

REAÇÃO À RESINA VEGETAL DE MAMONA SEM CARBONATO DE CÁLCIO DURANTE O PROCESSO DE REPARO EM DEFEITOS ÓSSEOS INDUZIDOS NO CORPO DA MANDÍBULA

Hilcia Mezzalira TEIXEIRA*

Mayury KURAMAE*

Lizete Toledo de Oliveira RAMALHO**

- **RESUMO:** Estudo da neoformação óssea basal da mandíbula de 40 ratos após preparo de um defeito ósseo obtido com fresa cilindro-cônica e preenchimento do leito ósseo de 20 ratos do grupo experimental com poliuretano vegetal sem CaCO_3 . Os demais 20 ratos, representando o grupo controle, não receberam nenhum tratamento. Decorridos 15, 25, 40 e 60 dias após a cirurgia, os animais foram sacrificados e suas mandíbulas removidas e coradas com hematoxilina e eosina para o estudo morfológico sob microscopia óptica comum. Os resultados demonstram grande aceitação orgânica à resina, não ocorrendo formação de cápsula, tampouco migração local de células inflamatórias.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Materiais biocompatíveis; resina; poliuretanos; neoformação óssea; ratos.

Introdução

Na atualidade, a odontologia, dentro de suas especialidades, tem buscado materiais biocompatíveis e inócuos ao organismo, visando à reconstrução e ao reparo de defeitos ósseos, promovendo leitos viáveis

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

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

para receber implantes, pinos, redes metálicas, levantamento do soalho do seio maxilar, preenchimento dos alvéolos e outros procedimentos.^{13, 14}

É sabido que os materiais implantados provocam uma reação fibrosa, mesmo aqueles de biocompatibilidade comprovada, em razão provavelmente da técnica cirúrgica utilizada, uma vez que o trauma cirúrgico induz a uma resposta reparacional que varia em função do trauma e do local operado. O tecido ósseo é composto de células consideradas estáveis, logo com capacidade de regeneração e permissividade, ocorrendo, dessa forma, a neoformação de células com as mesmas características daquelas injuriadas (*restitutio ad integrum*). Porém, esse processo só ocorre se a injúria estiver abaixo do limiar de sobrevivência das células adjacentes. Caso haja morte das células adjacentes no local operado, haverá necessidade de reabsorção de tecido necrótico, sendo a formação fibrosa a resposta mais provável nesta situação, o que caracteriza uma alteração no processo reacional que, neste caso, substitui as células lesadas por outras com pouca diferenciação e também diferentes das originais, como acontece nos tecidos formados por células perenes. Esse fenômeno parece ter como principal fator etiológico o calor gerado durante o procedimento cirúrgico.^{7, 8}

A reação orgânica de encapsular um material estranho implantado no tecido ósseo indica que o sistema imunológico celular reconhece tal material como corpo inerte e biologicamente compatível. A maneira como o organismo tem de isolar o corpo inerte é encapsulá-lo, sendo a espessura da camada fibrosa inversamente proporcional ao grau de aceitação do material implantado. Em outra instância, dentre os biomateriais, existem os materiais inertes, os cerâmicos e os polímeros. O grande desafio, ao se estudar os materiais poliméricos, é o de se encontrar um polímero que possua os conceitos exigidos para que se torne um biomaterial, já que esses nem sempre são totalmente inertes, podendo liberar resíduos prejudiciais ao organismo. Um polímero que preenche os requisitos de um biomaterial é a poliuretana vegetal, derivada do óleo de mamona (*Ricinus communis*).^{*} Este polímero é constituído por diisocianatos lineares alifáticos, tais como o HDI (hexametilendiisocianato), IPDI (isofuranodiisocianato) e MDI (difenilmetildiisocianato), todos polióis derivados do óleo de mamona. Esse teria ainda a capacidade de estimular o crescimento ósseo a partir de sua interface com o tecido vivo, regenerando a parte substituída. O polímero seria, então, incorporado pelo organismo, uma vez que o reconhece como parte integrante da sua estrutura.

* OHARA, G. et al. (Instituto de Química – USP – São Carlos). Comunicação pessoal, 1994.

