

A ação do polímero de mamona durante a neoformação óssea¹

The action of the castor bean polymer during the bone neoformation

Elaine Cristina de Freitas Leone², Hélio Ferraz Porciúncula³, Josias de Andrade Sobrinho⁴, Lizete Toledo de Oliveira Ramalho⁵, Paulo Davison Mangilli⁶, Abrão Rapoport⁷

1.Trabalho realizado no Laboratório de Histologia e Embriologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

2.Doutoranda em Ciências Médicas pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

3.Professor Adjunto do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

4.Professor do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Hospital Heliópolis, São Paulo.

5.Professora Assistente Doutora do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

6.Cirurgião-Dentista, estagiário da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

7.Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Hospital Heliópolis, São Paulo.

RESUMO

OBJETIVO: Devido à importância da cicatrização dos defeitos que venham a acometer os tecidos ósseos, este estudo tem o objetivo de avaliar a ação do polímero de mamona durante a neoformação óssea.

MÉTODOS: Para isto, um grupo de 45 ratos foi utilizado. Realizou-se a criação de um defeito ósseo na região do arco zigomático de todos os animais, sendo que todos estes defeitos foram preenchidos com o polímero de mamona. Decorridos períodos de 15, 30, 60, 90 e 120 dias, os animais foram sacrificados e seguiram-se as tramitações laboratoriais de rotina para análise histológica.

RESULTADOS: Os resultados mostraram que o polímero de mamona auxiliou no processo cicatricial.

CONCLUSÃO: Concluiu-se que o polímero de mamona auxiliou no processo regenerativo do defeito ósseo criado experimentalmente, atuando como um agente osteocondutor.

Descritores: Mamona. Polímeros. Osso e ossos. Materiais biocompatíveis.

ABSTRACT

PURPOSE: Due the importance of the faults healing which may undertake bone tissues, this study has the purpose of evaluate the action of the castor bean polymer during the bone neoformation.

METHODS: For this, a group of 45 rats was used. So, a bone fault was created on the region of the zygomatic arch of all animals, and these faults were filled out with the castor bean polymer. Elapsed periods of 15, 30, 60, 90 and 120 days, the animals were sacrificed and the current laboratorial course for the histological analysis proceeded as usual.

RESULTS: The results showed that the castor bean polymer helped in the healing process.

CONCLUSION: It was concluded that the castor bean polymer aided in the regenerative process of the bone fault that was created experimentally, acting as an osteoconductor agent.

Key Words: Castor bean. Polymers. Boné. Biocompatible materials.

Introdução

O tecido ósseo é freqüentemente acometido por defeitos causados por traumatismos, patologias de origens e comportamentos variados, infecções e deformidades congênitas.

A correção dos defeitos decorrentes de perdas ósseas despertou o interesse de pesquisadores deste assunto, de forma que métodos auxiliares foram propostos com o intuito de melhorar a neoformação óssea. Fazem parte do grupo dos meios auxiliares os dispositivos de osteossíntese, como é o caso das placas, parafusos e fios metálicos, e os materiais de preenchimento, representados pelos enxertos ósseos e biomateriais. É importante ressaltar que os enxertos ósseos são classificados de acordo com a diferença genética existente entre os organismos doadores e receptores, sendo classificados em autógenos (quando compostos por tecido do próprio receptor), homogêneos (obtidos de outro indivíduo da mesma espécie que o receptor) e heterogêneos ou xenogêneos (retirados de seres de uma espécie diferente do receptor)¹.

Devido a problemas relacionados com a obtenção de quantidade ideal de suprimento ósseo e com a morbidade do sítio doador, no caso dos enxertos autógenos, e com a antigenicidade, em relação aos homogêneos e heterogêneos, uma grande variedade de materiais para preenchimento, denominados de aloplásticos ou biomateriais, foram desenvolvidos. Os biomateriais apresentam como propriedades a biocompatibilidade, o fato de não serem tóxicos ou carcinogênicos, possuírem resistência mecânica, elasticidade e estabilidade química e biológica². Assim, o grande desafio no estudo dos biomateriais é encontrar um material que tenha um alto grau de semelhança com o tecido vivo, de modo que o organismo possa reconhecê-lo como parte de sua estrutura e não como um agressor ao seu meio.

Desta forma, a partir de 1984, o Grupo de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros da Universidade de São Paulo, campus de São Carlos, passou a desenvolver um polímero a base de moléculas vegetais extraídas da mamona, com estrutura molecular semelhante a dos organismos vivos².

