

Biomateriais sintéticos e xenógenos com alto potencial clínico para reparo tecidual

Ana Vieira Borges¹, Inês Teixeira-Pimentel¹, Oscar Carvalho², Bruno Henriques^{2,3}, Filipe Silva², Hassan Bousbaa¹, João Caramês⁴, Júlio C. M. Souza^{1,2*}

¹Instituto Universitário de Ciências da Saúde (IUCS), CESPU, 4585-116 Gandra PRD, Portugal

²Center for MicroElectromechanical Systems (CMEMS-UMINHO), University of Minho, 4800-058 Guimarães, Portugal

³Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica, Departamento de Engenharia Mecânica (EMC), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), 88040-900, Florianópolis, SC, Brazil

⁴Faculdade de Medicina Dentária, Universidade de Lisboa, Lisboa, 1649-003, Portugal

*✉ jsouza@dem.uminho.pt

Resumo

Introdução: O objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão da literatura sobre o uso de biomateriais de origem animal (xenógeno) e sintética para o reparo do tecidual. Diferentes materiais cerâmicos e poliméricos sintéticos e xenógenos são aplicados para o reparo ósseo. Dentre os cerâmicos, a mistura de hidroxiapatite e β -TCP (60-70/40-30 wt%), apatite carbonada e hidroxiapatite de origem bovina ou suína são comumente aplicados, no entanto a taxa de absorção dos materiais sintéticos é lenta quando comparado ao processo de cicatrização na presença dos xenógenos. Além disso, a resposta biológica de materiais sintéticos ainda é inferior à resposta aos materiais xenógenos. Tendo em consideração os diversos polímeros, os materiais xenógenos (ex. colagénio, quitosana) têm apresentado uma resposta biológica mais adequada quando comparado aos sintéticos (ex. PLGA, PLDLA). A cicatrização tecidual óssea é um processo que envolve fases de migração celular, deposição de proteínas e minerais, formação vascular, e desenvolvimento de tecidos conectivo e ósseo. O desenvolvimento de polímeros sintéticos com taxa de absorção adequada ao processo de reparo tecidual associada a uma alta bioatividade e promoção da angiogénese tem sido o alvo de estudos recentes. Além disso, combinação de sintéticos e xenógenos também torna-se uma alternativa com alto potencial de sucesso clínico.

Palavras-chave: Biomateriais, sintéticos, xenógeno, reparo tecidual.

Summary

Introduction The main aim of the present study was to perform a literature review on the use of xenogenic and synthetic biomaterials for tissue healing. Regarding ceramic materials, hybrid hydroxyapatite and β -TCP (60-70/40-30 wt%), apatite carbonate, demineralized bovine bone mineral (DBBM) are ordinary bone graft materials. However, the absorption rate and biologic response of synthetics is slower than those for xenogenic graft materials. Regarding several polymers, xenogenic materials (e.g. collagen, chitosan) have shown a biologic response proper for tissue healing when compared to synthetic polymers (e.g. PLGA, PLDLA). Thus, the bone healing involves cell migration, protein and mineral adsorption, angiogenesis, and the tissue formation. The development of synthetic polymers with a bio-absorption rate in synergism with the tissue healing and angiogenesis has been the focus of recent studies. Therefore, the combination of synthetic and xenogeneic graft materials become a strategy for enhanced tissue healing.

Keywords: Biomaterials, polymers, ceramics, bone graft, tissue healing.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o desenvolvimento tecnológico de materiais compatíveis com os tecidos do corpo humano, denominados biomateriais, tem mobilizado mundialmente grupos multidisciplinares de pesquisadores e indústrias trabalhando para obter as características necessárias para aplicação como: alta compatibilidade com os tecidos do corpo humano; alto desempenho; conforto e menor custo financeiro ao paciente (Palmer, L.C., *et al*, 2008; Arcos, D. *et al*, 2009; Vallet-Regi, M. & Arcos, D., 2008; Uchino, T., *et al*, 2010; Talebian *et al*, 2019). Diversos biomateriais baseados em metais (ex. titânio), cerâmicas (ex. zircônia, hidroxiapatite e β -TCP), polímeros (ex. PLGA, PEEK, celulose) e compósitos (ex. PLGA/Hidroxiapatite) estão disponíveis no mercado sendo aplicados em várias áreas

da Medicina (Palmer, L. C., Newcomb, C. J., Kaltz, S. R., Spoerke, E. D. & Stupp, 2008; Korzinskas, T. *et al.*, 2018).

A reabsorção e remodelação óssea alveolar que ocorre em áreas após extrações dentárias, infecções ou traumas podem causar limitações dimensionais para a instalação de implantes osseointegráveis (Davies, J. E., 2003; Albrektsson, T. & Johansson, 2001). Apesar da sua alta previsibilidade, o uso de enxertos autógenos (tecido ósseo do próprio paciente) para estas reconstruções apresenta grandes desvantagens com relação à quantidade limitada de osso disponível nas áreas doadoras, e às frequentes morbidades e complicações associadas à sua remoção (Pretorius, P.J., *et al*, 2005; Chiapasco, M., *et al*, 2009). A busca por biomateriais que possam atuar de maneira semelhante ao osso autógeno, promovendo ao

mesmo tempo osteocondução, osteoindução e osteogênese, fomenta pesquisas na Engenharia de tecidos com resultados promissores ao associar os seguintes aspectos: biomateriais para arcabouços (*scaffolds*); fatores de crescimento; e células estaminais capazes de se diferenciarem em osteoblastos e consequentemente formar tecido ósseo (Griffin, L.C., *et al*, 2016). Os arcabouços são atualmente desenvolvidos à base de hidroxiapatite e β -TCP, com o objetivo de apresentarem os seguintes requisitos: alta biocompatibilidade, permitir adesão, migração e proliferação celular, facilitar a invasão vascular bem como dar suporte à angiogênese, devem permitir a sinalização bioquímica intercelular, devem possuir propriedades mecânicas semelhantes ao osso, e taxa de reabsorção correspondente ao reparo ósseo (Albrektsson, T. & Johansson, C., 2001; Jones, J. R., 2009; Kinoshita, Y. & Maeda, H., 2013). Estes tipos de estruturas para enxertos necessitam de grande avanço tecnológico para atingirem os resultados esperados.

