

Estudo histológico do polímero poliuretano da mamona implantado no ângulo mandibular de ratos*

Histological study of the Ricinus communis polyurethane polymer implanted at rats' mandibular angle.

Edela Puricelli**
 Carlos Eduardo Baraldi***
 Deise Ponzoni***
 Rosmeri Peschke****

RESUMO

Este estudo analisou o comportamento do polímero poliuretano da mamona implantado em leito subperióstico em ângulos mandibulares de ratos. Vinte *Rattus norvegicus* (var. *Albinus rodentia mammalia*, cepa Wistar) foram divididos em quatro grupos de cinco animais. O polímero poliuretano da mamona, com adição de carbonato de cálcio, foi implantado no bordo inferior da mandíbula dos mesmos. Em cada grupo, um animal correspondeu ao controle, tendo sido submetido à cirurgia sem a colocação do implante. Os animais foram sacrificados após 15, 30, 60 e 90 dias pós-operatórios. Ao exame histológico, em cortes corados com hematoxilina e eosina (HE), observou-se a estabilidade do implante, a ausência significativa de reação inflamatória, a formação de cápsula fibrosa circunjacente ao implante, e neoformação óssea. Segundo as condições experimentais, concluímos que o polímero poliuretano da mamona, implantado em leito subperióstico, não desencadeou reação inflamatória tardia significativa, tendo levado ao desenvolvimento de cápsula fibrosa circunscrita, com evolução para neoformação óssea. Sinais de rejeição, exposição ou expulsão do implante não foram observados.

UNITERMOS

Biomateriais, formação óssea, ácido ricinoleico

INTRODUÇÃO

Defeitos ósseos resultantes de traumatismos, ressecção de tumores, infecções ou outras causas constituem problemas de difícil solução estético-funcional. Os enxertos ósseos, sejam do tipo autógeno ou homogêneo, apresentam até o momento a solução mais biológica e com o resultado mais previsível. No caso dos enxertos autógenos, sua fonte não é inesgotável, e sua obtenção exige abordagem cirúrgica da zona doadora, aumentando a morbidade no paciente. Nos enxertos homogêneos, além das dificuldades de instalação e manutenção de bancos de ossos, discutem-se os riscos de transmissão de doenças infecto-contagiosas.

A complexidade do tratamento dos defeitos ósseos motiva a investigação de métodos alternativos, dentre os quais o uso de biomateriais - materiais sintéticos desenvolvidos para uso biológico. Suas propriedades ideais devem ser: biocompatibilidade; ausência de toxicidade ou carcinogênese; estabilidade química, biológica e funcional; densidade e o peso dentro de limites toleráveis; boa resistência mecânica; elasticidade adequada à função, e baixo custo.

Os biomateriais utilizados atualmente em implantes subperiosteos na região buco-maxilo-facial apresentam inconvenientes, tais como deslocamento, rejeição e alto custo. Realizam-se estudos, buscando encontrar materiais alternativos e estabelecer os princípios para sua utilização.

As resinas poliuretanos vegetais são produtos oriundos da associação de polióis e pré-polímeros, sintetizados a partir de moléculas derivadas de ácidos graxos vegetais. A síntese de resinas poliuretanos de origem vegetal, para um país com o potencial agro-industrial como o Brasil é extremamente interessante, tanto sob o ponto de vista econômico, quanto ecológico. A mamona (*Ricinus communis*), é uma oleaginosa da classe dicotiledonea, ordem *gerianaces*, família das *euforbaceas*, característica do clima tropical, de potencial imenso e fornecimento garantido. A partir de um de seus subprodutos, o ácido ricinoleico, pode-se produzir um poliuretano traduzida em um implante aloplástico com aplicações em Odontologia e Medicina. Este produto genuinamente brasileiro vem sendo pesquisado por diversos autores, com bons resultados.

REVISÃO DA LITERATURA

HENNING *et al.* (1989) estudaram o comportamento de próteses fabricadas com resina de poliuretano em meio biológico agressivo. Os materiais permaneceram inertes, não se observando corrosão.

