio. Setas vermelhas: trabéculas ósseas. Aumento de 4x. Fonte: HV-UFCG, 2016.

De acordo com Vital et al. (2006), o tecido conjuntivo é substituído por tecido ósseo no decorrer do processo cicatricial. Este achado foi observado no grupo tratamento do presente experimento na forma de múltiplas cavitações com material granular basofílico, com proliferação de tecido conjuntivo e fibroblastos e formação de novos vasos, circundados por osteoblastos, em ambos os momentos de avaliação histológica (Figuras 7 e 8).

De Aza et al. (1997), relatam uma desvantagem das biocerâmicas bioativas, que é a ausência de ósteointegração, sendo então empregada uma solução por diversos autores como Liu (1996), Passuti et al. (1989), Roy e Linnehan (1974) que é a criação de macroporosidades com diâmetro de 100 a 500 μm nos implantes. De fato, através das análises das lâminas aos 30 e aos 60 dias após a cirurgia, observa-se a presença de tecido conjuntivo e fibroblastos, vasos neoformados e presença de células osteoblásticas através dessas aberturas presentes no implante (Figuras 7 e 8).

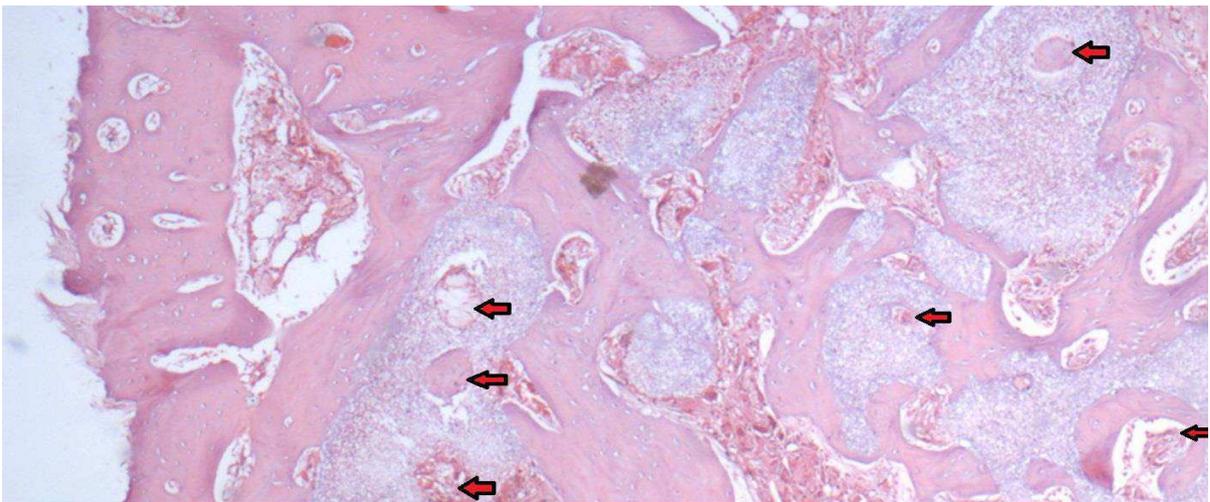


Figura 7 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio. Setas vermelhas: cavitações com material basofílico granular. Aumento de 4x. Fonte: HV-UFCG, 2016.