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão narrativa da literatura sobre recentes biomateriais sintéticos e xenógenos com alta capacidade de reparo tecidual.

2. CERÂMICAS BIOATIVAS

O osso é composto por uma porção inorgânica maioritariamente 33% de cálcio e aproximadamente 17% de fosfato, formando cristais de hidroxiapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) em aproximadamente 70% em peso aglomerado por uma matriz orgânica à base de fibras de colagénio e proteínas. A hidroxiapatite (HAp) sintética pode ser obtida através do processamento do fosfato de cálcio. Além disso, o fosfato de cálcio sintético têm uma similaridade química com a componente mineral dos ossos e dentes dos mamíferos, o que potencializa o seu uso como um material de substituição óssea (Palmer, L.C., *et al*, 2008; Arcos *et al*, 2009; Broggin *et al*, 2015; Veis, A.A., *et al*, 2004; Canillas *et al*, 2017). Sendo assim, os compostos à base de fosfatos de cálcio têm sido utilizados com diferentes formas e funcionalidades no campo biomédico (Broggin *et al*, 2015; Canillas *et al*, 2017). As principais razões para o seu vasto uso são a bioatividade, estímulo celular (osteocondução), e formação vascular (angiogênese), o que conduz a uma ligação físico-química íntima entre o implante e o osso. Vários trabalhos de implantes à base de fosfato de cálcio, na forma de scaffold ou partículas, demonstraram a sua capacidade para fins de reparo ósseo e suporte na adesão dos osteoblastos.

Várias formas de HAp sintética não reproduzem exatamente a estrutura dos cristais naturais de HAp de osso, no entanto, eles são absorvidos pelo organismo a uma taxa que depende da estrutura, composição química e área de superfície específica do biomaterial (Antoniac, I., 2016). A HAp tem uma maior estabilidade no meio aquoso do que outras cerâmicas de fosfato de cálcio dentro de um pH que varia de 4.2 até 8, sendo que estequiometria determina esta estabilidade. Variações na proporção de Ca/P (1.67) podem levar ao aparecimento de diferentes fases. O α - ou β -TCP podem estar presentes após o processamento se a razão Ca/P for menor que 1.67 (Best *et al*, 2015; Canillas *et al*, 2017). Sendo a razão Ca/P maior que 1.67, óxido de cálcio (CaO) pode formar-se junto com a fase de HAp (Best *et al*, 2015). A presença de diferentes fases podem adversamente afetar a formação de tecido ósseo e na taxa de absorção do biomaterial. No entanto, é necessário combinar a

taxa de absorção do biomaterial com o reparo de tecido ósseo esperado. Compostos à base de TCP com a razão Ca/P de 1.5, são mais rapidamente absorvidas do que a HAp. Têm sido investigadas misturas de HAp e TCP, conhecidas como fosfato de cálcio bifásico (BCP), como substitutos ósseos; entretanto, a taxa de absorção pode ser acelerada com a maior presença de TCP (Best *et al*, 2015; Canillas *et al*, 2017).

O β -TCP é amplamente utilizado como substituto ósseo, no entanto o comportamento do TCP no ambiente corporal é afetado não apenas pelo conteúdo da fase, mas também pela porosidade da cerâmica. Grânulos porosos bioativos e absorvíveis constituem as formas comerciais usadas para preencher defeitos ósseos (Sheikh, Z. *et al*, 2015; Uchino, T. *et al*, 2010). O material deve ser modelado com poros interconectados e hierárquicos dentro da escala micro- e macrométrica. A estrutura óssea exibe uma porosidade hierárquica que varia de um micrometro a centenas de micrometros. Na concepção de materiais porosos para reparo ósseo, é muito importante ter em consideração a porosidade hierárquica que pode ser encontrada na natureza. Ao imitar uma estrutura porosa hierárquica, esses materiais podem desempenhar um papel similar aos materiais naturais porosos (Vallet-Regí, M. & Ruiz-Hernández, E., 2011; Jones, J. R., 2009). Quanto à aplicação de biomateriais, é necessário atender aos fatores que regem a formação de novo osso. Três elementos são críticos na reparação e regeneração óssea: migração de células osteogénicas, presença de fatores de crescimento para osteoindução, e espaço necessário para a angiogênese (Vallet-Regí, M. & Ruiz-Hernández, E., 2011). Portanto, existem vários elementos a considerar, com dimensões muito diferentes: ossos com poros em microescala; apatita nanométrica (25-50 nm); células, proteínas, péptidos, e fatores de crescimento ósseo (Vallet-Regí, M. & Ruiz-Hernández, E., 2011). Os cristais de apatita formam-se a partir de núcleos de mineralização ao redor de moléculas de colagénio e agregadas em fibras de colagénio. No entanto, uma das principais limitações do fosfato de cálcio é a sua baixa resistência mecânica, especialmente pela sua fragilidade e resistência à fadiga. Isto é ainda mais evidente para cerâmicas e *scaffolds* bioativos altamente porosos, onde os poros ultrapassam 100 μm (Arcos *et al*, 2009; Dechamps *et al*, 2017).

Os vidros bioativos também têm a capacidade de reparar defeitos ósseos devido à sua capacidade de estabelecer ligações químicas com o tecido ósseo e interagir com o ambiente circundante (Ohtsuki, C., Kamitakahara, M. & Miyazaki, T., 2009; Liu, X., Chu, P. & Ding, C., 2004). O primeiro material cerâmico de vidro bioativo desenvolvido foi o Bioglass, que é composto em peso por 45% de SiO_2 , 24.5% de CaO, 24.5% de Na_2O , e 6% de P_2O_5 e, portanto, denominado 45S5. Estudos anteriores relataram as propriedades e o desempenho de vários tipos de cerâmicas bioativas, como fosfatos de cálcio, tais como hidroxiapatita sintetizada $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, vitrocerâmica de apatita-volastonita e cimentos de fosfato de cálcio.