COSTA *et al.* (1993) compararam microscopicamente a reação provocada pelo implante de silicone, àquela provocada pelo poliuretano da mamona, não encontrando diferenças significativas. Os autores também informaram a eficácia clínica da esterilização dos corpos de prova em autoclave.

COSTA e SHALL (1993) estudaram o emprego do polímero em próteses urológicas. Seus resultados, num acompanhamento de dois a 21 meses, em 27 pacientes, apontaram ausência de rejeição clínica e infecção. Houve um caso de hematoma, e um caso de extrusão da prótese. A média de idade dos pacientes era de 68 anos.

KOJIMA *et al.* (1994) implantaram corpos de prova do polímero intra-ósseo e intra-articular em coelhos. Para o implante intra-ósseo, com broca trefina, foi realizada uma cavidade logo preenchida por um corpo de prova de resina poliuretano mais cálcio nos joelhos dos animais. Foi implantada, ainda, resina na

* Projeto de Pesquisa desenvolvido com recursos do CNPq, processo nº. 520166/95-7.

**Doutora pela Universidade de Düsseldorf, Alemanha; Profa. Curso de Mestrado em Clínicas Odontológicas, área de concentração Cir.Traum.Buco-maxilo-facial e da área de concentração de Patologia Bucal, FO/UFRGS; Chefe da Unidade de CTBMF do Hospital de Clínicas de Porto Alegre-HCPA, Porto Alegre, RS.

***Cirurgiões-dentistas, alunos do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Mestrado em Clínicas Odontológicas - Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, FO/UFRGS, Porto Alegre, RS.

**** Cirurgiã-dentista, aluna do Curso de Mestrado em Odontologia, área de concentração Patologia Bucal - FO/UFRGS.

Correspondência: Caixa Postal 1118, CEP 90001-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

forma de gel. Os autores não observaram reação inflamatória tardia da membrana sinovial e tampouco crescimento bacteriano nas culturas do líquido sinovial realizadas após três dias de implantação. A reação ao implante de poliuretano de mamona colocado intra-ósseo evoluiu em três fases distintas: hemorragia e formação de tecido de granulação aos três dias; reação conjuntivo fibrosa aos 15 dias; e processo de ossificação aos 40 dias. Células gigantes ou sinais de reação tipo corpo estranho não foram detectadas. A análise histológica do rim, fígado e baço não demonstrou sinais de alterações patológicas. Não houve alteração clínica ou de comportamento dos animais que indicasse reações alérgicas ou por envenenamento.

MAZER *et al.* (1995) desenvolveram estudos sobre o potencial antimicrobiano do polioli derivado do óleo de mamona e utilizado na preparação de resinas poliuretanos. Concluíram que a resina de poliuretano preparada com este polioli apresenta propriedades autoesterilizantes, e que o polioli extraído do óleo da mamona é dotado de propriedades bactericidas.

COSTA *et al.* (1997) avaliaram a biocompatibilidade da poliuretano vegetal em contato com o tecido conjuntivo do rato. Implantes dorsais de tubos de polietileno, contendo um cimento de poliuretano vegetal derivado de óleo de mamona e cimento de óxido de zinco e eugenol, foram colocados no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos e observados em microscopia nos períodos de sete, 15, 30 e 60 dias. Os resultados mostraram que a poliuretano vegetal foi mais irritante que o cimento de óxido de zinco e eugenol logo após a implantação. A toxicidade inicial regrediu com o decorrer do tempo, permitindo concluir que ambos os materiais apresentaram biocompatibilidade aceitável, dentro das condições experimentais.