A avaliação de uma gama de materiais foi feita em relação à compatibilidade e ao desempenho como veículos para o reparo ósseo. As resinas de poliuretana apresentaram viabilidade, até mesmo no desenvolvimento do tecido ósseo, em estudos utilizando próteses resinosas para o osso íliaco.¹⁴ Biopróteses de resinas de poliuretana vegetal foram colocadas em meio biológico agressivo, e os materiais se mostraram inertes, não ocorrendo bioerosão. Em estudos de biocalcificação in vivo e in vitro, as resinas foram consideradas materiais úteis não somente para a fabricação de implantes, mas também para a de acessórios e dispositivos, tais como bombas e válvulas de circulação extracorpórea.⁵ Em estudos de avaliação histopatológica por meio de implantes subcutâneos em ratos, essa resina mostrou uma biocompatibilidade aceitável.³

Levando-se em consideração que diversos trabalhos de pesquisa apresentam as propriedades favoráveis e a biocompatibilidade dos polímeros de poliuretana vegetal quando utilizados em vários locais do organismo, este projeto destina-se ao estudo da preparação de um defeito ósseo induzido no corpo de mandíbulas de ratos e seu posterior preenchimento com polímero de poliuretana vegetal derivada do óleo de mamona. A análise histológica tem por objetivo comparar a neoformação óssea nas cavidades preenchidas, ou não, com a resina vegetal e também a natureza das fibras colágenas da matriz orgânica óssea recém-formada, feita a partir de coloração com H/E e T. Mallory, sob microscopia óptica comum.

Material e método

Para a realização desta pesquisa utilizamos 40 ratos machos, jovens e adultos, da espécie Wistar. Cada um pesava em média 180 g, e todos eles foram anestesiados com hidrato de cloral a 10% via intraperitoneal na dosagem de 0,5 mL/100 g de peso corporal. Os ratos foram posicionados em mesa operatória, e, do lado direito da cabeça do rato, especificamente na região inferior da mandíbula, foi feita uma tricotomia, antisepsia do campo operatório com álcool iodado e álcool éter. Em seguida, foi realizada uma incisão na pele de aproximadamente 6 mm de comprimento, sendo o tecido subcutâneo divulgionado e os músculos masséter e pterigóideo medial desinseridos. Dessa forma, a porção basal do corpo das suas hemimandíbulas direitas foi visualizada, e criou-se, então, um defeito ósseo obtido com fresa cilíndrica com peça de mão e motor de

baixa rotação. Durante todo o procedimento cirúrgico, o local foi irrigado com soro fisiológico. A seguir, os 20 animais do grupo experimental tiveram o campo cirúrgico isolado com pequenos círculos de papel de filtro, que facilitaram a colocação de resina no orifício do osso mandibular. A resina se encontrava em fase de polimerização. Posteriormente, os fragmentos de papel foram removidos e o tecido epitelial foi suturado, sendo realizada assepsia com detergente de mamona.

O preparo da resina obedeceu ao seguinte procedimento: 0,5 mL de resina, 0,5 mL de endurecedor. Esses dois materiais foram colocados em um recipiente plástico e misturados com bastão de vidro até que se obteve uma mistura de característica homogênea. A polimerização desse material se completou aproximadamente após 30 minutos.

Os demais 20 animais que fizeram parte do grupo controle sofreram o mesmo estresse cirúrgico, porém com a diferença de não ser introduzido nada na loja cirúrgica.

Depois de realizada a cirurgia, os 40 animais foram numerados e mantidos em gaiolas individuais, recebendo água à vontade e dieta mole de fubá por três dias e, a partir daí, alimentados com os peletes rotineiros.

Após os períodos de 15, 25, 40 e 60 dias a contar da cirurgia, os animais foram sacrificados por inalação de éter sulfúrico, foi feita tricotomia e suas hemimandíbulas direitas foram removidas e colocadas em formol neutro,² sendo mantidas aí por um período de 96 horas. A seguir, foram imersas em solução descalcificadora segundo Morse,¹⁰ neutralização, desidratação em álcoois crescentes, diafanização, embebição em estufa a 58°C, inclusão e confecção dos blocos, cortes de 6 µm em micrótomo rotatório. Após a adesão das lâminas, foi feita a coloração de rotina com hematoxilina e eosina, e tricrômico de Mallory.

