

## **BIOCOMPATIBILIDADE DA RESINA POLIURETANA VEGETAL E GERMES DENTÁRIOS *IN VITRO*\***

Nelson Caldeira ROSLINDO\*\*  
Eleny BALDUCCI ROSLINDO\*\*  
Sebastião HETEM\*\*  
Ana Carolina DA MATA\*\*\*  
Daniela Mercaldi MALAGOLI\*\*\*\*

- **RESUMO:** Estudou-se experimentalmente germes dentários de primeiros molares inferiores, de fetos de camundongos com 17 dias, cultivados *in vitro* durante 6 dias juntamente com resina poliuretana vegetal. Os germes dentários foram incubados em meio de cultura em estufa com atmosfera umidificada, com 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. A resina poliuretana vegetal elaborada a partir do óleo de mamona foi testada isoladamente ou acrescida de 50% de carbonato de cálcio. A resina poliuretana vegetal, avaliada isoladamente ou acrescida de carbonato de cálcio, mostrou-se compatível com o desenvolvimento dos germes dentários quando cultivados *in vitro*, sugerindo a não-liberação de substâncias tóxicas para o meio de cultura.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Materiais biocompatíveis; resina poliuretana vegetal; germe dentário.

---

\* Pesquisa subvencionada pelo CNPq/PIBC/95-96.

\*\* Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP.

\*\*\* Bolsista do CNPq/PIBC/95-96. Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP.

\*\*\*\* Estagiária – Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP.

## Introdução

Nos últimos anos, vários tipos de materiais artificiais desenvolvidos para a aplicação biomédica, conhecidos como biomateriais, vêm sendo testados, com o intuito de avaliar as suas propriedades mais importantes, para utilização em áreas multidisciplinares como a medicina, biologia, química e engenharia. As propriedades mais importantes são: biocompatibilidade, não ser tóxica ou oncogênica, apresentar estabilidade química ou biológica, densidade e peso adequados, resistência mecânica e elasticidade adequadas, além do custo viável. Essas características dariam a esses materiais a possibilidade de serem os mais semelhantes possíveis ao tecido que será substituído, devolvendo-lhe sua função.

Muitos desses materiais são empregados nas áreas médicas (ortopedia, cirurgia reparadora, na confecção de próteses) e odontológica (restaurações dentais, próteses e cirurgias estéticas e/ou reparadoras na região maxilo-facial).<sup>6,13,14</sup>

Em razão da facilidade de se obter poliuretanas com as mais variadas propriedades, como polímeros flexíveis, semi-rígidos e outras, o uso da poliuretana como biomaterial vem aumentando,<sup>12</sup> embora os resultados favoráveis, em sua maioria, tenham sido aqueles obtidos quando utilizaram-se as poliuretanas derivadas de componentes extraídos do petróleo.<sup>1,13,14</sup>

A obtenção das poliuretanas vegetais com base em óleo de mamona *Ricinus communis L* faz parte de uma linha de pesquisa que vem sendo desenvolvida no laboratório de Química Analítica e Tecnológica de Polímeros - IQSC - USP, São Carlos, desde 1984. Essas resinas são produtos substitutivos alternativos de polióis e pré-polímeros sintetizados a partir de moléculas derivadas de ácidos graxos vegetais. Pesquisas clínicas que estão sendo desenvolvidas em humanos têm demonstrado apresentar uma boa biocompatibilidade quando empregada tanto em tecido mole quanto em tecido ósseo; a resina de poliuretana associada ao carbonato de cálcio apresenta, entre outras propriedades, a de osteo-indução, além de ser bactericida e fungicida.<sup>10</sup>

A preocupação em avaliar os efeitos danosos ao organismo humano, de materiais ou drogas utilizados nas áreas de saúde, exige uma busca constante de informações sob os mais diferentes aspectos. Sabe-se que esses materiais e/ou drogas podem ser testados quanto à sua biocompatibilidade *in vivo*<sup>11</sup> ou *in vitro*.<sup>7,8,10</sup>

## Proposição

Diante desses fatos, foi propósito deste trabalho verificar a biocompatibilidade da resina poliuretana vegetal desenvolvida a partir do óleo de mamona com o desenvolvimento de germes dentários de primeiros molares inferiores de fetos de camundongos com 17 dias *in vitro*.