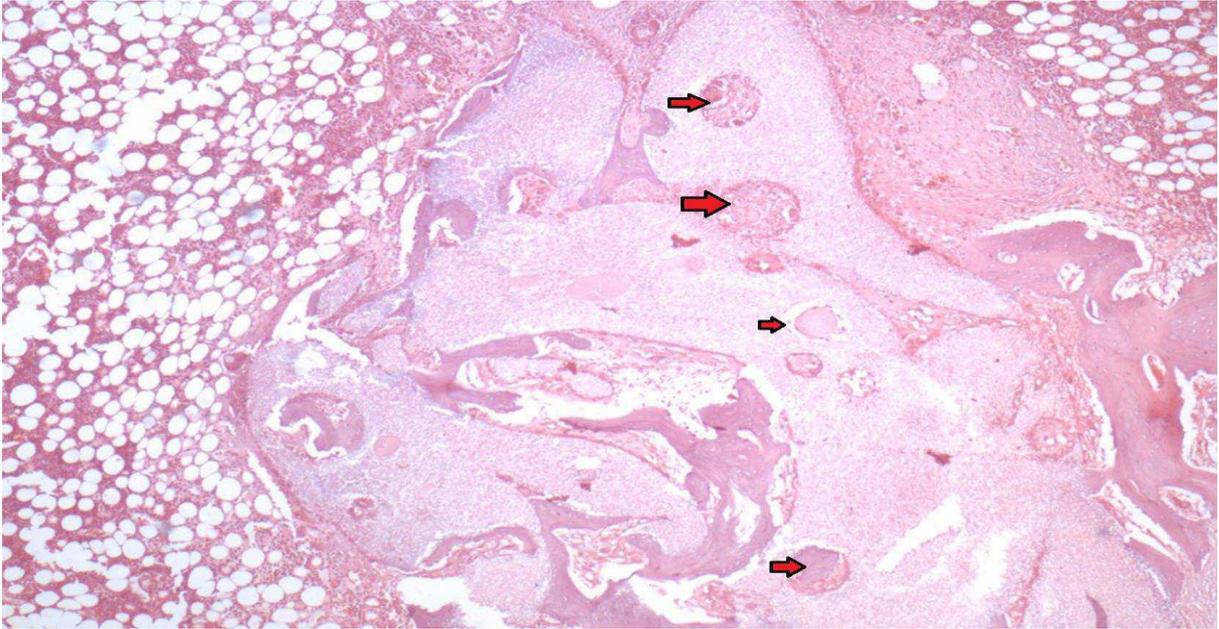


Figura 8 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio. Setas vermelhas: cavitações com material basofílico granular. Fonte: HV-UFCG, 2016.

A presença de intensa síntese óssea, com presença de osteoblastos em ambos os momentos de análise histológica do grupo tratamento sugere biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade do implante de silicato de cálcio (Figuras 9 e 10). De Aza et al. (2012) obtiveram resultados semelhantes quando implantaram o silicato de cálcio em tíbias de ovelhas, no entanto seus resultados na relação osso-implante foram mais intensos, possuindo maior quantidade de osso neoformado, com maior composição de elementos e liberação de cálcio pois seu implante foi imerso em tampão Tris-HCl de pH 7,4 e o implante foi analisado após 12 meses, onde graficamente mostra o aumento contínuo de cálcio liberado do silicato de cálcio à medida que o pH também aumenta proporcionalmente a partir das 12 horas de imersão.

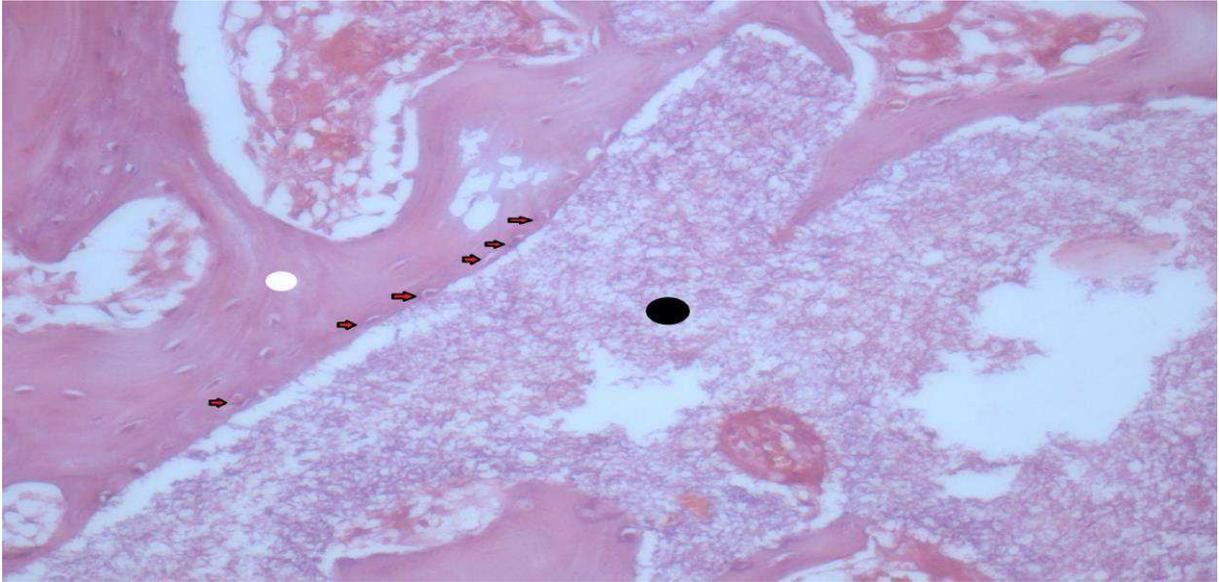


Figura 9 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando a presença de osteoblastos (setas vermelhas), o implante de silicato de cálcio inerte (esfera preta) e o osso neoformado (esfera branca). Aumento de 10x. Fonte: HV-UFCG, 2016.