CARVALHO *et al.* (1997) estudaram em ratos a cronologia do processo de reparo ósseo alveolar após o implante de grânulos de polímero da mamona. Os animais sofreram implante de cinco grânulos do polímero, previamente preparados e esterilizados, imediatamente após a extração do incisivo superior direito. Os sacrifícios ocorreram uma, duas, três e seis semanas após a implantação. Na análise histológica, inicialmente observou-se pequena reação inflamatória ao redor dos grânulos, que posteriormente mostraram-se revestidos por cápsula de tecido fibroso, a qual tornou-se menos espessa com o decorrer do tempo. O implante atrasou o processo de neoformação óssea, quando comparado ao grupo controle, nos terços médio e apical do alvéolo, com diferenças estatísticas (ANOVA) significativas a partir de duas semanas de implantação.

AZEVEDO *et al.* (1997) utilizaram membranas derivadas do polímero poliuretano da mamona, associados a enxertos ósseos autógenos, ao redor de implantes osseointegrados, em três pacientes. O material foi implantado na cirurgia de fixação dos implantes. Após um período não menor do que três meses, as áreas sofreram reintervenção para instalação dos cicatrizadores epiteliais (intermediários de cicatrização), sendo então avaliadas. Nos três casos, a membrana foi capaz de manter o espaço entre o tecido conjuntivo e o osso, permitindo a formação de um tecido compatível com osso ao redor dos implantes. Não houve sinais de inflamação do tecido gengival que recobria as membranas.

MATERIAIS E MÉTODO

Vinte ratos (*Rattus Novergicus*, var. *Albinus rodentia mammalia*, fêmeas, cepa Wistar, adultas), obtidos e mantidos junto ao Biotério do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sofreram intervenção cirúrgica para implante do polímero poliuretano da mamona na região de ângulo mandibular, segundo a técnica a seguir:

- Anestesia geral com tionembuthal¹, infiltrado intraperitoneal;
- Tricotomia da região de ângulo mandibular;
- Antissepsia do campo operatório;
- Incisão submandibular e divisão por planos em direção ao tecido ósseo mandibular;
- Incisão e descolamento do periosteó, expondo a região do ângulo mandibular;
- **Manipulação individual do produto², para cada animal, na seguinte proporção:** carbonato de cálcio (5 g), polioli (5 ml), pré-polímero (5 ml);
- Implante na região do ângulo mandibular, tipo *onlay*;
- Sutura dos planos com fio de poliglactina 4-0³;
- Sutura da derme com fio *mononylon* 5-0⁴.

Para cada grupo, um animal foi submetido à intervenção cirúrgica sem implante do polímero, servindo como controle. Os animais foram mantidos em caixas apropriadas e alimentados com água *ad libidum* e ração específica⁵ abundante, até o sacrifício. Este foi realizado através de injeção letal de tionembuthal, nos períodos de 15, 30, 60 e 90 dias, perfazendo quatro grupos de cinco animais. A hemimandíbula portadora do implante, juntamente com seus tecidos moles de recobrimento, foram removidos com margem de segurança. Os espécimes obtidos, após exame

macroscópico, foram imediatamente fixados em solução de formol a 10%, descalcificados em solução de ácido nítrico a 0%, e preparados para exame histopatológico com coloração de hematoxilina-eosina (HE). As lâminas foram analisadas no microscópio óptico modelo Lambda LQT 2 (ATTO Instruments Co., Hong Kong), sob 100, 250 e 400 vezes de aumento.

Foram analisados a estabilidade do material implantado, o tipo e a organização dos tecidos circunjacentes ao implante, e a presença ou não de infiltrado inflamatório, além dos tipos celulares de sua composição.

RESULTADOS

Não houve sinais de exposição ou expulsão dos implantes durante o período de cicatrização em nenhum dos animais estudados, nem indícios de intoxicação ou alteração de comportamento. O exame macroscópico das peças removidas e preparadas, contendo a região do bordo inferior da mandíbula, o implante do polímero poliuretano de mamona e músculo, revelou a estabilidade do implante sobre a área receptora, revestida por tecidos de aparência e coloração normais. Ainda junto ao implante, verificou-se macroscopicamente a justaposição dos tecidos. Contudo nos extremos, houve a presença de espaços entre o material implantado e o osso, supostamente preenchidos por tecido conjuntivo fibroso. Tal situação pareceu perfeitamente viável, visto que o implante foi colocado *onlay*, adaptado por pressão manual e sem nenhum artifício de fixação.