## Material e método

Foram acasalados camundongos fêmeas, albinas, apenas no período noturno, as quais foram, pela manhã, examinadas para verificação do "plug vagina". Os animais foram sacrificados aos 17 dias de gestação, os úteros assepticamente removidos e os embriões dissecados e colocados em Meio Essencial Mínimo de Eagle (MEM - Eagle). No interior de uma capela de fluxo laminar, as cabeças dos embriões foram seccionadas e colocadas em uma nova solução de MEM - Eagle. As mandíbulas foram removidas e os germes dentários dos primeiros molares dissecados e conservados nesse mesmo meio.

Os germes dentários foram depositados sobre uma peça de papel "millipore", de forma retangular que, por sua vez, foi colocada sobre um segmento de tela metálica apoiada nas bordas do frasco de cultura e com meio de cultura suficiente para tocar a borda inferior do papel "millipore". O conjunto foi incubado, durante 6 dias, em uma estufa com atmosfera umidificada, com 5% de CO<sub>2</sub>, a 37°C.

A resina poliuretana vegetal elaborada a partir do óleo de mamona\* foi testada da seguinte maneira: a) somente a resina (líquido A + líquido B); e b) resina (líquido A + líquido B) acrescida de 50% de carbonato de cálcio. Ambas as formulações foram manipuladas conforme instruções do fabricante para confeccionar os corpos-de-prova na forma de um disco com 1,6 mm de diâmetro por 1 mm de espessura, aproximadamente.

O material foi colocado em uma estufa a 37°C por 24 horas até que tomasse presa.

Os corpos-de-prova foram desinfetados em álcool 70% durante 2 minutos e secados na capela de fluxo laminar. Os materiais foram testados, colocando-se os discos no meio de cultura no qual os germes

---

\* Material produzido pelo laboratório de Química Analítica e Tecnológica de Polímeros - QSC - USP, São Carlos.

foram cultivados, na proporção de um disco por ml de meio de cultura durante 6 dias, em uma estufa de CO<sub>2</sub> a 37°C. Os germes dentários controle foram cultivados sem a presença dos discos de poliuretana vegetal.

O meio de cultura foi renovado a cada 2 dias; após o período de 6 dias, os germes foram fixados em formol a 10%, incluídos em parafina, cortados com 6 µm de espessura e corados pelo método da hematoxilina e eosina para análise em microscopia óptica.

## **Resultado**

### **Controle**

Os germes dentários de fetos com 17 dias de gestação e cultivados por 6 dias em meio de cultura-controle apresentavam-se bem constituídos, com a odontogênese em fase de campânula avançada, com as características morfológicas de molares.

O órgão do esmalte mostrava seus componentes estruturais característicos, com uma camada de ameloblastos constituída de células altas com núcleos alongados em fases variadas de diferenciação, conforme a localização na região de cúspide ou cervical. O estrato intermediário apresentava de 3 a 5 camadas de células planas dispostas paralelamente à superfície da camada ameloblástica, sendo o retículo estrelado constituído por células com prolongamentos unidas entre si e quantidade variável de substância intercelular amorfa, conforme a área analisada. Delimitando a papila dentária encontravam-se os odontoblastos constituídos de células altas e núcleos basais, mostrando várias etapas de diferenciação conforme a área de cúspide ou cervical; foi observada uma delgada faixa de matriz de dentina na região de cúspide (Figuras 1 e 2).