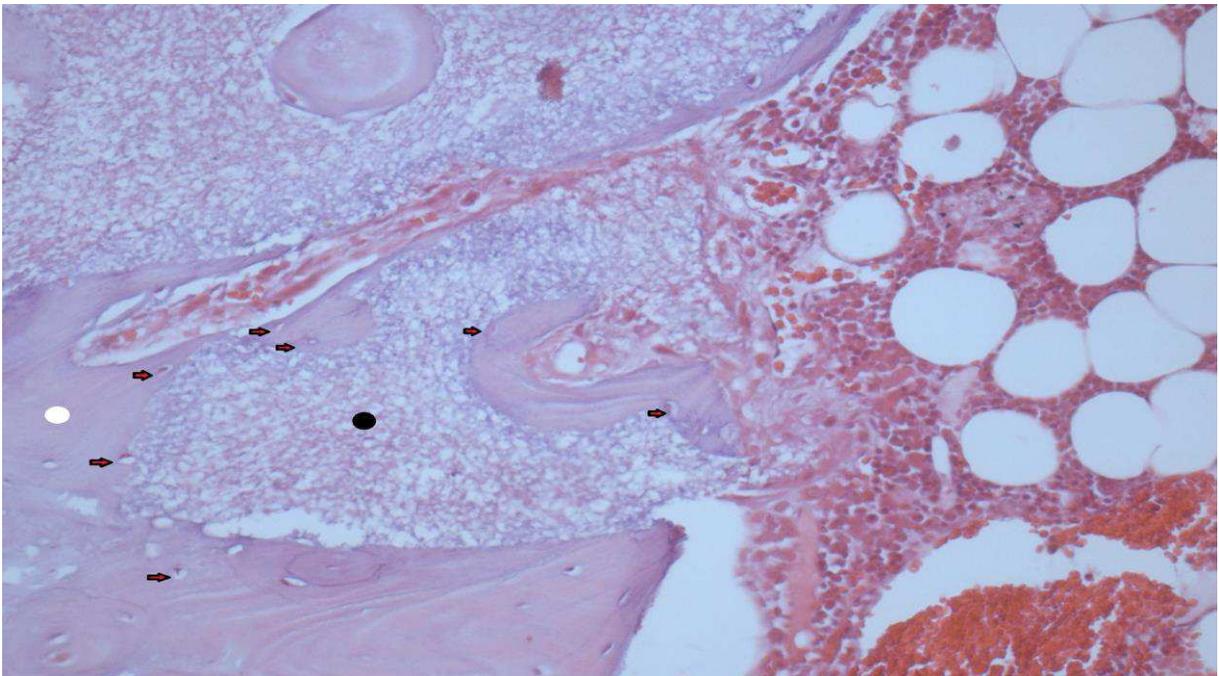


Figura 10 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando a presença de osteoblastos (setas vermelhas), o implante de silicato de cálcio inerte (esfera preta) e o osso neoformado (esfera branca). Aumento de 10x. Fonte: HV-UFCG, 2016.

No grupo controle, em ambos os momentos de análise histológica observou-se a completa cicatrização óssea, com o osso completamente reparado e remodelado em sua grande maioria, na área da cicatriz, além do processo de maturação e osteócitos formando lacunas ósseas (Figuras 11 e 12).

