

REACÇÕES "IN VITRO" E "IN VIVO" A DIFERENTES DIMENSÕES DE GRANULOS DE HIDROXIAPATITE MODIFICADA

G.S. Carvalho*, M.L. Pereira*, F. Peres**,
M. Vasconcelos**, R. Branco**, J. Cavalheiro***

RESUMO: Numerosas aplicações da hidroxiapatite (HA) na reconstituição do tecido ósseo em cirurgia maxilo-facial, estomatologia e medicina dentária exigem que o material apresente boa fluidez, visto que grânulos deste tipo de cerâmico são frequentemente colocados com a utilização de seringas. Este procedimento é dificultado com o uso de partículas de grandes dimensões.

O preenchimento total das cavidades ósseas é uma condição importante para beneficiar de todo o potencial osteocondutor do material, e neste caso o melhor preenchimento aponta para a utilização de partículas finas. No entanto, aplicações cirúrgicas de HA sugeriram que, apesar da sua baixa solubilidade a utilização de partículas muito finas é acompanhada de mecanismos de reabsorção parcial. O objectivo deste trabalho foi estabelecer as dimensões mínimas a partir das quais os processos de fagocitose deixam de ser mecanismos relevantes para a destruição dos grânulos de hidroxiapatite modificada, Osteoapatite (R) desenvolvida por um dos autores.

Os resultados indicam a dimensão mínima a partir da qual dá fagocitose pelos macrófagos da cavidade peritoneal do murganho e permitem estabelecer um primeiro critério para a limitação granulométrica das partículas de HA a utilizar clinicamente.

ABSTRACT: Various applications of Hydroxyapatite in bone reconstruction by Maxillofacial Surgery, Stomatology and Dental Medicine demand a good fluidity of the material. This is so due to the frequent use of a syringe while placing these ceramic granules. The use of big particules makes this procedure difficult.

The complete filling of bone cavity is essential to allow the growth of new bone. In this case the use of fine particles is considered to be the best fulfilling.

However, surgery applications of Hydroxyapatite have suggested that, despite its low solubility, the use of fine particles is followed by partial absorption mechanisms.

This work's main aim was the establishment of the minimum dimensions from which fagocytosis processes are no longer important mechanisms for the destruction of modified Hydroxyapatite granules — Osteoapatite (R) — developed by one of the outhors.

The results show the minimum dimension from which the fagocytosis is performed by macrophoges of the mouse's peritoneum. They also allow the establishment of an initial criterion for granulometric limitation of Hydroxyapatite particles in clinical use.

Palavras-chave: Hidroxiapatite, Propriedades Biológicas.

Key-wors: Hidroxiapatite, Biological Properties.

* Dep. de Biologia da Univ. de Aveiro

** Fac. Medicina Dentária da Univ. do Porto

*** Fac. de Engenharia da Univ. do Porto

INTRODUÇÃO

A utilização da hidroxiapatite como material osteocondutor na cirurgia dentária e maxilo-facial implica a possibilidade de colocação, com facilidade, de grânulos em regiões de difícil acesso.

O completo preenchimento das cavidades é outro requisito importante a ter em conta.

A utilização duma pasta obtida a partir do material em pó seria a solução mais óbvia para o problema: fluidez, plasticidade e preenchimento completo poderiam ser conseguidos.

Trabalhos anteriores utilizando pó e grânulos de hidroxiapatite (1) evidenciaram vantagens cirúrgicas na utilização dos grânulos, não obstante os problemas de colocação apontados.

Sabendo-se que a solubilidade da hidroxiapatite modificada, osteopatite (R), utilizada neste trabalho é limitada (2) e que os cerâmicos deste tipo obtidos por precipitação química são praticamente insolúveis (3), fácil é concluir que a existência de reabsorção deverá ser atribuída a mecanismos biológicos.

Tendo em vista determinar o tamanho mínimo da partícula susceptível de aplicação em cirurgia bucal, foi feito um trabalho de que se apresentam os resultados preliminares.

MATERIAL E MÉTODOS

A) — Fagocitose

Foram seleccionados por crivagem as seguintes granulometrias de partículas de Osteopatite (R).

CRIVO	DIMENSÃO (um)
-400	35
-200 + 400	38 a 75
-100 + 200	75 a 150
-20 + 100	150 a 850

— Infracrivo; + Sobrecrivo

30mg de partículas de Osteopatite (R) foram adicionadas a 2ml de solução tampão de fosfato ("PBS") e inoculadas intraperitonealmente em murghanos com dois meses de idade.

Para controlo foi inoculada igual quantidade de "PBS", sem partículas de osteopatite (R).