Os resultados encontrados na leitura das lâminas histológicas estão ordenados de acordo com o período de 15, 30, 60 e 90 dias. São descritos os aspectos histológicos a partir da observação das lâminas em microscopia óptica.

Nos controles negativos, encontraram preservadas as estruturas dérmicas, subcutâneas, musculares e ósseas, compatíveis com a região anatômica.

GRUPO EXPERIMENTAL - 15 DIAS

Os implantes encontravam-se circunscritos por cápsula fibrosa com eventuais células gigantes, porém sem a formação de granuloma tipo corpo estranho. A região da cápsula fibrosa associada ao implante e as estruturas musculares apresentava fibras organizadas e menor número de células. O tecido conjuntivo formador da cápsula associada ao implante e ao tecido ósseo apresentou-se menos organizado e mais celular. Foi observado tecido ósseo imaturo próximo ao implante, indicando grande atividade tecidual no sítio ósseo (Fig. 1)

GRUPO EXPERIMENTAL - 30 DIAS

Houve leve reação inflamatória, persistindo discreto infiltrado junto à área da cápsula. A forma e a estabilidade do implante

¹ Thionembuthal

² Laboratório de Análise Química e Tecnologia de Polímeros, Universidade de São Paulo-USP, São Carlos, SP

³ Vycril, Ethicon, Jonhson & Jonhson

⁴ Mononylon, Ethicon, Jonhson & Jonhson

⁵ Nuvilab, Nuvalit, Curitiba

foram mantidas e o mesmo permaneceu circundado por cápsula fibrosa, tanto na área muscular quanto na óssea. Foi observado tecido ósseo seguindo com intensa atividade.

GRUPO EXPERIMENTAL - 60 DIAS

Observou-se reação periosteal seguindo com a neoformação óssea. Ausência de reação inflamatória e de proliferação tecidual conjuntivo-fibrosa na região que circunda o implante. A estabilidade do mesmo foi mantida.

GRUPO EXPERIMENTAL - 90 DIAS

Os implantes apresentaram-se circunscritos por tecido conjuntivo fibroso, tanto no sítio muscular quanto no ósseo. Não foram detectados infiltrado inflamatório ou reação de corpo estranho em ambos os sítios. O implante mostrou-se estável e áreas de neoformação e modelação óssea foram observadas (Fig. 2).

DISCUSSÃO

Os defeitos ósseos são freqüentes no dia-a-dia do cirurgião buco-maxilo-facial. Os mesmos podem variar quanto à etiologia e à complexidade, desde a atrofia do rebordo alveolar desdentado, até as grandes deformidades relacionadas às seqüelas de trauma facial, ou ressecções para tratamento de neoplasias. A dificuldade para a reabilitação funcional e estética é um ponto comum a todas estas situações. A escassez de materiais aloplásticos para implante leva a indicação de enxertos ósseos autógenos, aumentando a morbidade no paciente, uma vez que se requer uma área doadora.

A escolha do polímero poliuretano, derivado da oleaginosa *Ricinus communis*, representa a busca por um material genuinamente nacional e de baixo custo para implantes subperiosteos. Outros materiais disponíveis para este fim são importados e de alto custo, sendo inacessíveis para a grande maioria da população de nosso país. Revisando a literatura, encontramos resultados de biocompatibilidade referentes a este material, obtidos por outros grupos de pesquisadores brasileiros e com os quais concordamos.

A região de ângulo mandibular do rato é uma área de inserção de potentes músculos mastigatórios. Este fato, associado à constante mobilidade mandibular, faz desta um leito de difícil estabilidade para um material implantado no subperiosteos, se considerarmos que um dos fatores responsáveis para a integração de um implante é a imobilidade do mesmo.