### **Tratado**

Os germes dentários de fetos com 17 dias de gestação, cultivados em meio de cultura contendo resina poliuretana vegetal (Figuras 3 e 4) ou resina poliuretana vegetal acrescida de carbonato de cálcio (Figuras 5 e 6), mostraram características estruturais semelhantes entre si e às encontradas nos germes dentários do grupo controle. Assim, os germes dentários apresentavam-se bem constituídos em fase de campânula avançada com morfologia característica de molares e com todas as suas

estruturas. Na região de cúspides, a camada de ameloblastos apresentava-se constituída de células altas, diferenciadas e mais baixas e menos diferenciadas na região cervical. Os outros componentes do órgão epitelial do esmalte mostravam-se com características estruturais de normalidade. Na periferia da papila dentária, os odontoblastos apresentavam-se, morfologicamente, como células altas e núcleos basais, mostrando várias fases de diferenciação conforme a área de cúspide ou cervical. Os demais componentes da papila dentária mostraram-se distribuídos de uma maneira uniforme. Entre o órgão epitelial do esmalte e a papila dentária foi observada uma fina camada de matriz de dentina.

## Discussão

A avaliação da biocompatibilidade da resina de poliuretana vegetal desenvolvida a partir do óleo de mamona é necessária, em razão do fato de a mamona ser um produto característico de clima tropical, de fácil cultivo e, principalmente, pela diversidade do uso da resina nas áreas industrial e saúde, associado ao baixo custo para sua obtenção.\* O modelo experimental utilizado neste trabalho decorreu da observação de que materiais odontológicos podem ser testados quanto à sua biocompatibilidade *in vitro*.<sup>7,8</sup> Assim, testes de biocompatibilidade *in vitro* que utilizam um sistema de meio de cultura definido<sup>10</sup> e metodologia de trabalho padronizada, tornam-se desejáveis com vistas à melhor reprodutividade de trabalho. Possibilitam também a análise dos materiais após sua manipulação ou dos componentes desses materiais, assim como de suas frações solúveis.<sup>7</sup>

A biocalcificação *in vitro* das resinas poliuretanas, utilizando-se metodologia diferente da nossa, foi demonstrada por meio de hidrólise e também a biocompatibilidade *in vivo* foi avaliada tendo sido considerada útil na fabricação de implantes, assim como em acessórios e dispositivos, tais como bombas e válvulas de circulação extra-corpórea.<sup>6</sup>

Como vantagens apresentadas na utilização das resinas poliuretanas, destacam-se: processabilidade; flexibilidade de formulação; versatilidade de temperatura de "cura" e controle do pico exotérmico na transição líquido-gel; excelentes propriedades estruturais e ausência de emissão de vapores irritantes de formaldeído, acrilatos ou de outros vapores tóxicos.<sup>12</sup>

---

\* CHIERICE, G. O. (Instituto de Química de São Carlos - USP) Comunicação Pessoal, 1996

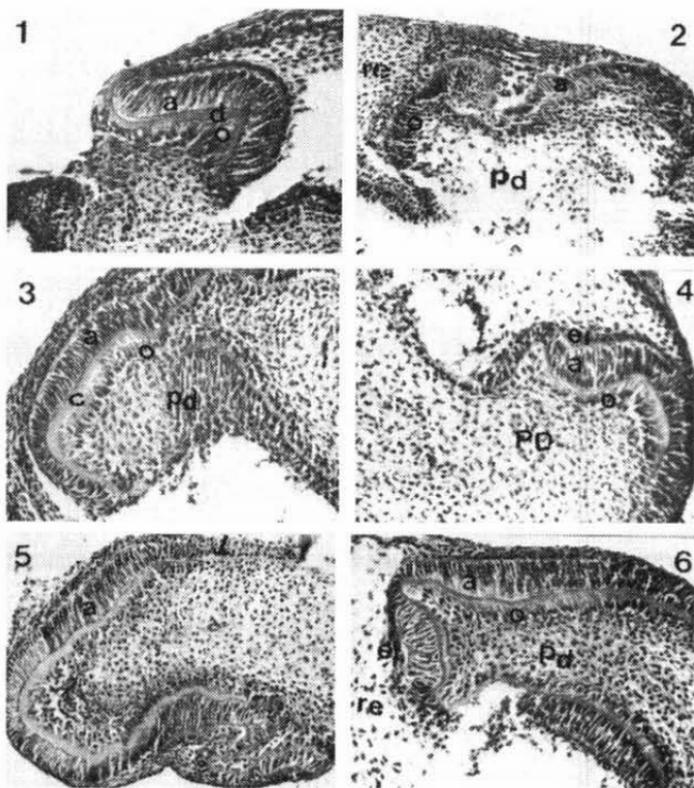


FIGURA 1 - Germe dentário de feto com 17 dias cultivado em meio de cultura - controle, durante 6 dias. Ameloblastos com núcleos bem polarizados (a), odontoblastos (o) e matriz de dentina em região de cúspide (d). H/E, 400x.