Ao fim de 4 e 24 horas retirou-se o fluido

intraperitoneal, contendo macrófagos, com o auxílio de uma seringa.

Após coloração com azul de toluidina, fez-se a observação, utilizando um microscópio óptico, tendo-se determinado a percentagem de macrófagos contendo grânulos de hidroxiapatite, bem como avaliada a quantidade de grânulos por macrófago, com base no estabelecimento de cinco classes (0-4).

Observou-se também a cavidade peritoneal após dissecação.

B) — Ensaio clínico

Partículas de pó e grânulos -20 + 100, foram utilizados na cirurgia de quistos maxilares.

Grânulos -20 + 100 com a adição de 30% de gesso foram colocados nas cavidades alveolares, após extracção dentária; o procedimento utilizado foi descrito em trabalhos anteriores (4).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 encontram-se representados macrófagos observados em microscopia óptica.

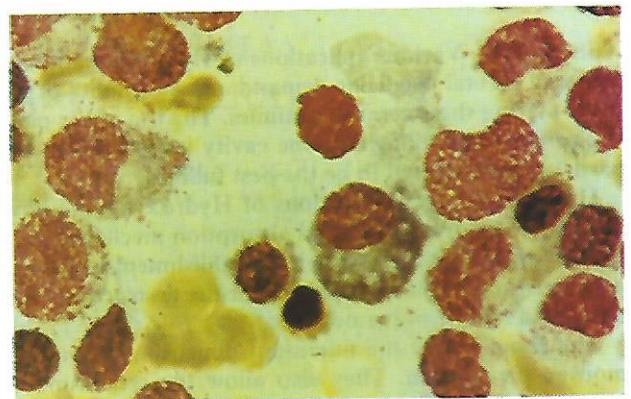


Fig. 1 — Macrófagos peritoneais de murghano.

Na figura 2 encontra-se representada a percentagem de macrófagos contendo partículas de hidroxiapatite.

Verificou-se que nas condições indicadas os macrófagos têm capacidade de fagocitar partículas de Osteopatite (R).

Ao fim de 4 horas as partículas de dimensão

FAGOCITOSE DE GRANULOS DE HIDROXIAPATITE INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA

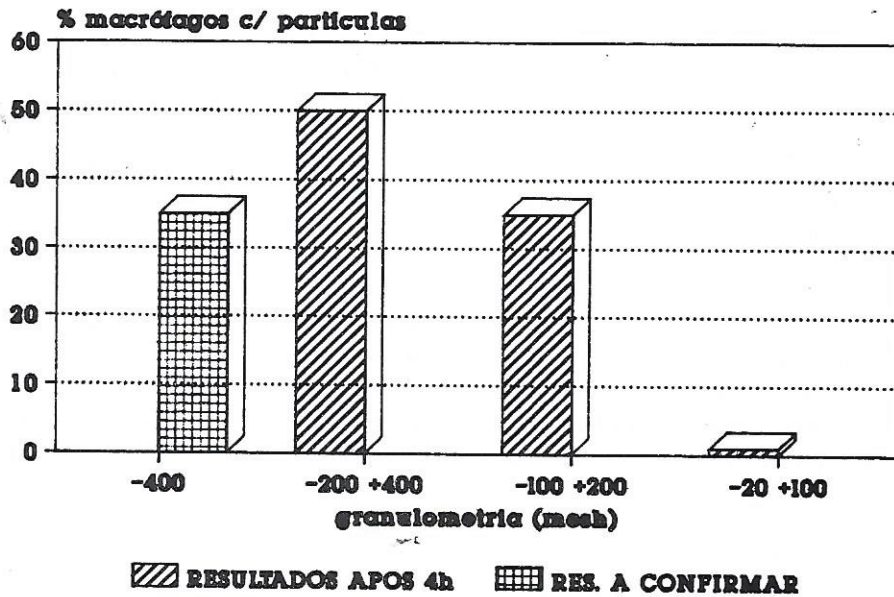


Fig. 2 — Resultados da fagocitose na cavidade peritoneal do murganho, ao fim de 4 horas.