A história do Bioglass começou em 1969, quando o professor Larry Hench avaliou os enormes custos relativos ao tratamento de feridas de amputação durante a Guerra do Vietname (Best *et al*, 2015; Canillas *et al*, 2017). Alguns anos depois, Hench e colaboradores (Hench *et al*, L., 1991) relataram que a formulação específica do sistema Na_2O -CaO- P_2O_5 - SiO_2 com a adição de B_2O_3 e CaF_2 resultou numa ligação forte e

aderente ao osso (Best, S. M., Porter, A. E., Thian, E. S. & Huang, J., 2008). O diagrama da fase de equilíbrio de $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaOSiO}_2$ mostra um eutético ternário próximo da composição 45S5, que foi a base original para a seleção de tal composição para investigação (Best *et al.*, 2015; Canillas *et al.*, 2017). Testes *in vitro* mostraram que a composição de 45S5 sofre uma reação superficial que ocorre muito rapidamente. A reação superficial é um processo complexo de vários estágios que resulta na formação de uma camada de apatita de hidroxicarbonato (HCA) biologicamente ativa. A fase HCA é química e estruturalmente semelhante à fase mineral óssea e, portanto, fornece uma ligação direta ao unir o tecido do hospedeiro com o biomaterial particulado (Best *et al.*, 2015; Canillas *et al.*, 2017). A magnitude da ligação óssea e a força e a estabilidade da ligação variam com a composição e microestrutura dos materiais bioativos. Hench *et al.* (Hench, L. L., 1991) relataram que, para a sua formulação específica de BG usando o processamento de vidro derivado de fusão, o osso formou uma rápida ligação quando os níveis de sílica estavam na faixa de 42% a 53%; vidros com 54% a 60% de sílica requerem 2-4 semanas para a adesão do osso, e o osso não formou uma ligação direta com o vidro contendo mais do que 60% de sílica.

3. SCAFFOLDSEPARTIGULADOS CERÂMICOS XENÓGENEOS PARA REPARO ÓSSEO

Um xenoenxerto é um material de substituição proveniente de uma espécie animal diferente do recetor. Atualmente, diversos xenoenxertos de tecido ósseo são comercializados para o manejo de defeitos ósseos periodontais e procedimentos de aumento ósseo, como terapia de implantes. As fontes de matriz óssea variam desde espécies bovinas, porcinas, equinas e mesmo de exosqueletos de certas espécies de corais marinhos (Galarraga-Vinueza, M.E. *et al.*, 2017; Fujioka-Kobayashi, M. *et al.*, 2017). Os materiais xenogénicos têm a vantagem de serem uma fonte altamente bioativa e incapaz de promover uma reação inflamatória excessiva. Além disso, são considerados seguros na indução de respostas imunológicas e transmissão de doenças, desde que o processo laboratorial seja adequado. No entanto, apesar de desprezível, o risco potencial de transmissão de doença (encefalopatia espongiiforme bovina) não é completamente eliminado (Ohtsuki, C. *et al.*, 2017; Jones *et al.*, 2009; Kinoshita, Y.

& Maeda, H., 2013).

O xenoenxerto mais comumente utilizado no mercado é o mineral ósseo desproteínizado de origem bovina (DBBM). Esta matriz óssea inorgânica é obtida após a eliminação dos componentes orgânicos do osso bovino medular por meio de tratamentos químicos e térmicos eficientes (Gardin, C., *et al.*, 2015). O DBBM consiste principalmente em hidroxiapatite (HAP) e preserva a porosidade do tecido ósseo natural. A estrutura porosa ocupa 75% de todo o volume, proporcionando o ambiente ideal para a vascularização e nova adesão óssea. Desta forma, atua como um material osteocondutor ao fornecer uma matriz estável que permite a proliferação das células da linha osteoblástica do hospedeiro, os osteoblastos, para a deposição de novo osso (Kinoshita, Y. & Maeda, H., 2013; Ohtsuki, C., Kamitakahara, M. & Miyazaki, T., 2009; Galarraga-Vinueza, M. E. *et al.*, 2017; Hum, J. & Boccaccini, A. R., 2012).

O DBBM é um material bastante utilizado no aumento ósseo da crista alveolar e no preenchimento de defeitos intraósseos devido à sua capacidade de manutenção do volume por apresentar um potencial de reabsorção limitado. Estudos reportam uma quantidade significativa de DBBM residual após anos de reparo ósseo (Hum, J. & Boccaccini, A., 2012; Brogini, N., *et al.*, 2015). A diminuição da altura é cerca de 10%, apresentando uma excelente resistência à pneumatização do seio maxilar (Hum, J. & Boccaccini, A. R., 2012). Noutro estudo realizado também se verifica a manutenção do volume de tecido no qual DBBM foi utilizado (Ohtsuki, C. *et al.*, 2009). Em análise microscópica do tecido 3 meses após o enxerto (Figura 1), foram observadas partículas de material xenogénico rodeadas por tecido conjuntivo denso, altamente celular e com a presença de infiltrado inflamatório granulomatoso composto por linfócitos, células plasmáticas e macrófagos. No entanto, na análise realizada no tecido 6 meses após o enxerto (Figura 1), foi encontrado um tecido conjuntivo denso, no qual havia fragmentos de partículas de biomateriais xenogénicos. Nas regiões periféricas é possível observar-se a deposição de material basófilo, indicando a formação de partículas minerais e tecido mineralizado (Ohtsuki, C., Kamitakahara, M. & Miyazaki, T., 2009).