A formação de um polímero se dá através da reação química entre um pré-polímero e um polioliol. A mamona possui um grande potencial oleoquímico, que garante o fornecimento de polióis e pré-polímeros a partir da produção de ácidos graxos em larga escala². Além disto, o óleo de mamona, também conhecido como óleo de rícino, pode ser considerado como um polioliol natural por conter 03 radicais hidroxilas passíveis de serem usados na síntese de polímeros².

O polímero derivado do óleo de mamona possui uma fórmula molecular que tem mostrado compatibilidade com os tecidos vivos, apresentando aspectos favoráveis de processabilidade, flexibilidade de formulação, versatilidade de temperatura de curva e controle de pico exotérmico na transição líquido-gel. Possui também excelentes propriedades estruturais, além de não liberar vapores e radicais tóxicos quando implantados e ser de baixo custo².

A literatura apresenta trabalhos em que o polímero de mamona foi implantado em defeitos ósseos, de modo que bons relatos sobre o seu comportamento clínico e biológico têm sido encontrados^{3,4}.

Devido ao crescente interesse pela utilização dos biomateriais para o preenchimento de defeitos ósseos, este estudo tem como objetivo avaliar a ação do polímero de mamona durante a neoformação óssea.

Métodos

Para a realização deste estudo, utilizou-se de um grupo composto por 45 ratos adultos machos (*Rattus norvegicus*), que foram submetidos à ressecção de um segmento ósseo do arco zigomático direito para avaliação do polímero de mamona empregado para a reconstrução do mesmo.

Para realização do procedimento cirúrgico, os animais foram submetidos à anestesia geral, através de aplicação intramuscular de solução anestésica derivada da quetamina, na dosagem de 0,08 mililitros para cada 100 gramas de peso corporal. A seguir, foi feita ampla tricotomia e anti-sepsia da área localizada abaixo da cavidade ocular do lado direito.

O acesso ao arco zigomático foi realizado através de uma incisão inicial de cerca de 1 centímetro na região localizada abaixo do globo ocular, seguido de divulsão do tecido subcutâneo. Um segmento ósseo de 2 milímetros foi então seccionado do arco zigomático direito dos animais, dividindo esta estrutura anatômica em duas porções: uma voltada para o osso maxilar e a outra voltada para o osso temporal.

Para o preenchimento do defeito ósseo, empregou-se do polímero de mamona em forma de blocos pré-polimerizados, que permitiram a escultura do mesmo a semelhança do fragmento ósseo removido. Para a fixação deste bloco aos cotos ósseos remanescentes, no sentido de evitar o seu deslocamento, foi utilizado um material resinoso, também derivado do óleo de mamona. Este material era obtido através da mistura entre 3,5 mililitros de poliol, 5 mililitros de pré-polímero (ambos líquidos derivados do óleo de mamona) e 5 gramas de carbonato de cálcio em pó. Decorrido um período médio de 6 minutos, a mistura apresentava-se na fase adesiva, sendo então levada por uma cureta às interfaces entre o minibloco e os cotos ósseos remanescentes, unindo-os.

Por fim, realizou-se sutura dos planos interno e externo, com fio monofilamentado reabsorvível.

Os animais foram sacrificados após períodos de 15, 30, 60, 90 e 120 dias da cirurgia inicial, sendo que em cada um destes períodos de tempo sacrificou-se 09 animais.

O sacrifício dos animais foi realizado através de injeção intraperitoneal de uma sobredose da substância anestésica hidrato de cloral. Devido a fragilidade estrutural do arco zigomático, optou-se pela remoção das hemi-maxilas do lado direito, que foram colocadas para fixação em solução de formol tamponado de Lillie a 10%, pH 7,4, por 48 horas. Em seguida, foram lavadas por 24 horas em água corrente e desmineralizadas em solução de Morse, por um período de 30 dias.

As peças foram lavadas em água corrente por 24 horas, neutralizadas em solução de sulfato de sódio por 24 horas, lavadas novamente em água corrente por mais 24 horas, reduzidas e colocadas em álcool 70%.

Estas peças passaram por tramitação laboratorial de rotina, sendo desidratadas em álcoois de concentração crescente (álcool 80%, álcool 90% e álcool absoluto), diafanizadas em xilol e incluídas em parafina para a realização dos cortes em micrótomo rotatório.

Realizou-se então cortes seriados longitudinais com espessura de 6 μ m, os quais foram corados pelo método da Hematoxilina e Eosina, que permite uma visão geral da morfologia celular.