FAGOCITOSE DE GRANULOS DE HIDROXIAPATITE INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA

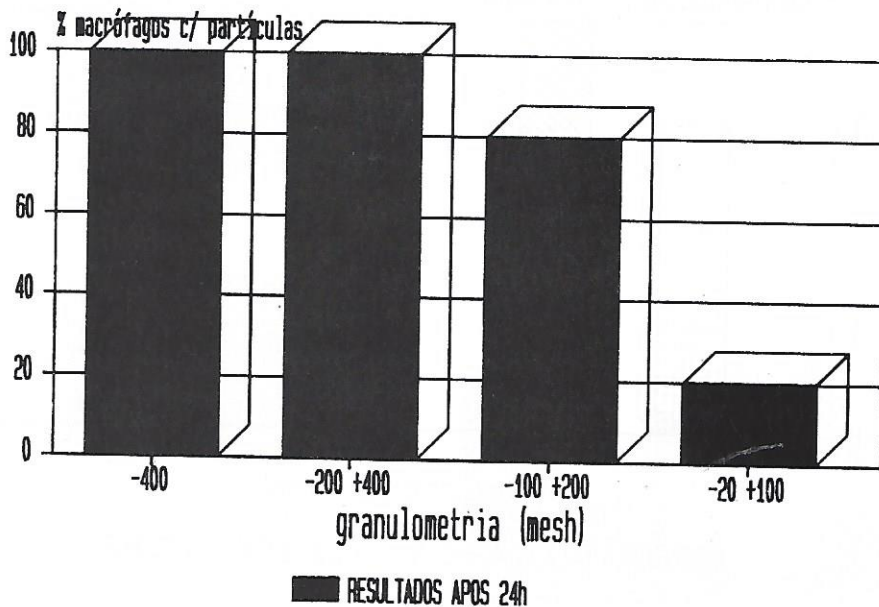


Fig. 3 — Resultados ao fim de 24 horas.

inferior a 100 mesh apresentavam-se largamente fagocitadas.

A menor percentagem de macrófagos em fagocitose, ao fim de 4 horas, verificada na classe de partículas de menor dimensão (-400) pode dever-se a duas causas: impossibilidade da sua detecção em microscopia óptica, visto ser plausível que a fagocitose se comece a dar em partículas muito pequenas, ou degradação rápida das partículas menores dentro do citoplasma.

Ao fim de 24 horas mesmo as partículas de maiores dimensões apresentam indícios de fagocitose. A classe -400 que representa o infracrivo do peneiro mais fino da série ASTM, apresenta já um índice máximo, confirmando de certa maneira as observações feitas para os resultados obtidos ao fim de 4 horas: a grande heterogeneidade dimensional deste grupo deverá ter originado o desaparecimento inicial de partículas de dimensão muito pequena. Ao fim de algum tempo partículas maiores do mesmo grupo começam a ser atingidas, sendo já possível a sua detecção em microscopia óptica.

Da avaliação dos resultados apresentados nas figuras 4 e 5 pode-se concluir que ao fim de 4 horas o citoplasma dos macrófagos em contacto com as partículas inferiores a 100 mesh encontrava-se

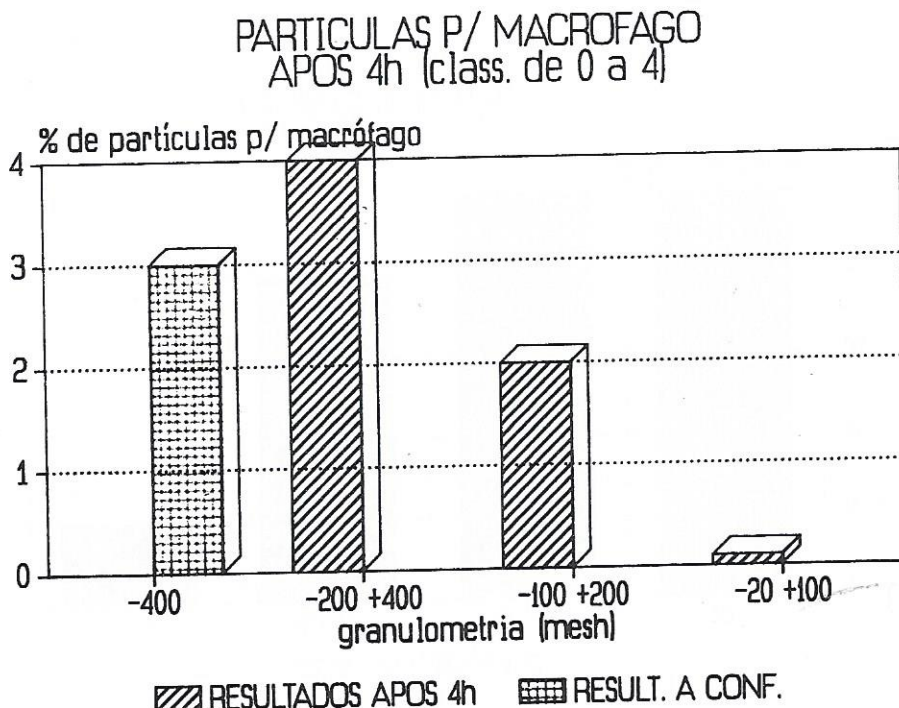
já com elevada quantidade de cerâmico. Ao fim de 24 horas o número de partículas é já significativo, mesmo na classe -20 + 100.