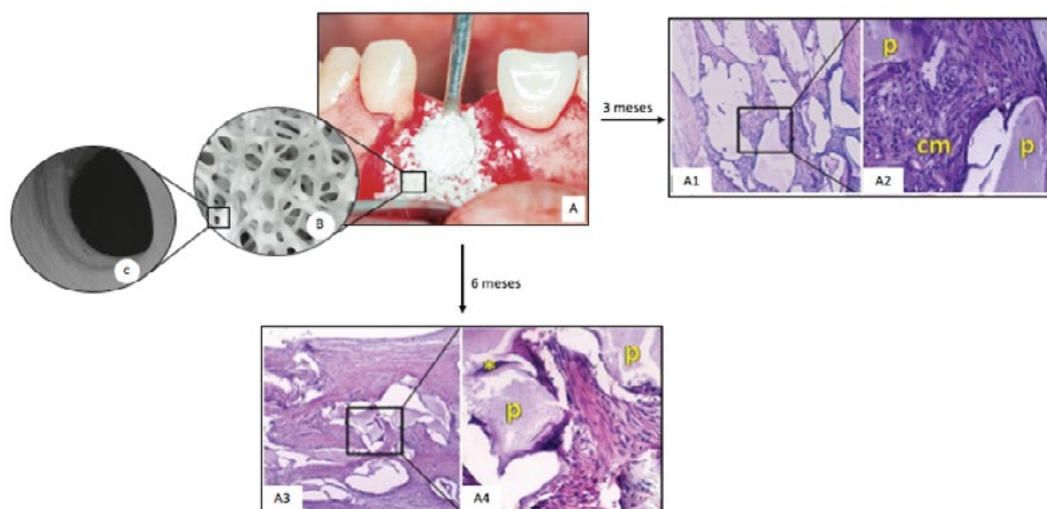


Figura 1: Biomaterial A: Preenchimento de defeitos ósseos com DBBM. B e C – Imagens SEM das partículas de DBBM, cortesia de Ossmed, Portugal. A1 e A2 – Imagens histológicas da matriz óssea desproteínizada de osso bovino 3 meses após o enxerto; A3 e A4 – Imagens histológicas da matriz óssea desproteínizada de bovino 6 meses após o enxerto (Ohtsuki, C., Kamitakahara, M. & Miyazaki, T., 2009).

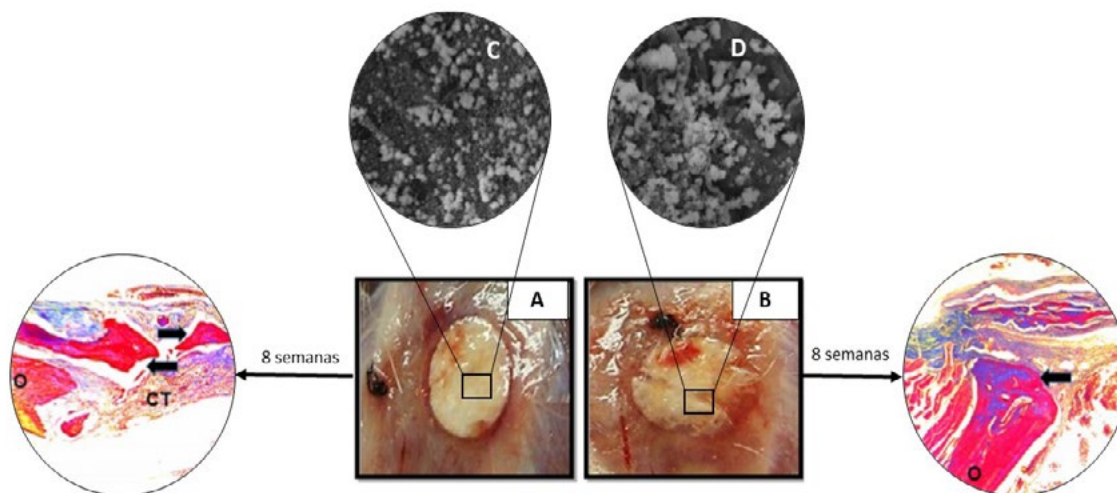


Figura 2: Defeitos ósseos calvariais de rato cobertos por membrana derivada de pericárdio e membrana derivada de serosa intestinal (A e B, respectivamente); imagens SEM da superfície das membranas (C e D), ampliação 5000x; fotomicrofotografia das margens do defeito ósseo (BD) e formação de tecido ósseo novo (seta) e tecido conjuntivo (CT) em redor do osso original (O), 8 semanas pós-cirurgia. (Hirata *et al* (2015)).

4. POLÍMEROS E HIDROGÉIS BIOATIVOS

Os hidrogéis são materiais constituídos por polímeros sintéticos ou naturais que foram concebidos para imitar as propriedades naturais da matriz extracelular (ECM), nomeadamente o suporte mecânico e a libertação de fatores de crescimento (GF) implicados na regeneração tecidual. Estes materiais encerram a vantagem de poderem ser produzidos à medida pretendida, ou mesmo polimerizados *in situ* (Oliveira, M. B., Bastos, H. X. S. & Mano, J. F., 2018).

Polímeros de origem natural, como gelatina e quitosana, têm uma biocompatibilidade mais elevada, tornando-os mais atrativos do que polímeros sintéticos. A gelatina é uma proteína natural que deriva da hidrólise do colagénio da ECM que, por isso, contém a sequência peptídica arginina-glicina-aspartato (RGD) responsável pela adesão celular e exibe antigenicidade limitada (Talebian, S. *et al*, 2019; Hwang, J.W., *et al*, 2016). De igual forma, a quitosana é um aminopolissacarídeo derivado da desacetilação de quitina, composto por glucosamina unida a N-acetilglucosamina por ligações β -(1-4) glicosídicas. Devido à sua origem natural e tal como a gelatina, apresenta elevada biocompatibilidade, fácil degradação e baixa toxicidade, caracterizando-se adicionalmente pela termosensibilidade: geleifica à temperatura fisiológica, podendo ser um material injetável com potencial para polimerização *in situ* (Fu, J., Yang, F. & Guo, Z., 2018; Min, Q. *et al.*, 2019). A adição de outras substâncias permite otimizar as propriedades mecânicas do hidrogel (Santo, V. E., Gomes, M. E., Mano, J. F. & Reis, R. L., 2012). Por exemplo, Nie *et al* demonstrou que a adição de nanopartículas bifásicas de fosfato de cálcio (BCP-NPs) a hidrogéis de quitosana-gelatina permitiram a sua otimização física, no que resultou em um aumento da concentração dos BCP-NPs associado a um aumento da resistência a forças compressivas. Este estudo comprovou também *in vivo* a capacidade osteogénica dos hidrogéis de quitosana (Nie, L. *et al.*, 2019).

Poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) é um copolímero fabricado a partir de ácidos láctico (LA) e glicólico (GA), que tem sido adotado em bioengenharia de tecidos devido à

sua excelente biocompatibilidade, taxas de degradação controláveis, termosensibilidade e adequadas mecânicas (Sun, X., *et al*, 2017; Li, G., *et al*, 2015; Gentile, P., *et al*, 2014). Embora sintético, este polímero não apresenta toxicidade significativa e é eliminado pelas vias de degradação naturais, devido à sua estrutura química simples (Gentile, P., *et al*, 2014), fator que pode ser negativo por levar a uma hidrólise ou metabolização celular demasiado rápida das membranas de PLGA (Korzinskas, T. *et al.*, 2018). O PLGA tem, no entanto, poucos grupos bioativos, o que limita a sua osteocondutividade e osteoindutividade, problema que pode ser solucionado através da adição, por exemplo, de partículas cerâmicas, como hidroxiapatite (Hap) (Sun, X., Xu, C., Wu, G., Ye, Q. & Wang, C., 2017). Rahman *et al* demonstraram que também a adição do fator de proteína morfogenética óssea (BMP-2), fator de crescimento com elevada osteoindutividade, a hidrogéis de PLGA/polietilenoglicol (PEG) revelou um aumento de significativo (55%) de crescimento ósseo *in vivo* relativamente ao volume ósseo formado na ausência de BMP-2 (31%) (Rahman, C.V., *et al*, 2014).

Um polímero sintético utilizado no fabrico de membranas de barreira não-absorvíveis, as quais têm como desvantagem a necessidade de uma segunda cirurgia para a sua remoção, é o politetrafluoretileno (PTFE), que se caracteriza pela excelente biocompatibilidade e por ser relativamente rígido, conferindo maior eficácia à sua função de impedir o crescimento de tecido conjuntivo na área de crescimento ósseo (Korzinskas, T. *et al.*, 2018). Apesar destas membranas poderem ser expandidas (e-PTFE) ou densas (n-PTFE), apenas as últimas continuam a ser comercializadas, uma vez que a sua porosidade é comparativamente menor, não apresentando, por isso, o mesmo risco de infeção quando expostas ao ambiente oral e permitindo assim uma regeneração óssea bem-sucedida (Soldatos, N. K. *et al.*, 2017). Num estudo comparativo de membranas de PTFE e PGA/PLA, Simion *et al* demonstraram que a densidade óssea obtida utilizando as membranas não absorvíveis era significativamente superior à das absorvíveis, sugerindo que as primeiras serão mais adequadas quando um aumento vertical de osso é requerido (Simion, M., *et al*, 1996).

Outro polímero sintético, não tóxico, solúvel em água é o álcool polivinílico (PVA), um derivado da hidroxilação parcial ou total do acetato polivinílico. Diversos estudos *in vivo* confirmaram a sua biocompatibilidade, sendo utilizado por exemplo no fabrico de lentes de contacto (Baker, M.I., *et al*, 2012; Song, W., *et al*, 2012; Li, G., *et al*, 2015). Devido às ligações hidrogénio entre os diversos grupos hidroxilo e aos micro-núcleos cristalinos, esta substância pode comportar-se como um gel antes de lhe ser aplicado um método de polimerização, dependendo da sua concentração e peso molecular. Desta forma, a polimerização reforça esta estrutura, tornando os hidrogéis de PVA fisicamente mais resistentes (Li, G., *et al*, 2015). Song *et al* desenvolveram um hidrogel composto de PVA associado a hidroxiapatite (HAp) e colagénio tipo I (Col) que revelou uma resposta inflamatória diminuída devido à adição destas duas substâncias ao PVA. A fraca adesão celular do PVA foi também compensada pela presença de HAp (Song, W., *et al*, 2012).

Polietileno glicol (PEG) é outro polímero sintético que tem sido utilizado em vários estudos e é um material vastamente utilizado em regeneração óssea guiada (GBR), devido à sua biocompatibilidade, ausência de imunogenicidade e propriedades físicas versáteis (Dreifke, M. B., Ebraheim, N. A. & Jayasuriya, A. C., 2013). No entanto, é um polímero notoriamente conhecido pela baixa taxa de adesão celular devido à superfície lisa dos hidrogéis resultantes, pelo que a adição da sequência de péptidos RGD é um exemplo de uma modificação frequente, para facilitar as ligações célula-gel. Como já tinha sido demonstrado previamente com hidrogéis de PVA, foi também confirmado por Yang *et al* que a presença da sequência peptídica RGD em gel de PEG, além de uma maior adesão celular, promove também a diferenciação osteogénica (Yang, F. *et al*, 2005).

5. MEMBRANAS XENÓGENAS PARA REPARO ÓSSEO

O colagénio está presente em vários tecidos xenógenos, razão pela qual surgiu interesse em produzir-se membranas de colagénio a partir de diversos tecidos animais. Por exemplo, Maurer *et al* avaliaram quatro tipos de membranas derivadas de tecido suíno: centrum tendineum (CT), pericárdio (PE), prega da veia cava (PL) e submucosa de intestino delgado (SIS), verificando a sua aplicabilidade em regeneração óssea (Maurer, T. *et al*, 2018). Também Pettian *et al* produziram uma membrana de colagénio a partir da camada serosa de intestino bovino e avaliaram a sua capacidade de reparação óssea *in vivo*, num modelo de ratos com defeito ósseo craniano. Apartir de análise morfológica, os autores verificaram um aumento significativo de volume ósseo nos grupos de teste (Pettian, M. S. *et al*, 2018), resultados em conformidade com aqueles obtidos por Hirata *et al* num estudo semelhante, em que analisaram membranas da serosa intestinal e membranas de pericárdio de bovino (Hirata, H. H. *et al*, 2015).