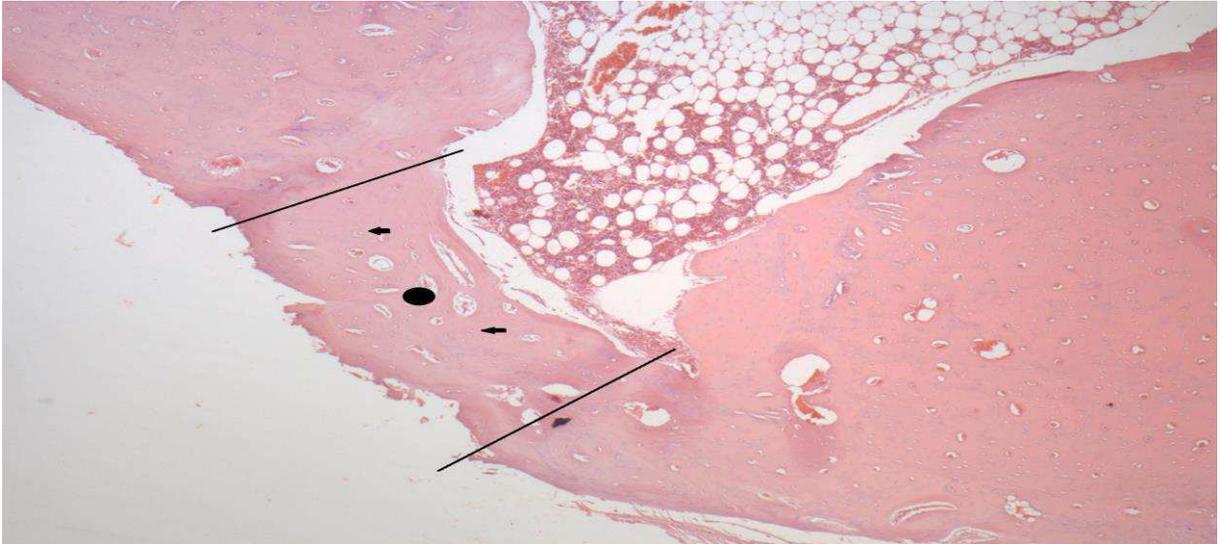


Figura 11 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando a delimitação do defeito ósseo (barras pretas), osso neoformado (esfera preta), sistema de Havers e trabéculas ósseas (setas pretas) Aumento de 4x. Fonte: HV-UFCG, 2016.



Figura 12 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando a delimitação do defeito ósseo (barras pretas), osso neoformado (esfera preta), sistema de Havers e trabéculas ósseas (setas pretas) Aumento de 4x. Fonte: HV-UFCG, 2016.

Comparando-se as regiões distais dos grupos tratamento e controle, evidenciou-se uma neoformação óssea discreta de tecido ósseo primário em ambos os grupos na interface osso-implante, sendo, no momento T30, um crescimento médio de osso neoformado e imaturo de $574083 \mu\text{m}^2$ enquanto seu respectivo controle possuiu um crescimento ósseo neoformado e maturado de $705764 \mu\text{m}^2$, demonstrando assim uma diferença negativa de $131680 \mu\text{m}^2$ no grupo tratamento. Na análise das regiões distais dos grupos no momento T60, verificou-se um crescimento ósseo de $364352 \mu\text{m}^2$ no grupo tratamento e de $644809 \mu\text{m}^2$ no grupo controle, com uma diferença entre o grupo tratamento e o controle de $280456 \mu\text{m}^2$ (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores individuais e médios da área de osso neoformado, em μm^2 , na região distal de tíbias de coelhos submetidos à implantação de silicato de cálcio, aos 30 (T30) e 60 (T60) dias após a cirurgia.

Grupo/momento	Animal					Média
	1	2	3	4	5	
Tratamento						
- T30	417839	462700	35323	67504	1887051	574083
- T60	179589	116111	95262	515496	915306	364353
Controle						
- T30	1157108	797753	639874	457122	476965	705764
- T60	697953	773414	741863	254781	756036	644810

Com relação às regiões proximais da tíbia, no momento T30 o crescimento ósseo do grupo tratamento foi de $341882 \mu\text{m}^2$, enquanto no grupo controle foi de $522024 \mu\text{m}^2$, com uma diferença de $180142 \mu\text{m}^2$ de osso neoformado a mais, em relação ao grupo tratamento. Aos 60 dias pós-operatórios o crescimento ósseo na no grupo tratamento foi de $188025 \mu\text{m}^2$, com o grupo controle obtendo $721824 \mu\text{m}^2$, com uma diferença de $533798 \mu\text{m}^2$ a mais de osso neoformado (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores individuais e médios da área de osso neoformado, em μm^2 , na região proximal de tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, aos 30 (T30) e 60 (T60) dias após a cirurgia.

Grupo/momento	Animal					Média
	1	2	3	4	5	
Tratamento						
- T30	538146	795246	29334	46896	299786	341882
- T60	212268	73474	89387	549878	15119	188025
Controle						
- T30	952913	378669	508443	328923	441174	522024
- T60	800064	722666	604385	659483	822521	721824

Verificou-se maior quantidade deste no T30 do que no T60. Para compreensão dos dados mensurou-se a média de área preenchida pelos implantes em cada momento de avaliação histológica. No T30 a média de preenchimento do implante no defeito realizado na região distal foi de 1968548 μm^2 , enquanto que no T60 esta média foi de 1153461 μm^2 . Já na região proximal a média de área preenchida foi de 1727219 μm^2 no T30 e de 992655 μm^2 no T60.