FIGURA 2 - Germe dentário de feto com 17 dias, cultivado durante 6 dias em meio de cultura - controle. Fase em campânula com característica morfológica de molar. Reticulo estrelado (re), ameloblastos (a), odontoblastos (o) e papila dentária (pd). H/E, 320x.

FIGURA 3 - Germe dentário de feto com 17 dias cultivado durante 6 dias em meio de cultura contendo corpos-de-prova preparados com resina poliuretana vegetal sem carbonato de cálcio. Região de cúspide onde se observa ameloblastos (a), odontoblastos (o) na periferia da papila dentária (pd) e matriz de dentina (c). H/E, 400x.

FIGURA 4 - Germe dentário de feto com 17 dias cultivado durante 6 dias em meio de cultura contendo corpos-de-prova preparados com resina poliuretana vegetal sem carbonato de cálcio. Vista geral observando: estrato intermediário (ei), ameloblastos (a), odontoblastos (o) e papila dentária (pd). H/E, 400x.

FIGURA 5 - Germe dentário de feto com 17 dias cultivado durante 6 dias em meio de cultura contendo corpos-de-prova preparados com resina poliuretana vegetal acrescida de carbonato de cálcio. Região de cúspide onde mostra ameloblastos com núcleos polarizados (a) e na região cervical pré-ameloblastos (seta). H/E, 320x.

FIGURA 6 - Germe dentário de feto com 17 dias cultivado durante 6 dias em meio de cultura contendo corpos-de-prova preparados com resina poliuretana vegetal acrescida de carbonato de cálcio. Onde se observam reticulo estrelado (re), estrato intermediário (ei), ameloblastos (a), odontoblastos (o) e papila dentária (pd). H/E, 400x.

Nossos resultados permitiram constatar que os germes dentários de molares de fetos com 17 dias, cultivados em meio controle, desenvolveram-se satisfatoriamente; tais resultados foram semelhantes aos descritos por diversos autores.<sup>4,5,7,8</sup>

Os germes dentários, cultivados na presença de resina poliuretana vegetal isolada ou acrescida de carbonato de cálcio, mostraram características estruturais semelhantes entre si e às encontradas nos germes dentários do grupo controle, pois em todos os casos, os germes dentários apresentaram-se bem constituídos e em fase de campânula avançada, com seus componentes estruturais característicos, levando-nos a admitir que esse material não apresenta toxicidade. Essas observações são semelhantes às encontradas em estudos que empregaram este mesmo material,<sup>9,12</sup> muito embora tenha sido mostrado que a mamona apresenta propriedades tóxicas e alergênicas, por possuir rícino, proteína encontrada na semente, caule e folhas, que provoca envenenamento caracterizado por cólicas, diarreia, anorexia, paralisia, taquicardia hipertensiva e hemorragia.<sup>3</sup> Ao ser investigada a biocompatibilidade do óxido de polipropileno como material de substituição da membrana timpânica de ratos, foram notadas alterações morfológicas das células, persistente infiltração nos locais de impactação do material, exsudato celular e a morte prematura dos animais, resultados que sugerem a ocorrência da liberação de substâncias tóxicas durante a degradação do óxido de polipropileno.<sup>1</sup> Devemos salientar que na metodologia por nós empregada, os corpos-de-prova de ambas as formulações de resinas poliuretanas colocadas no meio de cultura foram previamente manipuladas conforme instruções do fabricante, eliminando desta maneira reação exotérmica na transição líquido-gel e possivelmente emissão de vapores tóxicos.