Também a derme apresenta características favoráveis: Fujioka-Kobayashi *et al* avaliaram a capacidade osteogénica de membranas derivadas de derme suína (PDCM) e de membranas derivadas de pericárdio suíno (PPCM), em conjugação com fatores de crescimento (rhBMP-2 e rhBMP-9). Os testes *in vitro* realizados indicaram uma adsorção de 90% das proteínas às membranas e que a sua libertação ocorreu gradualmente ao longo de 10 dias (Fujioka-Kobayashi, M. *et al*, 2017). Embora

os resultados mostrem uma maior adesão celular nas PDCM, o potencial osteogénico das membranas foi eficazmente aumentado em ambas com esta associação, especialmente na presença de rhBMP-950.

Um exemplo específico de uma membrana xenógena muito utilizada é a Bio-Gide®, uma membrana patenteada de colagénios tipo I e III de origem suína com vasta evidência de incrementar a ossificação (Schlegel, A.K., *et al*, 1997; Wu, H. & Hu, G., *et al*, 2007). Wu *et al* verificaram a degradação precoce da membrana de colagénio comercial (Wu, H. & Hu, G., *et al*, 2007). Num modelo testado em defeitos ósseos de mandíbula de coelho, os autores compararam a eficiência da membrana de pericárdio bovino relativamente à eficiência de uma membrana de colagénio comercial na formação de tecido ósseo. Não só o novo osso se revelou histologicamente mais uniforme quando formado na presença da membrana de pericárdio bovino, como o reparo ósseo foi significativamente mais elevada neste grupo (82%) do que na presença da membrana de colagénio comercial (76,35%), a qual se verificou completamente degradada logo na 8ª semana (Wu, H. & Hu, G., 2007).

Assim, dada a preferência atribuída às membranas bioabsorvíveis, e atendendo à rápida degradação das membranas de colagénio, vários estudos *in vitro* e *in vivo* reforçam as vantagens das membranas de colagénio derivadas de pericárdio, pela sua estrutura em multicamada que retarda a degradação do colagénio. Este é um tecido de natureza elástica, tornando-o de fácil manuseio e ideal para ser aplicado em GBR, de forma a impedir a invasão de tecidos não-osteogénicos competitivos na zona do defeito ósseo (Maurer, T. *et al*, 2018; Bai, M. *et al*, 2014). A biocompatibilidade destes materiais xenógenos está, no entanto, dependente da sua purificação, pelo que vários protocolos têm vindo a ser desenvolvidos nesse âmbito, de forma a manter apenas a estrutura tridimensional e a ECM acelular do pericárdio (Gupta, S. & Gupta, D., 2014; Gardin, C. *et al*, 2015). A fixação destas membranas com glutaraldeído após a purificação já demonstrou vantagens adicionais, como otimização das suas propriedades mecânicas, sem apresentar citotoxicidade. Bai *et al* realizaram testes *in vitro* e *in vivo* em que foram comparadas as características mecânicas de membranas de pericárdio não purificadas e membranas de pericárdio tratadas com glutaraldeído. As últimas não demonstraram citotoxicidade e apresentaram adicionalmente maior rigidez após o procedimento (Bai, M., *et al*, 2014). Neste estudo, a aplicação da membrana em defeitos ósseos de mandíbula de coelho revelou-se eficaz no aumento de deposição de tecido mineralizado (Bai, M. *et al*, 2014). No entanto, num outro estudo *in vivo*, Miguel *et al* compararam a performance de membranas de pericárdio bovino com (ACSHGA) e sem tratamento de glutaraldeído (ACSH), tendo-se observado maiores osteo e angiogénese no grupo ACSH (Miguel, F. B. *et al*, 2013).

O pericárdio suíno, apesar de conter menor percentagem de colagénio do que o bovino, apresenta valores de calcificação semelhantes. Num modelo de defeito tibial em coelhos, Hwang *et al* verificaram que a aplicação de membrana de pericárdio acelular, sem utilização de agentes de fixação, demonstrou ser uma membrana de barreira eficaz até 3 meses após a cirurgia, promovendo a osteogénese (Hwang, J.W., *et al*, 2016). Na medicina dentária, a sua aplicabilidade é suportada por vários artigos. Merli *et al* descreveram um caso clínico de aumento

ósseo lateral anterior a colocação de implantes em que foi utilizada, num dos defeitos ósseos, uma membrana de pericárdio suína comercial, contrapondo uma membrana de colagénio de origem suína no lado oposto. A regeneração total, após 6 meses, verificou-se apenas nos locais em que a membrana de pericárdio foi aplicada (Merli, M. *et al.*, 2015). Também um estudo realizado por Jimbo *et al* procurou verificar a eficiência das membranas pericárdicas suínas na osteointegração de implantes colocados imediatamente após extração. No grupo de teste as membranas foram colocadas sobre os implantes e local da osteotomia e em seis semanas verificou-se histologicamente que, não só no grupo controlo ocorreria perda óssea, como o contacto osso-implante (45%) era significativamente maior nos sujeitos tratados com a membrana (75%), reforçando a aplicabilidade da membrana de pericárdio suíno em reparo ósseo (Jimbo, R. *et al.*, 2012).