Na figura 6 (a,b,c,d) podem-se observar imagens da utilização de uma baixa granulometria de Osteopatite (R) na cirurgia de quistos maxilares, com resultados ao fim de três anos.

Na figura 7 (a,b,c,d) podem observar-se imagens da utilização de grânulos de Osteopatite (R) na cirurgia de quistos maxilares com resultados ao fim de três anos.

A associação de partículas de Osteopatite -20 + 100 mesh com 30% de gesso como aglutinante, para prevenção da reabsorção alveolar após exodontia, encontra-se representada nas figuras 8 (a,b), e os resultados clínicos obtidos ao fim de três meses, mostram uma evolução francamente favorável do processo.

A utilização de pó e grânulos de Osteopatite (R) como complemento do tratamento cirúrgico de quistos maxilares e mandibulares de origem dentária traduziu-se clinicamente por imagens radiográficas cujo contraste está directamente relacionado com a quantidade de HA na cavidade operatória. Comparando-se os resultados apresentados nas figuras 6 e 7 constata-se que a



▨ RESULTADOS APOS 4h ▩ RESULT. A CONF.

Fig. 4 — Avaliação da concentração de partículas no citoplasma dos macrófagos ao fim de 4 horas.

PARTICULAS P/ MACROFAGO
APOS 24 h (class. de 0 a 4)

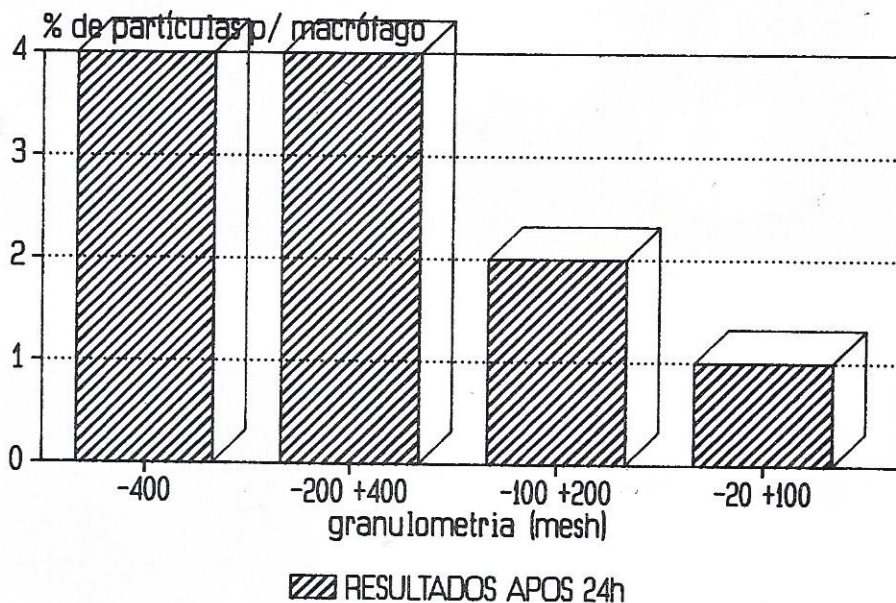


Fig. 5 — Avaliação da concentração de partículas no citoplasma dos macrófagos ao fim de 24 horas.



Fig. 6a — Rx pré-operatório.



Fig. 6c — Cavidade óssea preenchida com Osteoapatite.



Fig. 6b — Cavidade óssea após exérese do quisto.

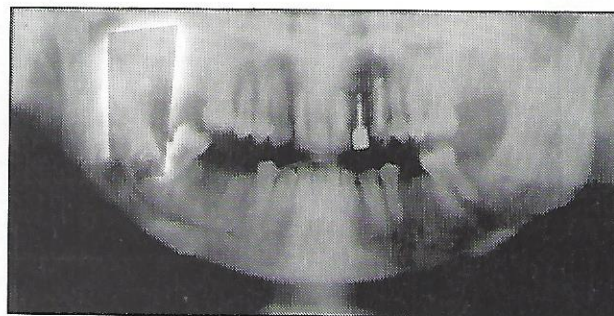


Fig. 6d — Rx de controlo após 3 anos.