Tabela 3 – Valores individuais e médios da área preenchida pelo implante, em μm^2 , na região distal de tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, aos 30 (T30) e 60 (T60) dias após a cirurgia.

Grupo/momento	Animal					Média
	1	2	3	4	5	
Tratamento						
- T30	884313	2007816	1807181	3247783	1895649	1968548
- T60	1216386	1718139	1881786	337771	613228	1153462

Tabela 4 – Valores individuais e médios da área preenchida pelo implante, em μm^2 , na região proximal de tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, aos 30 (T30) e 60 (T60) dias após a cirurgia.

Grupo/momento	Animal					Média
	1	2	3	4	5	
Tratamento						
- T30	976673	1509443	1633348	2858033	1658602	1727220
- T60	957010	1318995	1635220	525861	526191	992656

Realizando uma relação da média da área preenchida pelo implante entre os momentos de avaliação, os animais que foram avaliados no T60 receberam no defeito da sua porção distal uma diferença positiva $956607 \mu\text{m}^2$ em comparação aos do T30, enquanto que na porção proximal os avaliados no T30 apresentaram uma diferença positiva de $734564 \mu\text{m}^2$.

Relacionando os valores de neoformação óssea e de preenchimento do defeito ósseo encontrados, entende-se que o preenchimento maior ou menor do defeito ósseo pelo silicato de cálcio não interferiu na osteogênese. De acordo com os achados histológicos, o que de fato provavelmente interferiu na osteogênese foi a presença do implante em si preenchendo a área do defeito realizado, uma vez que no grupo controle a cicatrização óssea foi mais rápida que no grupo tratamento. Achado este também encontrado por DE AZA et al., (1997) relatando quando uma biocerâmica bioativa é implantada no tecido ósseo, a sua interação com o tecido ósseo tem lugar apenas na interface e o seio do material permanece inalterado.

O material implantado apresentava-se íntegro e sem sinal de absorção (Figuras 13 e 14), semelhante ao relatado por De Aza, De Aza e De Aza (2005) e Legeros et al., (1995, 2003), que relataram sobre as biocerâmicas compostas por β -TCP serem mais reabsorvíveis que a HAp, no entanto ainda possuindo uma absorção lenta quando se pretende uma substituição total do material implantado por osso neoformado.

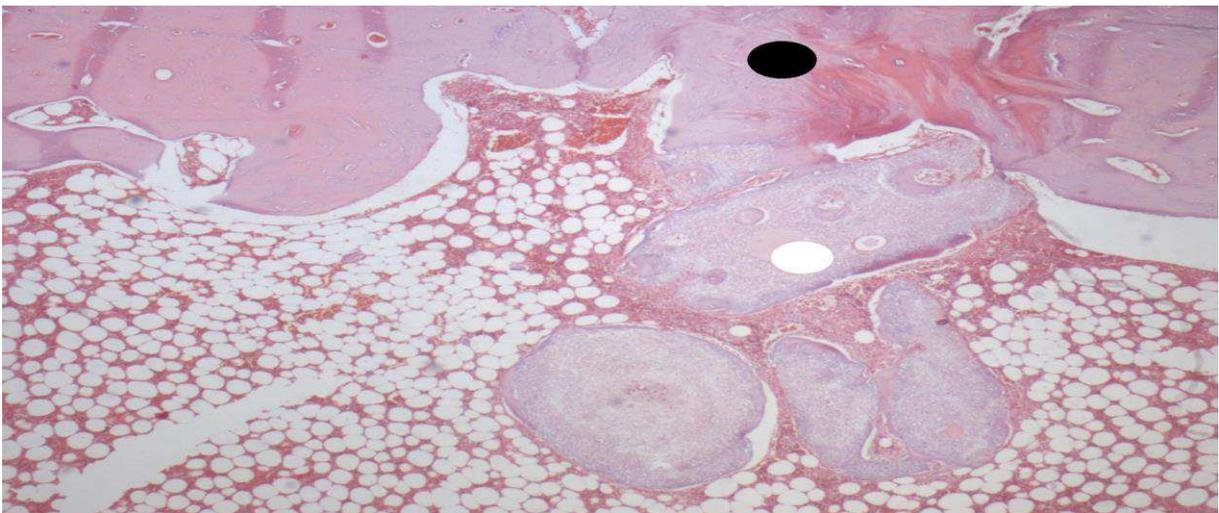


Figura 13 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando a região cortical do osso neoformado (esfera preta), adjacente ao implante de silicato de cálcio (esfera branca). Aumento de 4x. Fonte: HV-UFCG, 2016.