Os tempos de sacrifício - 15, 30, 60 e 90 dias pós-operatórios - permitiram-nos avaliar o comportamento do material implantado e dos tecidos relacionados ao leito receptor em diferentes prazos. Através da análise macroscópica, pode-se observar a estabilidade dos tecidos circunjacentes ao implante. No exame microscópico foram avaliados os tipos celulares, caracterizando a reação tecidual frente à presença do mesmo. A análise do material obtido dos animais de controle, nos respectivos tempos de sacrifício, ofereceu-nos a possibilidade de comparar o reparo tecidual nos sítios sem e

com o implante.

Os resultados obtidos - estabilidade mecânica do implante em meio aos tecidos, presença de cápsula fibrosa circunjacente, ausência de reação inflamatória tipo corpo estranho e neoformação óssea a longo prazo - são compatíveis com os resultados obtidos por HENNING *et al.* (1989) e KOJIMA *et al.* (1994), acrescidos ainda dos resultados favoráveis de biocompatibilidade de COSTA *et al.* (1997). Na nossa observação constatamos a estabilidade física da massa implantada, a qual não apresentou deformação ou invasão intramuscular. A diminuição da espessura da cápsula de revestimento, observada por CARVALHO *et al.* (1997), não foi constatada no experimento atual, possivelmente devido à intensa atividade muscular associada ao ângulo mandibular. Estas características encontradas ajudam a explicar o sucesso clínico na utilização de implantes de polímero da mamona, como no experimento de AZEVEDO *et al.* (1997).

CONCLUSÕES

O presente estudo permitiu-nos concluir, dentro das condições experimentais, que:

- o ângulo mandibular do rato mostrou-se uma área eficaz para o estudo de implantes aloplásticos subperiosteos do tipo *onlay*;
- não houve, nos vinte ratos implantados, sinais de exposição ou expulsão dos implantes, ou mesmo evidências de intoxicação ou alteração do comportamento dos animais;
- o polímero poliuretano da mamona não desencadeou reação inflamatória tardia significativa quando implantado no subperiosteos junto ao ângulo mandibular do rato;
- houve desenvolvimento de cápsula fibrosa circunscrita junto ao ângulo mandibular do rato com evolução para neoformação óssea, sem sinais de rejeição do implante.
- os resultados apontam para a estabilidade mecânica e física do

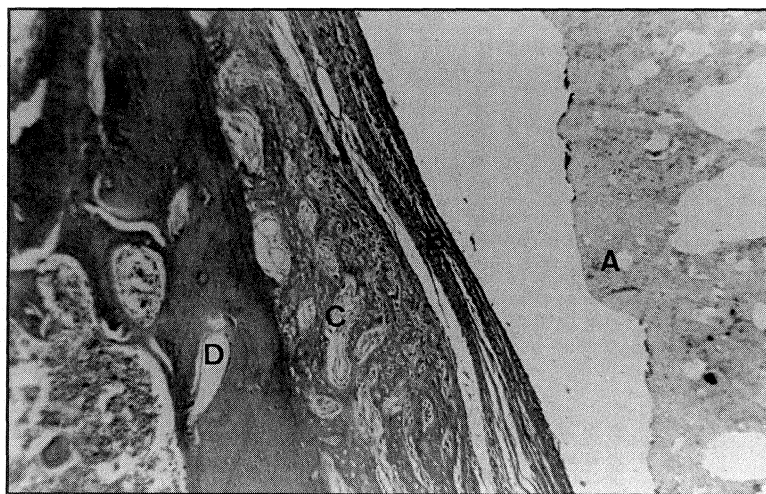
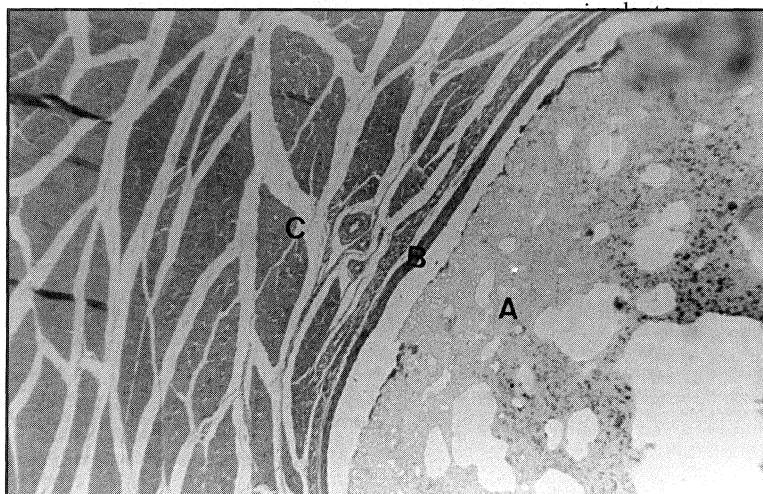