As resinas poliuretanas foram objeto de alguns trabalhos realizados, baseados na diversidade de formulação, formas de utilização, bem como sua biocompatibilidade com as mais diversas finalidades na área de saúde. Assim, foram utilizadas para preenchimento de falhas ósseas produzidas no osso rádio,<sup>9</sup> em implantes intra-articulares e intra-ósseos,<sup>12</sup> em próteses de íliaco,<sup>14</sup> em arco zigomático,<sup>2</sup> em implante na câmara anterior do olho,<sup>15</sup> e em substituição da membrana timpânica.<sup>1</sup> Embora a maioria desses trabalhos tenha avaliado a biocompatibilidade da resina *in vivo* e em animais de espécies diferentes, houve controvérsia entre os resultados alcançados. Ao ser analisada a biocompatibilidade de poliuretanas em ratos, foi sugerido que o óxido polipropileno quando implantado libera substâncias tóxicas, contra-indicando seu uso.<sup>1</sup> Foi verificada a presença de macrófagos e células gigantes, além de sinais de degradação do implante, o que caracterizou uma reação tipo corpo

estranho.<sup>1</sup> O comportamento biológico da resina poliuretana vegetal foi avaliado em vários trabalhos, em camundongos e em ratos, empregando-se metodologias específicas, as quais mostraram reparação tecidual de maneira evolutiva.<sup>2,15</sup> No grupo experimental em que foi implantada a resina no arco zigomático de rato, após sofrer uma ressecção, notou-se aos 60 dias de pós-operatório, no osso adjacente ao implante, tecido conjuntivo em organização e neoformação óssea.<sup>2</sup> Na loja cirúrgica do arco zigomático, encontravam-se fragmentos do material implantado, envolvidos parcialmente por tecido conjuntivo com fibras colágenas paralelas a sua superfície ou por tecido conjuntivo em organização, algumas células multinucleadas e poucas células inflamatórias, sugerindo reabsorção do material.<sup>2</sup> A persistência do material implantado sugere retardo na reparação óssea. O mesmo material foi implantado na câmara anterior do olho de camundongo, onde observou-se um processo inflamatório no período inicial (7 dias) e recuperação nos períodos subsequentes (15 e 30 dias).<sup>15</sup> A resina encontrava-se revestida por tecido conjuntivo denso, aumentado em espessura em razão do tempo, e presença de raras células multinucleadas. A persistência do material com ou sem CaCO<sub>3</sub>, no período final de observação, sugere biocompatibilidade e não-toxicidade dessa resina.<sup>2,15</sup>

Neste trabalho, a constatação dos resultados histológicos, da inexistência de alterações celulares que comprometessem a evolução da odontogênese em germes dentários de camundongos, sugere a biocompatibilidade da resina poliuretana vegetal, originada a partir do óleo de mamona, corroborando os resultados encontrados em implantes intraoculares,<sup>15</sup> no arco zigomático<sup>2</sup> ou na tibia.<sup>9</sup>

Apesar dos resultados, muitas questões ainda estão abertas e devem ser investigadas, como, por exemplo: as propriedades mecânicas da resina poliuretana vegetal, sua biodegradação *in vivo*, sua formulação de modo a atender à indicação e à viabilidade de acordo com a finalidade desejada.

## Conclusão

Neste trabalho, a resina poliuretana vegetal avaliada isoladamente ou acrescida de carbonato de cálcio mostrou-se compatível com o desenvolvimento dos germes dentários, quando cultivados *in vitro* sugerindo a não-liberação de substâncias tóxicas para o meio de cultura.

## Agradecimento

Os autores manifestam seus agradecimentos ao CNPq, patrocinador da Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC/1995/1996) e aos Técnicos de Laboratório Luis Antonio Potenza e Pedro Sergio Simões, pelos serviços prestados pelas técnicas histológicas realizadas.

ROSLINDO, N. C. et al. Biocompatibility of vegetable polyurethane resin and tooth germs in vitro. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.26, n.2, p.265-274, 1997.