A avaliação histológica dos eventos ocorridos foi feita de forma descritiva, utilizando-se de um método semi-quantitativo baseado no conhecimento dos aspectos relacionados à normalidade. Foi utilizado para esta análise um microscópio óptico de luz.

Para a determinação da eficácia do polímero de mamona durante a neoformação tecidual, alguns parâmetros foram verificados. Estes basearam-se na presença de células características do processo inflamatório, na formação de cápsula fibrosa ao redor do material implantado, no

tipo de tecido neoformado na região e na persistência do material implantado em meio ao leito receptor durante os períodos observados. Assim:

1) A inflamação foi classificada, de acordo, com sua intensidade em:

- ausente (+), quando na ausência de células inflamatórias;
- moderada (++) , devido a existência de algumas células inflamatórias dispersas em meio a área de estudo;
- severa (+++), devido a existência de grupamentos compostos por várias células inflamatórias junto ao material de estudo.

2) A formação de tecido conjuntivo fibroso composto exclusivamente por fibras colágenas ao redor do material implantado também foi avaliada. Este tecido é conhecido como cápsula fibrosa e visa isolar os corpos estranhos dos tecidos vivos. A verificação da cápsula fibrosa foi considerada como:

- ausente (+), quando o polímero de mamona estava em contato com tecido ósseo ou tecido conjuntivo denso, composto por fibras e células;
- presente em algumas regiões (++) , quando a cápsula fibrosa era encontrada em menos da metade do perímetro referente à interface entre o polímero e o leito receptor;
- presente ao redor de todo o polímero (+++), isolando-os o assim do leito ósseo receptor.

3) Como o polímero de mamona foi empregado como um método auxiliar a neoformação óssea em meio aos defeitos criados experimentalmente, a avaliação da formação óssea nesta região é de suma importância. Assim, a neoformação óssea foi classificada como:

- ausente (+), quando não foi encontrado nenhum sinal de formação de tecido ósseo na área estudada;
- incompleta (++) , quando verificou – se na região a formação de um tecido ósseo imaturo, rico em osteócitos;
- completa (+++), quando da formação de um tecido ósseo estruturado, do tipo lamelar, na região.

4) A avaliação da quantidade do polímero encontrada no leito receptor foi feita visando assim determinar a existência ou não de uma progressiva substituição do polímero por tecido vivo. A persistência do polímero em meio ao leito cirúrgico baseou-se na quantidade do mesmo encontrada durante a avaliação, podendo ser classificada como:

- ausência do polímero (+), sendo o mesmo totalmente substituído por tecido ósseo;
- persistência parcial (++) , sendo encontrados apenas alguns fragmentos do polímero em meio ao tecido ósseo neoformado;
- persistência total (+++), devido à ausência de substituição do polímero por tecido vivo.

Resultados

Nos grupos avaliados aos 15 e 30 dias pós-cirurgia, observou-se a presença de tecido conjuntivo denso ao redor do polímero, sem associação com células inflamatórias. Este tecido conjuntivo, que promovia a continuidade com o tecido ósseo do leito receptor e que preenchia vários poros do polímero, constituía-se por fibras colágenas neoformadas, fibroblastos, capilares sanguíneos e alguns macrófagos (Figura 1).

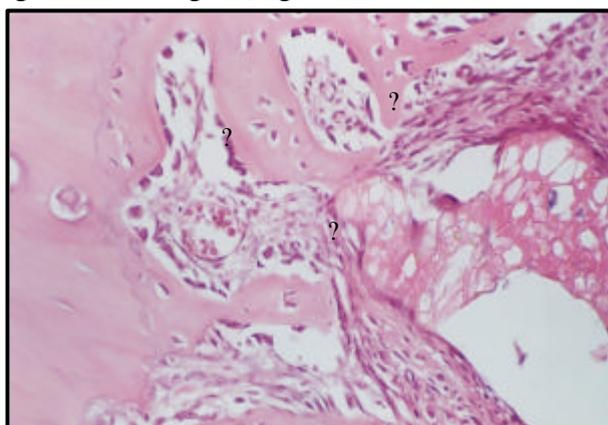


FIGURA 1 - Tecido conjuntivo (?) ao redor do polímero de mamona (?), promovendo a continuidade com o tecido ósseo do leito receptor (?). H.E. 560x

Aos 60 dias, a quantidade do polímero encontrava-se reduzida, devido a substituição do mesmo por tecido ósseo neoformado do tipo primário (Figura 2). Os poros do polímero remanescente encontravam-se ainda preenchidos por tecido conjuntivo denso, com alguns macrófagos.