FIG.1 - Grupo experimental - 15 dias. Aumento original 250 x. Coloração HE.

A - área receptora do implante de mamona (A) com cápsula fibrosa (B) e no tecido muscular (C); B - área receptora do implante de mamona (A) com cápsula fibrosa (B) e tecido ósseo imaturo (C) sobre a estrutura ósseo-mandibular (D).

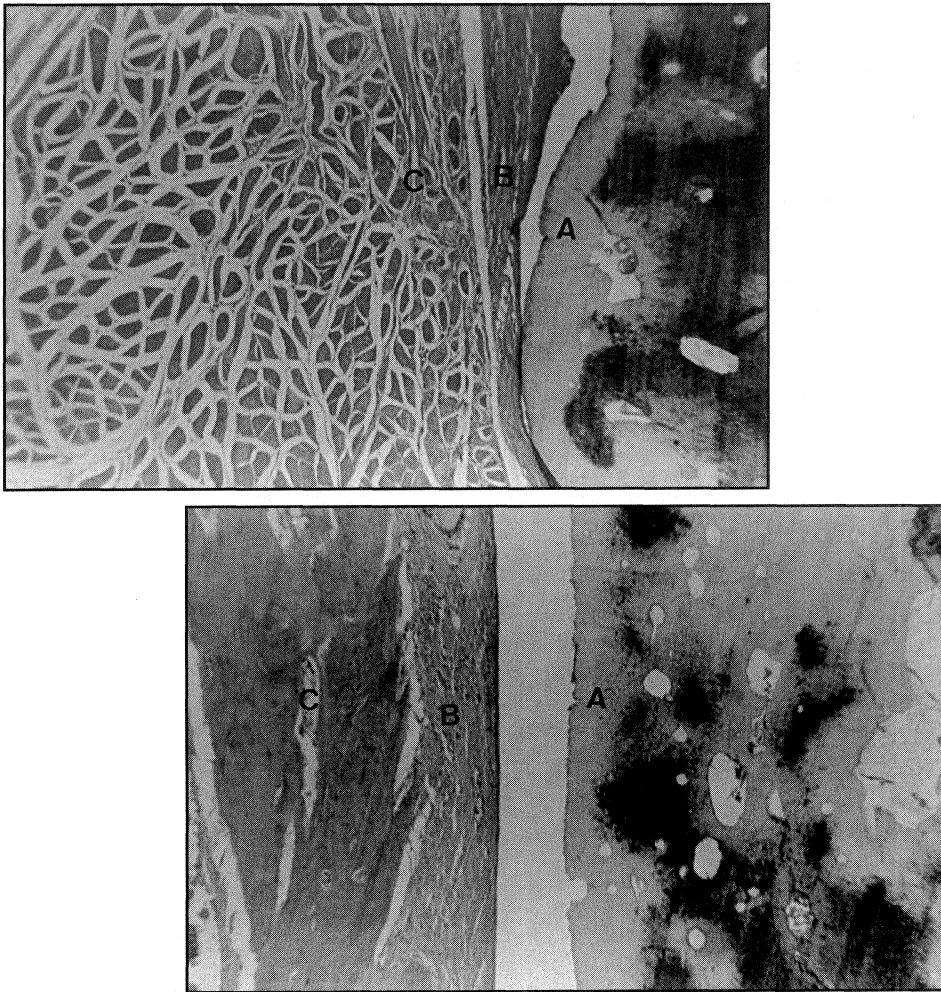


FIG.2 - Grupo experimental - 90 dias. Aumento original 250 x. Coloração HE.
A - área receptora do implante de mamona (A) com a cápsula fibrosa (B) e no tecido muscular (C);
B - área receptora do implante de mamona (A) com cápsula fibrosa e tecido osteóide (B) sobre tecido ósseo lamelar (C)

AGRADECIMENTOS

- Almir Moojen Nácul, Médico, membro da equipe dos experimentos iniciais deste trabalho e viabilizador do polímero poliuretano da mamona.
- Andrea Prestes Nácul, Médica, Faculdade de Medicina - UFRGS
- Biotério do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS
- Serviço de Patologia da Faculdade de Odontologia - UFRGS

SUMMARY

Ricinoleic acid polyurethane polymer behaviour, implanted subperiosteal in rat's mandibular angles was studied. Twenty *Rattus norvegicus* (*Albinus rodentia mammalia*, cepa Wistar) were divided in for groups of five animals each. The polymer polyurethane, added of calcium carbonate, was implanted at mandibular angle of them. One animal from

each group has been submitted to the surgery without placing the implant, serving as a control. The animals were sacrificed after 15, 30, 60 and 90 days after surgery. Histological examination showed the stability of the implant, the almost total absence of inflammatory response, the fibrous capsule formed surrounding the implant, and bone neoformation. According the experimental model, we concluded that the subperiosteal implanted ricinoleic acid polyurethane polymer did not unleash a significant later inflammatory reaction, it has took to the development of a districted fibrous capsule, with evolution for bone neoformation. Signals of rejection, exposition or expel of the implant were not registered.