6. CONCLUSÕES

Tendo em consideração dados relevantes na literatura, diferentes biomateriais têm sido desenvolvidos para acelerar o processo de reparo ósseo. A mistura de hidroxiapatite e β -TCP (60-70/40-30 wt%), apatite carbonada e hidroxiapatite de origem bovina e suína são comumente aplicados no reparo ósseo. Entretanto, a taxa de absorção dos materiais sintéticos é lenta quando comparado ao processo de cicatrização na presença dos xenógenos. A resposta biológica de materiais sintéticos ainda é inferior a resposta aos materiais xenógenos. Em relação aos diversos polímeros, materiais xenógenos (ex. colagénio, quitosana) tem apresentado uma resposta biológica mais adequada quando comparado aos sintéticos (ex. PLGA, PLDLA). O desenvolvimento de polímeros sintéticos com taxa de absorção adequada ao processo de reparo tecidual associada a uma alta bioatividade e promoção da angiogénese tem sido o alvo de estudos recentes. Além disso, combinação de sintéticos e xenógenos também torna-se uma alternativa com alto potencial de sucesso clínico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albrektsson, T. & Johansson, C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur. Spine J.* **10**, S96–S101 (2001).
- Antoniac, I. *Handbook of Bioceramics and Biocomposites*. (Springer International Publishing, 2016). doi:10.1007/978-3-319-12460-5
- Arcos, D., Izquierdo-Barba, I. & Vallet-Regí, M. Promising trends of bioceramics in the biomaterials field. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **20**, 447–455 (2009).
- Bai, M. *et al.* Guided bone regeneration using acellular bovine pericardium in a rabbit mandibular model: in-vitro and in-vivo studies. *J. Periodontal Res.* **49**, 499–507 (2014).
- Baker, M. I., Walsh, S. P., Schwartz, Z. & Boyan, B. D. A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* **100**, 1451–1457 (2012).
- Best, S. M., Porter, A. E., Thian, E. S. & Huang, J. Bioceramics: Past, present and for the future. *J. Eur. Ceram. Soc.* **28**, 1319–1327 (2008).
- Broggini, N. *et al.* Bone healing around nanocrystalline hydroxyapatite, deproteinized bovine bone mineral, biphasic calcium phosphate, and autogenous bone in mandibular bone defects. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* **103**, 1478–1487 (2015).
- Cañillas, M., Pena, P., de Aza, A. H. & Rodríguez, M. A. Calcium phosphates for biomedical applications. *Boletín la Soc. Española Cerámica y Vidr.* **56**, 91–112 (2017).
- Chiapasco, M., Casentini, P. & Zaniboni, M. Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **24** *Suppl*, 237–259 (2009).
- Davies, J. E. Understanding peri-implant endosseous healing. *J. Dent. Educ.* **67**, 932–49 (2003).
- Deschamps, I. S. *et al.* On the synthesis and characterization of β -tricalcium phosphate scaffolds coated with collagen or poly (D, L-lactic acid) for alveolar bone augmentation. *Eur. J. Dent.* **11**, (2017).
- Dreifke, M. B., Ebraheim, N. A. & Jayasuriya, A. C. Investigation of potential injectable polymeric biomaterials for bone regeneration. *J. Biomed. Mater. Res. A* **101**, 2436–2447 (2013).
- Fu, J., Yang, F. & Guo, Z. The chitosan hydrogels: from structure to function. *New J. Chem.* **42**, 17162–17180 (2018).
- Fujioka-Kobayashi, M. *et al.* Comparison of Two Porcine Collagen Membranes Combined with rhBMP-2 and rhBMP-9 on Osteoblast Behavior *In vitro*. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **32**, e221–e230 (2017).
- Galarraga-Vinueza, M. E. *et al.* Anti-biofilm properties of bioactive glasses embedding organic active compounds. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **105**, 672–679 (2017).
- Galarraga-Vinueza, M. E. *et al.* Inhibition of multi-species oral biofilm by bromide doped bioactive glass. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **105**, 1994–2003 (2017).
- Gardin, C. *et al.* Decellularization and Delipidation Protocols of Bovine Bone and Pericardium for Bone Grafting and Guided Bone Regeneration Procedures. *PLoS One* **10**, e0132344 (2015).
- Gentile, P., Chiono, V., Carmagnola, I. & Hatton, P. V. An overview of poly(lactic-co-glycolic) acid (PLGA)-based biomaterials for bone tissue engineering. *Int. J. Mol. Sci.* **15**, 3640–3659 (2014).
- Griffin, M., Kalaskar, D., Seifalian, A. & Butler, P. An update on the Application of Nanotechnology in Bone Tissue Engineering. *Open Orthop. J.* **10**, 836–848 (2016).
- Gupta, S. & Gupta, D. Guided bone regeneration with Pericardium membranes. *IOSR J. Dent. Med. Sci.* **13**, 61–65 (2014).
- Hench, L. L. Bioceramics: From Concept to Clinic. *J. Am. Ceram. Soc.* **74**, 1487–1510 (1991).
- Hirata, H. H. *et al.* Feasibility study of collagen membranes derived from bovine pericardium and intestinal serosa for the repair of cranial defects in ovariectomised rats. *Injury* **46**, 1215–1222 (2015).
- Hum, J. & Boccaccini, A. R. Bioactive glasses as carriers for bioactive molecules and therapeutic drugs: a review. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **23**, 2317–2333 (2012).
- Hwang, J. W., Kim, S., Kim, S. W. & Lee, J. H. Effect of Extracellular Matrix Membrane on Bone Formation in a Rabbit Tibial Defect Model. *Biomed Res. Int.* **2016**, 6715295 (2016).
- Jimbo, R. *et al.* Bone Morphometric Evaluation around Immediately Placed Implants Covered with Porcine-Derived Pericardium Membrane: An Experimental Study in Dogs. *Int. J. Biomater.* **2012**, 279167 (2012).
- Jones, J. R. New trends in bioactive scaffolds: The importance of nanostructure. *J. Eur. Ceram. Soc.* **29**, 1275–1281 (2009).
- Kinoshita, Y. & Maeda, H. Recent Developments of Functional Scaffolds for Craniomaxillofacial Bone Tissue Engineering Applications. *Sci. World J.* **2013**, 1–21 (2013).
- Korzinskas, T. *et al.* *In vivo* Analysis of the Biocompatibility and Macrophage Response of a Non-Resorbable PTFE Membrane for Guided Bone Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, (2018).
- Li, G., Zhang, H., Fortin, D., Xia, H. & Zhao, Y. Poly(vinyl alcohol)-Poly(ethylene glycol) Double-Network Hydrogel: A General Approach to Shape Memory and Self-Healing Functionalities. *Langmuir* **31**, 11709–16 (2015).
- Liu, X., Chu, P. & Ding, C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Mater. Sci. Eng. R Reports* **47**, 49–121 (2004).
- Maurer, T. *et al.* Structural characterization of four different naturally occurring porcine collagen membranes suitable for medical