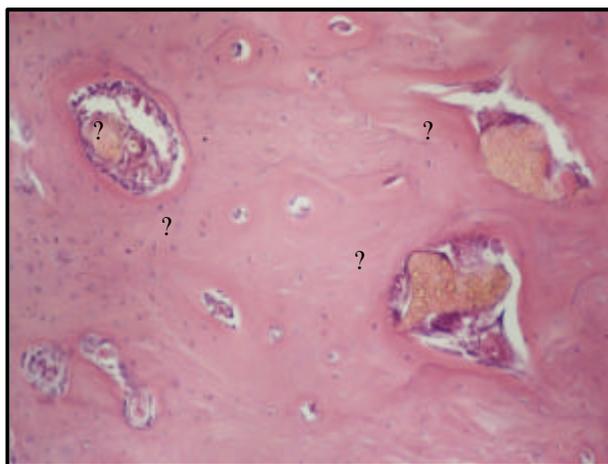


FIGURA 2 - Tecido ósseo imaturo (?) rodeando fragmentos do polímero (?). HE 350x

Aos 90 dias, uma considerável parte do polímero havia sido substituída por tecido ósseo, permanecendo ainda fragmentos do polímero totalmente rodeados por osso neoformado. Este tecido ósseo neoformado apresentava-se rico em osteócitos, e em algumas regiões era delimitado por tecido conjuntivo denso (Figura 3).

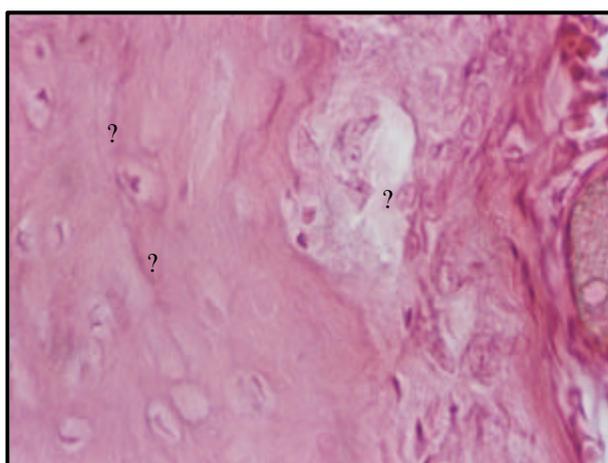


FIGURA 3 - Tecido ósseo neoformado (?) rico em osteócitos (?) e delimitado por tecido conjuntivo denso(?). HE 700x

No grupo de 120 dias, os resultados foram semelhantes para os descritos para o grupo anterior. Alguns fragmentos do polímero podiam ser ainda vistos, em contato direto com o tecido ósseo neoformado, que era do tipo lamelar estruturado (Figura 4).

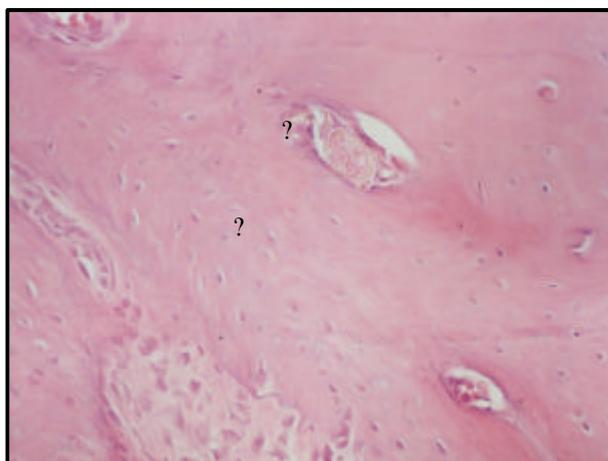


FIGURA 4 - Tecido ósseo maduro (?) rodeando um pequeno fragmento do polímero de mamona (?). HE 450x

Os resultados obtidos com a utilização do polímero de mamona para o preenchimento dos defeitos ósseos, com base nos parâmetros histológicos analisados encontram-se resumidos na Tabela 1.

TABELA 1 - Avaliação dos parâmetros histológicos utilizados para a determinação da eficácia do polímero de mamona na neoformação óssea.