KEYWORDS

Biomaterials, bone augmentation, ricinoleic acid

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AZEVEDO, P.E.S. *et al.* Uso da Membrana de Polímero de Mamona em Regeneração Óssea Guiada em Defeitos ao Redor de Implantes Osseointegrados. *Rev. Bras. Implantod.*, v.3, n.6, p. 8-12, Nov 1997.
2. CARVALHO, T.L., *et al.* Chronology of Alveolar Healing Following Immediate Implantation of *Ricinus communis* polyurethane resin: hystometric analysis in rats.: *J. Biomed. Mater. Res.*, New York, v.37, n.4, p. 449-52, Dec 1997.
3. COSTA, R. P.; SHALL, C. H.. The use of "Ricinus communis" (mamona) Polymer as a Silicone Substitute: a new material for prosthesis. *Recent Advanc Plast Surg*, p. 14-15, march, 1992.
4. _____, Relatório dos Resultados Preliminares da Aplicação do Polímero Poliuretano Vegetal em Próteses e Órteses. Grupo Hospital Amaral Carvalho, 1993.
5. COSTA, C. A. *et al.* Biocompatibilidade do Polímero Poliuretano 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, n. 1, p. 44-48, 1997.
6. HENNING, E. *et al.* Biostability of Polyurethanes. *Z. Exp. Chir. Transplant Kuntliche. Organe.*, Berlin, v. 22, n. 4, p. 204-220, 1989.
7. KOJIMA, K. *et al.*. Estudo Experimental da Biocompatibilidade do Polímero Poliuretano da Mamona Implantado Intra-Ósseo e Intra-Articular em Coelhos. *Boletim Informativo Ricinus*, v. 1, n. 2, p. 1-4, 1994.
8. MAZER, N. *et al.* Estudo da Esterilidade do Polímero Poliuretano de Mamona e do Potencial Bactericida do Poliol da Mamona. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Instituto de Física e Química de São Carlos - USP, 1995.