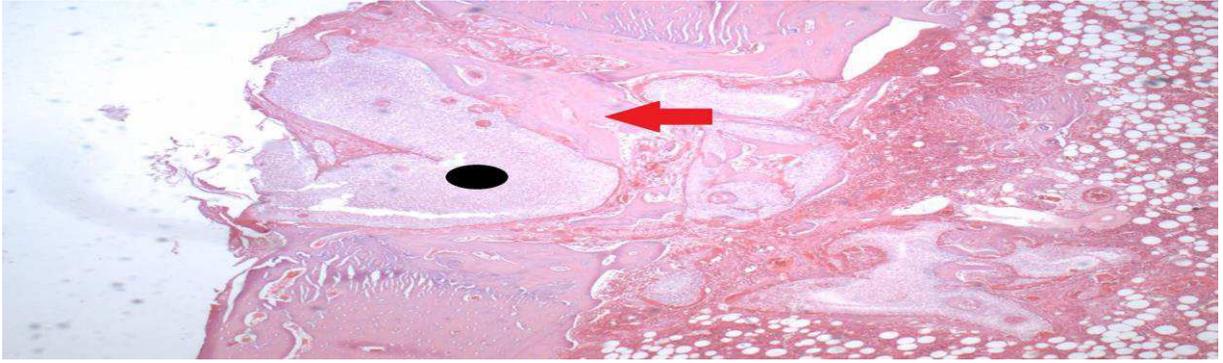


Figura 14 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio, demonstrando o implante de silicato de cálcio (esfera preta) na região cortical com osso neoformado (seta vermelha) Aumento de 4x. Fonte: HV-UFCG, 2016.

5. CONCLUSÕES

O implante composto por silicato de cálcio possui propriedades que contribuem para reparação óssea por possuir propriedades osteocondutoras, bioativas, não citotóxicas. Sua característica macroporosa permite que a angiogênese ocorra no interior do implante, com a formação de tecido cartilaginoso e tecido fibroso, para posteriormente ser formado o novo osso, agindo assim de forma osteointegrável entre o implante e o osso primário formado. No entanto, a presença do implante retardou a cicatrização óssea, independente da quantidade de implante posicionado no defeito, pois não houve bioabsorção suficiente, sendo esta uma característica comum entre biocerâmicas compostas por β -TCP, um dos componentes presentes no implante experimentado.

Portanto, são necessários novos experimentos, possivelmente diminuindo ou substituindo parcialmente a composição do implante que possui fosfato tricálcico (TCP), para mais esclarecimentos a respeito da retardada cicatrização e taxa de reabsorção do implante de silicato de cálcio.