	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
Inflamação	+	+	+	+	+
Cápsula	+	+	+	+	+
Neoformação óssea	+	+	++	++	+++
Persistência do polímero	+++	+++	++	++	++

Discussão

O polímero de mamona utilizado neste estudo mostrou-se como um material de preenchimento adequado, uma vez que foi substituído por osso neoformado na medida em que foi sendo reabsorvido. Esta substituição e conseqüente neoformação óssea foi mais evidente no período de análise de 120 dias.

No presente estudo, não foi observado em nenhum dos períodos a presença de células inflamatórias. Os macrófagos, no entanto, foram encontrados em todos os períodos analisados juntamente com fragmentos do polímero de mamona, sendo estas células úteis na degradação do material implantado e relacionadas com a fibroplasia e neoangiogênese. Isto ocorre porque

os macrófagos são capazes de liberar substâncias que fazem com que células mesenquimais se acumulem e proliferem no local do defeito.

Além disto, o tecido conjuntivo denso encontrado ao redor do polímero de mamona nos períodos iniciais de observação não deve ser confundido com aquele tecido fibroso responsável por isolar corpos não biocompatíveis. A principal diferença entre estes dois tecidos reside em suas morfologias, sendo que a cápsula fibrosa é constituída exclusivamente por fibras colágenas, enquanto que o tecido conjuntivo denso, semelhante ao encontrado neste estudo, possui em sua composição tanto fibras colágenas como uma grande população celular, que posteriormente poderão se diferenciar em células osteoprogenitoras.

A resposta do tecido ósseo aos materiais implantados permite classificá-los como biotolerantes, bioinertes ou bioativos. Os biotolerantes são aqueles que apresentam na sua interface uma camada de tecido fibroso; já os bioinertes são os materiais que promovem um contato direto com o tecido ósseo, enquanto que os bioativos são aqueles que estimulam o crescimento ósseo⁵.

A neoformação óssea obtida após o implante do polímero de mamona ocorreu através da deposição inicial de uma matriz osteoide não mineralizada, que posteriormente originou um tecido ósseo lamelar.

No entanto, não é possível afirmar que o processo de ossificação obtido neste estudo teve sua origem devido a estimulação direta do polímero que foi utilizado para o preenchimento dos defeitos criados cirurgicamente. Desta forma, este biomaterial pode ser considerado como bioinerte, uma vez que permaneceu em meio ao defeito, evitando o preenchimento do mesmo por tecido fibroso, sendo lentamente substituído por tecido ósseo.

Três diferentes mecanismos biológicos podem levar ao processo de neoformação óssea, sendo que cada um deles apresenta características específicas. Entre estes, encontram-se a osteogênese, a osteoindução e a osteocondução⁶. Um quarto mecanismo, denominado de osteopromoção, também pode ser citado, sendo que este envolve o uso de barreiras mecânicas de proteção, que evitam o crescimento de tecido conjuntivo denso em meio ao defeito ósseo, permitindo que o mesmo seja repovoado exclusivamente por células osteoprogenitoras⁷.

A osteogênese implica no transporte de células ósseas vivas junto com o material de preenchimento, estando relacionada aos enxertos ósseos autógenos. É essencial que determinadas condições sejam observadas para a manutenção da viabilidade das células osteoprogenitoras durante o período da remoção do enxerto do leito doador e sua inserção no leito receptor. Entre estas, pode-se citar a necessidade de preservação dos enxertos em solução salina normal ou de dextrose em água à 5%, a manutenção da temperatura ambiente inferior a 42°C e os riscos que determinados antibióticos e agentes esterilizantes trazem as células ósseas^{8,9}.

Já a osteoindução ocorre graças a capacidade que alguns materiais têm de induzir a diferenciação de células mesenquimais pluripotentes em células osteoprogenitoras^{1,10}. A ocorrência da osteoindução é relacionada principalmente ao uso dos enxertos ósseos homogêneos secos e congelados, sendo que, neste caso, a capacidade indutora deve-se a presença de proteínas existentes na matriz orgânica óssea¹¹.

Alguns biomateriais, como a hidroxiapatita e certos polímeros, promovem a neoformação óssea através do processo da osteocondução. Este caracteriza-se pela capacidade de conduzir ou direcionar a neoformação óssea sobre e entre a estrutura do material de preenchimento. Desta forma, as superfícies das partículas dos biomateriais servem como uma matriz sobre a qual a reparação óssea ocorre, sendo este fenômeno provavelmente favorecido pela penetração de capilares sanguíneos através dos poros do biomaterial^{12,13}.