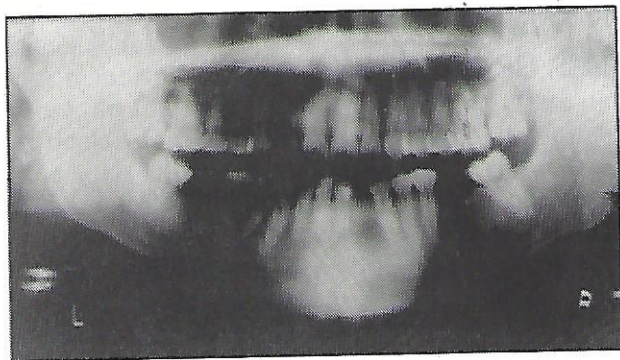


Fig. 7a — Rx pré-operatório

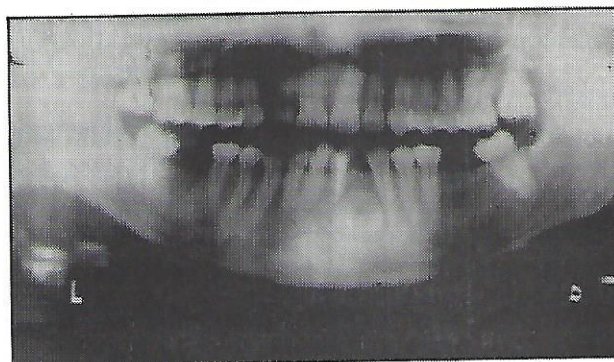


Fig. 7d — Rx de controlo ao fim de 3 anos.



Fig. 7b — Cavidade óssea após exérese do quisto.

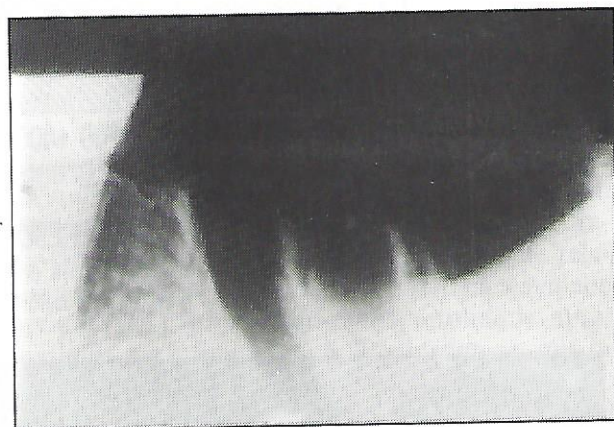


Fig. 8a — Cavidades alveolares após exodontia, a serem preenchidas com Osteoapatite.



Fig. 7c — Cavidade óssea preenchida com Osteoapatite.



Fig. 8b — Prevenção da reabsorção alveolar com resultados ao fim de 3 meses.

Osteoapatite (R) em grânulos permanece em muito maior quantidade "in situ", o que parece traduzir uma menor fagocitose destas partículas.

REACÇÕES "IN VITRO" E "IN VIVO" A DIFERENTES DIMENSÕES DE GRÂNULOS DE HIDROXIAPATITE MODIFICADA

CONCLUSÕES

Limitações de ordem biológica derivadas da possibilidade de fagocitose de partículas degradadas impõem um valor de 100 mesh ou mesmo uma dimensão superior como limite mínimo para o tamanho de grânulos a utilizar, se considerarmos válido o pressuposto de que os macrófagos humanos têm um comportamento idêntico aos macrófagos peritoneais do murganho.

BIBLIOGRAFIA

1 — PERES, F., CAVALHEIRO, J., FELINO, A., BRANCO, R. Hidroxiapatite de origem orgânica, em pó e em

grânulos, na cirurgia de quistos maxilares. Proc. V Cong. Luso-Espanhol de Est., Cirurg. Max. Fac. e Med. Dentária. Vilamoura, Portugal, Out. 1989.

2 — CAVALHEIRO, J., BRANCO, R., PERES, F., VASCONCELOS, M. Incremento da biorreactividade da hidroxiapatite pela modificação química. Proc. VI Cong. Luso-Espanhol de Est. Cirurg. Max. Fac. e Med. Dentária, Braga, Portugal, Nov. 1991.

3 — BERNACHE, A. Bioceramics Processing-Properties. Proc. European Intensive Course on Biomaterial Degradation, Porto, Portugal, Sep. 1988.

4 — CAVALHEIRO, J., BRANCO, R., VASCONCELOS, M., OLIVEIRA, A., AFONSO, A. Prevenção da reabsorção do osso alveolar com utilização de grânulos de hidroxiapatite. Stoma, 1990, 2 (18), 7-13.