Resultado

15 dias

No grupo experimental, pôde-se notar que o material ocupa o local do defeito ósseo, tendo apenas efeito de preenchimento. O material se apresenta com característica bastante densa. Observou-se que não houve reação tecidual, o que mostra que o polímero apresenta biocom-

patibilidade perante o organismo (Figura 1). No grupo controle, notou-se que, no local do defeito ósseo, há início de intensa neoformação óssea com matriz altamente celularizada (Figura 2).

25 dias

Observou-se no grupo experimental, próximo à resina, tecido conjuntivo denso com grande número de fibras colágenas acompanhadas de células próprias do tecido conjuntivo, sem, no entanto, estar presentes células de origem inflamatória (Figura 3). No grupo controle, encontra-se neoformação óssea e faz-se perfeita distinção entre o osso velho e o novo. O osso velho se apresenta com característica bem compacta; em contrapartida, o osso novo apresenta-se bastante esponjoso e com muitos vasos sanguíneos (Figura 4).

40 dias

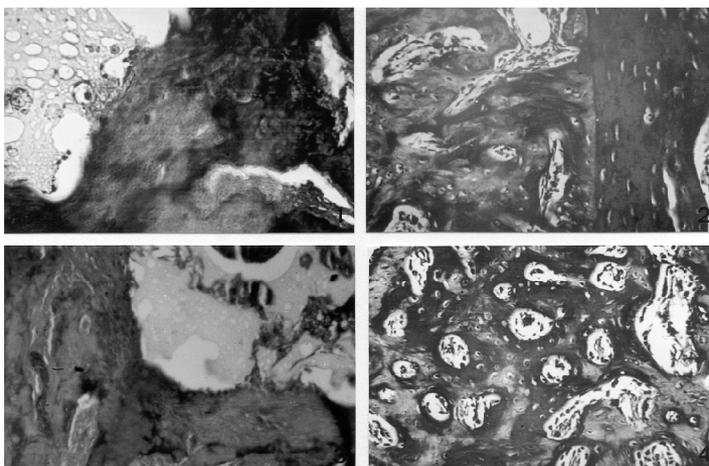


FIGURA 1 – Leito ósseo preenchido pelo polímero. (Experimental de 15 dias). Aumento 250x.

FIGURA 2 – Defeito ósseo preenchido. (Controle de 15 dias). Aumento de 250x.

FIGURA 3 – Células de reabsorção atuando no polímero. (Experimental de 25 dias). Aumento de 250x.

FIGURA 4 – Neoformação óssea com grande quantidade de células. (Controle 25 dias). Aumento de 250x.

Observa-se, no grupo experimental, a presença de resina, e que o processo de inflamação é praticamente inexistente e também não há formação de cápsula fibrosa. O tecido conjuntivo formado é classificado como do tipo osteóide (Figura 5). Para o grupo controle observou-se que, no local em que foi realizado o defeito ósseo, há preenchimento por osso neoformado, o qual se encontra em fase de organização lamelar com espaços medulares. A interface osso antigo e osso neoformado é visível pela presença da linha reversa de crescimento (Figura 6).

60 dias

Na região que delimita o osso com a resina, a superfície é lisa e contínua. Há formação de tecido osteóide, com grande concentração de capilares sanguíneos e ausência de inflamação (Figura 7). No grupo controle, houve uma intensa neoformação óssea no local em que foi realizado o defeito ósseo. Os espaços medulares do osso ficaram preenchidos por tecido conjuntivo bastante celularizado e igualmente matriz óssea rica de osteócitos. Nota-se também, ao longo do novo tecido, uma intensa proliferação osteoblástica (Figura 8).

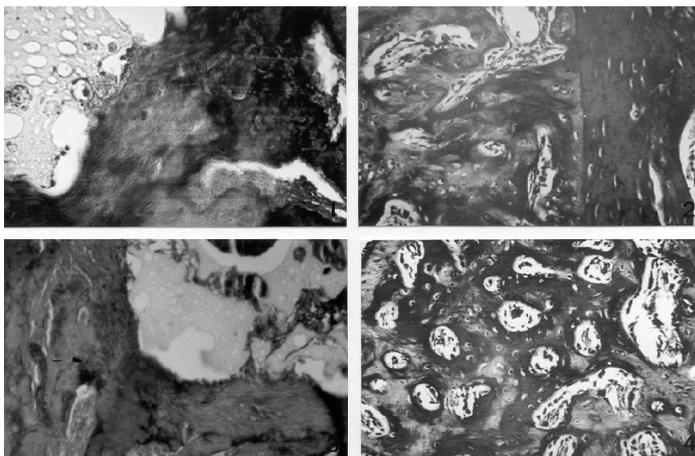


FIGURA 5 – Neoformação tecidual em substituição ao polímero. (Experimental de 40 dias). Aumento de 250x.