6. REFERÊNCIAS

- BEST, S. M. et al. The osteogenic behaviour of silicon substituted hydroxyapatite. **Bioceramics**, Vol 20, v. 361-363, p. 985–988, 2008.
- BIELBY, R. C. et al. Enhanced derivation of osteogenic cells from murine embryonic stem cells after treatment with ionic dissolution products of 58S bioactive sol-gel glass. **Tissue Engineering**, v. 11, n. 3-4, p. 479–488, 2005.
- BORGES, A.P.B. **O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço proximal da tíbia, de cães (Canis familiares). Estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodispersão.** Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1998. 112p. Tese (Doutorado).
- BOTELHO, C. M. et al. Differentiation of mononuclear precursors into osteoclasts on the surface of Si-substituted hydroxyapatite. **Journal of Biomedical Materials Research, Part A**, v. 78A, n. 4, p. 709–720, 2006
- BROWN, L. et al. Mechanism of osteoinduction by pseudowollastonite (psW) ceramic. In: 7th World Biomaterials Congress, Sydney, 2004. **Anais...**Sydney: Australian Society for Biomaterials, 2004. CD ROM
- CARLISLE, E. M. A silicon requirement for normal skull formation. **Journal of Nutrition**, v. 110, p. 352–359, 1980a.
- CARLISLE, E. M. Biochemical and morphological changes associated with long bones abnormalities in silicon deficiency. **Journal of Nutrition**, v. 110, n. 5, p. 1046–56, maio 1980b.
- CARRODEGUAS, R. G. et al. Assessment of natural and synthetic wollastonite as source for bioceramics preparation. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 83A, p. 484–495, 2007.
- CARRODEGUAS, R. G. et al. Evaluación in vitro de biocerámica de W-TCP como andamiaje para regeneración ósea (SIIB, Ed.)XXXV Congreso de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales 2012. **Anais...**Madrid: 2012
- CHAMAY A; TSCHANTZ P., Mechanical influences in bone remodeling. Experimental research on Wolff's law. **Journal of Biomechanics**, v. 5(2), p. 173-80, 1972.
- DE AZA, A. H. et al. In Situ Bone-Like Apatite Formation From a Bioeutectic Ceramic in SBF Dynamic Flow. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 90, n. 4, p. 1200–1207, abr. 2007.
- DE AZA, A. H. et al. Wollastonite-tricalcium phosphate bioceramics for bone regeneration: Radiographic and microscopic evaluation of its interaction with living bone (SLABO, Ed.) 7º COLAOB. **Anais...**Natal: Metallum, 2012.
- DE AZA, P. N. et al. Bioactivity of Wollastonite Ceramics: In Vitro Evaluation. **Scripta Metalurgica et Materialia**, v. 31, n. 8, p. 1001–1005, 1994.
- DE AZA, P. N. et al. Morphological studies of pseudowollastonite for biomedical applications. **Journal of Microscopy (Oxford)**, v. 182, n. Pt. 1, p. 24–31, 1996a.
- DE AZA, P. N. et al. Bioceramics - Simulated body fluid interfaces: pH and its influence of hydroxyapatite formation. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 7, n. 7, p. 399–402, jul. 1996b.

- DE AZA, P. N. et al. Bioeutectic: A new ceramic material for human bone replacement. **Biomaterials**, v. 18, n. 19, p. 1285–1291, jan. 1997.
- DE AZA, P. N. et al. A new bioactive material which transforms in situ into hydroxyapatite. **Acta materialia**, v. 46, n. 7, p. 2541–2547, 1998.
- DE AZA, P. N. et al. Morphological and structural study of pseudowollastonite implants in bone. **Journal of Microscopy-Oxford**, v. 197, part 1, p. 60–67, 2000.
- DE AZA, P. N. et al. Transmission electron microscopy of the interface between bone and pseudowollastonite implant. **Journal of Microscopy-Oxford**, v. 201, p. 33–43, 2001.
- DE AZA, P. N. et al. Influence of sterilization techniques on the in vitro bioactivity of pseudowollastonite. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 89, n. 8, p. 2619–2624, 2006.
- DE AZA, P. N.; DE AZA, A. H.; DE AZA, S. Crystalline bioceramic materials. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, v. 44, n. 3, p. 135–145, 2005.
- DE AZA, P. N.; GUITIAN, F.; DE AZA, S. Eutectic structures that mimic porous human bone. In: TOMSIA, A. P.; GLAESER, A. M. **International Materials Symposium on Ceramic Microstructures: Control at the atomic level**. Berkeley, California, USA: Plenum Press, 1996. Cap. 10, p. 761-770.
- DE AZA, P. N.; GUITIAN, F.; DE AZA, S. Bioeutectics: New bioceramic materials. In: VINCENZINI, P. **Materials in clinical applications. Topical symposium XI: 9th CIMTECH-World ceramics congress and forum on new materials**. Florence, Italy: Techna Faenza, 1998. Cap. 1, p. 25-32.
- DOROZHKIN, S. V. Calcium orthophosphates. **Journal of Materials Science**, v. 42, n. 4, p. 1061–1095, 2007a.
- DOROZHKIN, S. V. In vitro mineralization of silicon containing calcium phosphate bioceramics. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 90, n. 1, p. 244–249, 2007b.
- DUFRANE, D. et al. Indirect cytotoxicity evaluation of pseudowollastonite. **Journal of Materials Science-Materials in Medicine**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 2003.
- FLEMING, J. E.; CORNELL, C. N.; MUSCHLER, G. F. Bone cells and matrices in Orthopedic Tissue Engineering. **Orthopedic Clinics of North America**. v. 31, p. 357-37, 2000.
- GIBSON, I. R. et al. Enhanced in vivo response to silicate-substituted hydroxyapatite. In: BROWN, S. CLARKE, I. WILLIAMS, P. 14th International Symposium on Ceramics in Medicine. **Anais...** Palm Springs: Trans Tech Publications Ltd.
- GOULD, J.A., **Fisioterapia em Ortopedia e Medicina do Esporte**, Ed. 2., Manole, p. 19-37, 1993.
- HENCH, L. L. et al. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 5, n. 6, p. 117–141, 1971.
- HENCH, L. L. Bioceramics: from concept to clinic. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 74, p. 1487–1510, 1991. Disponível em: <http://www.ceramics.org/wp-content/uploads/2009/03/hench_bioceramics.pdf> Acesso em 23 out. 2015.
- HENCH, L. L.; ANDERSSON, Ö. Bioactive Glass Coatings. In: HENCH, L.L.; WILSON, J. **An Introduction to Bioceramics: Advanced Series in Ceramics**. v.1, Singapore: World Scientific Publishing C. Pte. Ltd., 1993. Cap. 3, p. 41-62.