De acordo com o foi observado, o polímero de mamona apresentou-se como um osteocondutor por permitir o crescimento de tecido ósseo sobre a sua superfície externa e em meio a seus poros. Esta capacidade de osteocondução foi observada precocemente, nas peças

cirúrgicas removidas dos animais sacrificados após períodos de 15 dias, onde verificou-se que os poros do polímero encontravam-se preenchidos por tecido conjuntivo rico em células e capilares sanguíneos neoformados, o que foi fundamental para a posterior deposição de tecido ósseo maduro.

O crescimento de tecido ósseo orientado sobre o polímero de mamona, que comprovou a propriedade da osteocondução deste material, também foi descrito em outros trabalhos^{3, 14}, demonstrando que este biomaterial pode ser utilizado para o preenchimento de defeitos ósseos.

Conclusões

O polímero de mamona mostrou-se como um material auxiliar ao processo regenerativo dos defeitos ósseos criados experimentalmente no arco zigomático de ratos, levando a formação de tecido ósseo maduro. A neoformação óssea ocorrida deveu-se principalmente ao fenômeno biológico da osteocondução, uma vez que o polímero de mamona permitiu o crescimento tecidual em meio a seus poros e sobre sua superfície externa desde os períodos iniciais de observação.

Referências

1. Lance EM. Some observations on bone graft technology. *Clin Orthop* 1985; 200: 114-24.
2. Universidade de São Paulo – Departamento de Química e Física Molecular do Instituto de Química de São Carlos. Pesquisa e desenvolvimento de biomateriais baseados em poliuretanas derivadas de óleo de mamona. Projeto PADCT. Edital SNM 02/94-04. Jul. 1994.
3. Ignácio H, Mazzer N, Barbieri CH, Chierici G. Uso da poliuretana derivada do óleo de mamona para preencher defeitos ósseos diafisários segmentares do rádio: estudo experimental em coelhos. *Rev Bras Ortop* 1997; 32(10):815-21.
4. Ohara GH, Kojima KE, Rossi JC, Telles M, Soares TVC, Salomão C. Estudo experimental da biocompatibilidade do polímero poliuretano da mamona implantada intra - óssea e intra - articular em coelhos. *Acta Ortop Bras* 1995; 3(2):62-8.
5. Garcia Jr IR. Avaliação experimental de três diferentes tipos de implantes: polímero de mamona, polietileno poroso de alta densidade e matriz óssea bovina, no preenchimento de defeitos ósseos maxilares: estudo histológico e histométrico em macacos [Tese – Doutorado]. Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2000.
6. Levin LM, Barber D, Betts NJ, Macafee II KA, Feinberg SE, Fonseca RJ. Bone induction and the biology of grafting. In: Fonseca RJ, Davis WH. *Reconstructive preprosthetic oral and maxillofacial surgery*. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1995. p.41-72.
7. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg* 1988; 81(5):672-6.
8. Bassett CA. Clinical implications of cell function in bone grafting. *Clin Orthop Rel Res* 1972; 87:49-59.
9. Marx RE, Snyder RM, Kline SN. Cellular survival of human marrow during placement of marrow – cancellous bone grafts. *J Oral Surg* 1979; 37(10):712-8.
10. Lance EM. Some observations on bone graft technology. *Clin Orthop* 1985; 200: 114-24.
11. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965; 150(698):893-9.
12. Ellis III E, Sinn DP. Use of homologous bone in maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51(11):1181-93.
13. Bonucci E, Marini E, Valdinucci F, Fortunato G. Osteogenic response to hydroxyapatite: fibrin implants in maxillofacial bone defects. *Eur J Oral Sci* 1997;105(6): 557-61.
14. Nelson JF, Stanford HG, Cutright DE. Evaluation and comparisons of biodegradable substances as osteogenic agents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977; 43(6):836-43.

Correspondência:

Elaine Cristina de Freitas Leonel

Av. Altino Corrêa de Almeida Moraes, 64

14801-080 Araraquara – SP

Tel: (16) 236-8333

elaineleonel@hotmail.com

Recebimento: 14/04/2004

Revisão: 05/05/2004

Aprovação: 22/05/2004

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: nenhuma

Como citar este artigo:

Freitas Leonel EC, Andrade Sobrinho J, Oliveira Ramalho LT, Porciúna HF, Mangilli, Rapoport. A ação do polímero de mamona durante a neoformação óssea. Acta Cir Bras [serial online] 2004 Jul-Ag;19(4). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb> [também em CD-ROM].