- applications. PLoS One **13**, e0205027 (2018).
- Merli, M. *et al.* Membranes and Bone Substitutes in a One-Stage Procedure for Horizontal Bone Augmentation: A Histologic Double-Blind Parallel Randomized Controlled Trial. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* **35**, 463–471 (2015).
- Miguel, F. B. *et al.* Regeneration of critical bone defects with anionic collagen matrix as scaffolds. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **24**, 2567–2575 (2013).
- Min, Q. *et al.* Sequential Delivery of Dual Growth Factors from Injectable Chitosan-Based Composite Hydrogels. *Mar. Drugs* **17**, (2019).
- Nie, L. *et al.* Development of chitosan/gelatin hydrogels incorporation of biphasic calcium phosphate nanoparticles for bone tissue engineering. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **30**, 1636–1657 (2019).
- Ohtsuki, C., Kamitakahara, M. & Miyazaki, T. Bioactive ceramic-based materials with designed reactivity for bone tissue regeneration. *J. R. Soc. Interface* **6 Suppl 3**, S349–60 (2009).
- Oliveira, M. B., Bastos, H. X. S. & Mano, J. F. Sequentially Moldable and Bondable Four-Dimensional Hydrogels Compatible with Cell Encapsulation. *Biomacromolecules* **19**, 2742–2749 (2018).
- Palmer, L. C., Newcomb, C. J., Kaltz, S. R., Spoerke, E. D. & Stupp, S. I. Biomimetic systems for hydroxyapatite mineralization inspired by bone and enamel. *Chem. Rev.* **108**, 4754–4783 (2008).
- Pettian, M. S. *et al.* Use of an anionic collagen matrix made from bovine intestinal serosa for *in vivo* repair of cranial defects. *PLoS One* **13**, e0197806 (2018).
- Pretorius, J. A., Melsen, B., Nel, J. C. & Germishuys, P. J. A histomorphometric evaluation of factors influencing the healing of bony defects surrounding implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **20**, 387–398 (2005).
- Quarto, R. & Giannoni, P. Bone Tissue Engineering: Past-Present-Future. *Methods Mol. Biol.* **1416**, 21–33 (2016).
- Rahman, C. V. *et al.* Controlled release of BMP-2 from a sintered polymer scaffold enhances bone repair in a mouse calvarial defect model. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* **8**, 59–66 (2014).
- Santo, V. E., Gomes, M. E., Mano, J. F. & Reis, R. L. Chitosan-chondroitin sulphate nanoparticles for controlled delivery of platelet lysates in bone regenerative medicine. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* **6 Suppl 3**, s47–59 (2012).
- Schlegel, A. K., Möhler, H., Busch, F. & Mehl, A. Preclinical and clinical studies of a collagen membrane (Bio-Gide®). *Biomaterials* **18**, 535–538 (1997).
- Sheikh, Z. *et al.* Mechanisms of *in vivo* Degradation and Resorption of Calcium Phosphate Based Biomaterials. *Materials (Basel)*. **8**, 7913–7925 (2015).
- Simion, M., Scarano, A., Gionso, L. & Piattelli, A. Guided bone regeneration using resorbable and nonresorbable membranes: a comparative histologic study in humans. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **11**, 735–742 (1996).
- Soldatos, N. K. *et al.* Limitations and options using resorbable versus nonresorbable membranes for successful guided bone regeneration. *Quintessence Int.* **48**, 131–147 (2017).
- Song, W., Markel, D. C., Jin, X., Shi, T. & Ren, W. Poly(vinyl alcohol)/collagen/hydroxyapatite hydrogel: properties and *in vitro* cellular response. *J. Biomed. Mater. Res. A* **100**, 3071–3079 (2012).
- Sun, X., Xu, C., Wu, G., Ye, Q. & Wang, C. Poly(Lactic-co-Glycolic Acid): Applications and Future Prospects for Periodontal Tissue Regeneration. *Polymers (Basel)*. **9**, (2017).
- Talebian, S. *et al.* Self-Healing Hydrogels: The Next Paradigm Shift in Tissue Engineering? *Adv. Sci. (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Ger.)* **6**, 1801664 (2019).
- Uchino, T. *et al.* Hydroxyapatite formation on porous ceramics of alpha-tricalcium phosphate in a simulated body fluid. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **21**, 1921–1926 (2010).
- Vallet-Regí, M. & Arcos, D. Biomimetic nanoceramics in clinical use: from materials to applications. (Royal Society of Chemistry, 2008).
- Vallet-Regí, M. & Ruiz-Hernández, E. Bioceramics: from bone regeneration to cancer nanomedicine. *Adv. Mater.* **23**, 5177–5218 (2011).
- Veis, A. A. *et al.* Osseointegration of Osseotite and machined titanium implants in autogenous bone graft. A histologic and histomorphometric study in dogs. *Clin. Oral Implants Res.* **15**, 54–61 (2004).
- Wu, H. & Hu, G. [Comparison of acellular bovine pericardium material with collagen membrane in guiding bone regeneration]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* **21**, 743–747 (2007).
- Yang, F. *et al.* The effect of incorporating RGD adhesive peptide in polyethylene glycol diacrylate hydrogel on osteogenesis of bone marrow stromal cells. *Biomaterials* **26**, 5991–5998 (2005).

RevSALUS

Revista Científica da Rede Académica das
Ciências da Saúde da Lusofonia