- HENCH, L. L. Glass and genes: The 2001 W. E. S. Turner Memorial Lecture. **Glass Technology**, v. 44, n. 1, p. 1–10, 2003.
- JUNQUEIRA, L.C.U., COSSERMELLI, W., BRENTANI, R. Differential Staining of Collagens Type I, II, and III by Sirius Red and Polarization Microscopy, **Archivum Histologicum Japonicum**, n. 1, v. 41, p. 267–274, 1978.
- KISNER, C., **Exercícios Terapêuticos, Fundamentos e Técnicas**, Ed. 3, Manole, São Paulo, p. 141-161. 1998.
- KOKUBO, T. et al. Formation of high strength bioactive glass-ceramic in the system MgO-CaOSiO₂-P₂O₅. **Journal of Materials Science**, v. 21, p. 536–540, 1986.
- LANGSTAFF, S. et al. Resorbable bioceramics based on stabilized calcium phosphates. Part II: evaluation of biological response. **Biomaterials**, v. 22, n. 2, p. 135–150, 2001.
- LEGEROS, R. Z. et al. Calcium phosphate biomaterials: Preparation, properties and biodegradation. In: WISE, D. L. et al. **Encyclopaedic handbook of biomaterials and bioengineering**. Part A: Materials. New York: Marcel Dekker Inc., 1995. v. 2 Part IX.p. 1429–1463.
- LEGEROS, R. Z. et al. Biphasic calcium phosphate bioceramics: Preparation, properties and applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 14, p. 201–209, 2003.
- LIU, D. M. Fabrication and characterization of porous hydroxyapatite granules. **Biomaterials**, v. 17, p. 1955–1957, 1996.
- MINARELLI-GASPAR, A. M. et al. Comparison of the biological behavior of wollastonite bioceramics prepared from synthetic and natural precursors. **Key Engineering Materials** v. 361, p. 1083–1086, 2008.
- NONAMI, T.; TSUTSUMI, S. Study of diopside ceramics for biomaterials. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 10, n. 8, p. 475–479, 1999.
- OHURA, K. et al. A heat-generating bioactive glass ceramic for hyperthermia. **J appl biomater**, v.2, p. 153-9, 1991.
- PASSUTI, N.M.D. et al. Macroporous Calcium Phosphate Ceramic Performance in Human Spine Fusion. **Clinical Orthopaedics & Related Research**. V. 248, p.169-176, Nov., 1989.
- PATEL, N. et al. A comparative study on the in vivo behaviour of hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite granules. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.13, p. 1199-1206, 2002.
- PORTER, A.E. Comparison of in vivo dissolution processes in hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite bioceramics, **Biomaterials**, V.24, p. 4609 – 4620, 2003
- PORTER, A.E. et al. Effect of sintered silicate-substituted hydroxyapatite on remodeling processes at the bone–implant interface. **Biomaterials**, V.25, p. 3303- 3314, 2004.
- PROPHET E.B. et al. **Laboratory Methods in Histotechnology**. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC. p. 279, 1992.
- RIBEIRO, M.G.; LIMA, S.R. **Iniciação às técnicas de preparação de material para o estudo e pesquisa em morfologia**. Belo Horizonte: SEGRAC Editora e Gráfica Ltda., 106p, 2000.

XYNOS, I.D. et al. Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass 45S5. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 55, p.151–7, 2001.

VITAL, C. C. et al. Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.58, n.2, p.175-183, 2006.