FIGURA 6 – Presença de osso velho e osso novo preenchendo o defeito ósseo. (Controle de 40 dias). Aumento de 250x.

FIGURA 7 – Ausência de inflamação crônica. (Experimental de 60 dias). Aumento de 250x.

FIGURA 8 – Tecido ósseo neoformado com intensa proliferação osteoblástica. (Controle de 60 dias). Aumento de 250x.

Discussão

O presente trabalho de pesquisa trata do estudo da ação da resina de poliuretana vegetal derivada do óleo de mamona durante o processo de reparo em defeitos ósseos induzidos no corpo da mandíbula de ratos sem a utilização de carbonato de cálcio, visando à análise da sua biocompatibilidade.

É sabido que a biocompatibilidade é analisada por meio da interação negativa com o sistema de defesa do hospedeiro, ausência de toxicidade ou presença de qualquer reação nos tecidos vizinhos, ausência de hemólise ou destruição das células sanguíneas e pela não-liberação de radicais livres que afetam os órgãos.⁶ Podemos observar neste trabalho que a resina vegetal pode ser considerada um material biocompatível, pois no referido experimento não há presença de cápsula, células inflamatórias e reação de corpo estranho. Trabalhos em animais nos quais foram utilizadas poliuretanas no preenchimento de falhas ósseas demonstram que esse material não apresenta toxicidade nos segmentos utilizados nos estudos,^{14, 16} o mesmo tendo sido demonstrado por Ota¹² em 1989. Esse achado também foi descrito por Henning et al.⁵ em 1989, em que biopróteses de resinas poliuretanas foram colocadas em meio biológico agressivo, e esses materiais se mostraram inertes, não havendo bioerosão.

No mesmo ano, Schimitt-Fournie et al.,¹⁴ avaliando as resinas de poliuretana quanto à sua compatibilidade, ao seu desempenho como prótese e como veículos para reparos ósseos, demonstraram que as resinas de poliuretanas são viáveis, até mesmo desenvolvendo tecido ósseo com próteses de ilíaco. Porém, Bakker et al.¹ em 1990 determinaram que, em implantes auriculares em ouvido médio de rato, as poliuretanas poliésteres apresentaram toxicidade no local do implante.

Existem hoje vários biomateriais utilizados para implante em osso. Há autores¹⁵ que demonstram em seus estudos que o titânio, bem como uma variedade de metacrilatos, provoca inicialmente uma reação inflamatória nas adjacências dos tecidos, com presença de macrófagos na camada celular.

Em trabalhos nos quais foi utilizada a resina no preenchimento de falhas ósseas, demonstram que esse material não apresenta toxicidade nos segmentos utilizados no estudo.^{4, 12, 16} Esse polímero apresenta uma

reação exotérmica pequena (42–45°C), e em contato com o meio líquido há aumento de volume por reação primária com a água.*

As tentativas do corpo de restaurar a lesão induzida por uma agressão local começam muito cedo no processo da inflamação e, no final, resultam em reparo e substituição de células mortas ou danificadas por células saudáveis.

Outros estudos demonstram a utilização de copolímeros biodegradáveis PLA/PGA em defeitos criados em tíbias de ratos, os quais demonstraram uma osteogênese uniforme em todo o defeito.¹¹

Miller et al.⁹ afirmam que, para a busca de novos materiais, estes precisam ter capacidade de suportar carga, e devem manter a estrutura de tal forma que o osso neoformado possa remodelar-se, adquirindo as mesmas qualidades e dimensões que o osso original.

O uso da poliuretana vegetal como agente indutor da neoformação óssea é vantajoso sobre o dos demais materiais pelo fato de ela ser inerte e também por ser derivada de uma fonte natural que reduz consideravelmente o seu custo.

Conclusão

Os resultados levam a crer que a resina de poliuretana vegetal é um material biocompatível, pois não ocorre a formação de cápsula nem a presença de células do processo inflamatório, fatores esses que demonstram a aceitação pelo organismo. Convém ressaltar também que o uso desse material, além de apresentar essas vantagens citadas, destaca-se em razão de seu baixo custo, uma vez que é extraído de uma fonte natural.