- **ABSTRACT:** *The lower first molar tooth germs of mouse foetuses with 17 days, were cultured during 6 days in vitro, with or without vegetable polyurethane resin in cultive medium in a humidified atmosphere with 5% of CO<sub>2</sub> at 37°C. The vegetable polyurethane resin was prepared from recinus oil and was tested itself only or added with calcium carbonate. The results showed that both formulations were compatible with tooth germ development in vitro suggesting absence of liberation toxic substances of to the culture medium, since the odontogenesis of the teeth were not disturbed.*
- **KEYWORDS:** *Biocompatible materials; vegetable polyurethane resin; tooth germ.*

## Referências bibliográficas

- 1 BAKKER, D. et al. Biocompatibility of a polyester urethane, polypropilene oxide and a polyether polyester copolymer. A qualitative and quantitative study of three alloplastic tympanic membrane materials in the rat middle ear. *J. Biomed. Mater Res.*, v.24, p.489-515, 1990.
- 2 CARUZO, S. L., ROSLINDO, N. C. Implantes de resina poliuretana vegetal em arco zigomático de ratos. Estudo histológico. In: JORNADA ACADÊMICA DE ARARAQUARA, 9, 1995, Araraquara. *Anais... Araraquara*, 1995. p.116.
- 3 CESAR VASCONCELOS, M. *Informação sobre o cultivo da mamona*. Fortaleza: Ematerce, 1990.
- 4 COHN, S. A. Development of the molar teeth in the albino mouse. *Am. J. Anat.*, v.101, p.295-319, 1957.

- 5 HAY, M. F. The development in vivo and in vitro of the lower incisors and molars of the mouse. *Arch. Oral Biol.*, v.3, p.86-109, 1961.
- 6 HENNIG, E. et al. Biostability of polyurethanes. *Exp. Chir. Transplant. Künstl. Organe*, v.22, p.204-22, 1989.
- 7 HETEM, S., JOWETT, A. K., FERGUSON, M. W. J. Biocompatibility testing of a posterior composite and dental cements using a new organ culture model. *J. Dent.*, v.17, p.155-61, 1989.
- 8 HETEM S., KANNO, C. M., MATHEUS, M. T. G. Biocompatibilidade de materiais odontológicos seladores de canais radiculares. Testes em germes dentais *in vitro*. *Rev. Odontol. UNESP*, v.22, p.85-95, 1993.
- 9 IGNÁCIO, H. *Utilização do cimento derivado do polímero da mamona no preenchimento de falha óssea*. Estudo experimental em coelhos. Ribeirão Preto, 1995. 96p. Dissertação (Mestrado em Ortopedia e Traumatologia) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
- 10 JOWETT, A. K., FERGUSON, M. W. J., COMBE, E. C. In vitro biocompatibility testing: a new organ culture method. *J. Dent.*, v.16, p.55-6, 1988.
- 11 MATHEUS, M. T. G., HETEM, S. Ação do fosfato sódico de dexametasona no desenvolvimento de germe dental transplantado para a câmara anterior do olho de camundongos. *Rev. Odontol. UNESP*, v.22, p.203-11, 1993.
- 12 OHARA, G. H. et al. Estudo experimental da biocompatibilidade do polímero poliuretano da mamona implantada intra-óssea e intra-articular em coelhos. *Acta Ortop. Bras.*, v.3, p.62-8, 1995.
- 13 OTA, K. Towards an ideal polyurethane graft for hemodialysis. *J. Biomater. Appl.*, v.4, p.141-57, 1989.
- 14 SCHMITT-FOURNIE, J. A., SERTL, G. O., SKONDIA, V. The use of a biocompatible orthopaedic polymer in the treatment of loose total hip prostheses. *J. Int. Med. Res.*, v.17, p.254-61, 1989.
- 15 VILARINHO, R. H., HETEM, S. Comportamento dos tecidos oculares frente a implantes de resina de poliuretano vegetal. In: JORNADA ACADÊMICA DE ARARAQUARA, 9, 1995, Araraquara. *Anais...* Araraquara, 1995. p.101.