TEIXEIRA, H. M., KURAMAE, M., RAMALHO, L. T. de O. Reaction to Ricinus communis resin without CaCO₃ in induced-bone repair process in mandible basal region. Rev. Odontol. UNESP (São Paulo), v.28, n.1, p.63-72, 1999.

- ABSTRACT: It was analysed the bone neoformation in mandible basal region after a bony defect made with a cylinder-conic drill and filled with vegetable polyurethane resin without CaCO₃. The animals were killed 15, 25, 40 or 60 days after the surgery and the mandibles processed for histological analysis; the sections were stained by hematoxylin-eosin method and analysed under light microscopy. The results showed a good organic acceptance of the resin once that does not occur either capsule formation or inflammatory cells local migration. Based on our results we concluded that the vegetable resin seems to be biocompatible not causing deleterious effects to the organism, and not

* CHIERICE, G. O. (Instituto de Química – USP – São Carlos). Comunicação pessoal, 1997.

inducing either fibrous capsule formation or the appearance of inflammatory cells.

- KEYWORDS: Biocompatible materials; resin; polyurethanes; bone neofor-
mation; rats.

Referências bibliográficas

- 1 BAKKER, D. et al. Biocompatibility of a polyether urethane, polypropylene 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 BANCROFT, J. D., STEVENS, A. Theory and practice of histological techniques. 2.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1982. 662p.
- 3 COSTA, C. A. S. et al. Biocompatibilidade do polímero de poliuretana vegetal derivada do óleo de mamona em estudo comparativo com cimento de óxido de zinco e eugenol. Avaliação histopatológica de implantes subcutâneos de ratos. *Odonto 2000 – Odontologia do Século XXI*, v.1, p.44-8, 1997.
- 4 FARSO-NIELSEN, F. et al. Biodegradable guide for bone regeneration. *Acta Orthop. Scand.*, v.63, p.66-9, 1992.
- 5 HENNING, E. et al. Biostability of polyurethanes. *Z. Exp. Chir. Transplant Kunstliche Organe*, v.22, p.204-20, 1989.
- 6 IGNÁCIO, H. Utilização do cimento derivado do polímero de mamona no preenchimento de falha óssea. Estudo experimental em coelho. Ribeirão Preto, 1995. 96p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto.
- 7 JOHANSSON, C., ALBERKTSON, T. Integration of screw implants in the rabbit: a one year follow up of removal toeque of titanium implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.2, p.69-75, 1987.
- 8 LAING, P. G., FERGUSON JR., A. B., HODGE, E. S. Tissue reaction in rabbit muscle exposed to metallic implants. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.1, p.135-49, 1967.
- 9 MILLER, T. A. et al. The induction of bone by an osteogenic protein and the conduction of bone by porous hydroxyapatite: a laboratory study in rabbit. *Plast. Reconstr. Surg.*, v.87, p.87-95, 1991.
- 10 MORSE, A. Formic acid – sodium citrate decalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bone for sectioning in paraffin. *J. Dent. Res.*, v.24, p.143-53, 1945.

- 11 NELSON, J. F., STANFORD, H. G., CUTRIGHT, D. E. Evaluation and comparisons of biodegradable substances as osteogenics agents. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.43, p.836-43, 1997.
- 12 OTA, K. Towards an ideal polyurethane graft for hemodialysis. *J. Biomater. Appl.*, v.4, p.141-57, 1989.
- 13 ROBERTS, W. E. et al. Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. *Am. J. Orthod.*, v.86, p.95-111, 1984.
- 14 SCHIMITT-FOURNIE, J. A., SERTL, G. O., SKONDIA, V. The use of biocompatible orthopaedic polymer in the treatment of loose total protheses. *J. Int. Med. Res.*, v.17, p.254-61, 1989.
- 15 SENNERBY, L., THOMSEN, P., ERICSON, L. E. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.7, p.62-71, 1992.
- 16 SOARES, T. C. Estudo experimental da biocompatibilidade do polímero de poliuretano de mamona implantada intra-ósseo e intra-articular em coelhos. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA, 10, 1994, Salvador. Anais... Salvador: Editora da Sociedade Brasileira, 1994. p.109.