

UNIVERSIDADE DE UBERABA

**ESTUDO “IN VIVO” COMPARATIVO ENTRE O BIOPOLÍMERO DA
MAMONA E O OSSO AUTÓGENO NO REPARO ÓSSEO EM TÍBIAS DE
COELHOS**

UBERABA - MG
2012

JOSLEIDANY BORGES DA SILVA

**ESTUDO “IN VIVO” COMPARATIVO ENTRE O BIOPOLÍMERO DA
MAMONA E O OSSO AUTÓGENO NO REPARO ÓSSEO EM TÍBIAS
DE COELHOS**

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Odontologia da
Universidade de Uberaba – UNIUBE,
como requisito para a obtenção do título
de mestre em Odontologia, área de
concentração em biopatologia.

Orientadora: Dra. Maria Angélica Hueb de
M. de Oliveira

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Angélica Hueb de Menezes de Oliveira

Prof. Dr

Prof. Dr. Thiago Assunção Valentino

EPÍGRAFE

“Dê seu primeiro passo com fé, não é necessário que veja todo o caminho, apenas dê seu primeiro passo.”
(MARTIN LUTHER KING)

DEDICATÓRIA

Dedico a meu pai (*in memoriam*), o grande exemplo de luta por nossas realizações e pelo caráter que procuro seguir. À minha mãe, grande incentivadora de todas minhas conquistas pelo conhecimento. À minha irmã e meu cunhado, exemplos profissionais, uma fonte inesgotável de apoio e compreensão.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, saúde, proteção e paz.

À Universidade de Uberaba na pessoa do Magnífico reitor *Dr. Marcelo Palmério*.

Ao Pró - Reitor de pós graduação e extensão Professor Dr. José Bento Alves

À Professora *Dra. Maria Angélica Hueb* pela orientação segura, dedicação e amizade e presteza.

Ao Professor *Dr. Renato Linhares Sampaio*, Professor do curso de Veterinária da Universidade de Uberaba.

Ao Professor *Dr. Claudio Yudi Kanayama*, Professor do curso de Veterinária da Universidade de Uberaba.

Ao Professor *Prof. Dr. Thiago Assunção Valentino*, Professor do curso de Odontologia da Universidade de Uberaba.

Às alunas de iniciação científica Patrícia e Julian.

Aos amigos, *Richard dos Santos, Rafael Marra, Eleandro Novelli, Jeová Filho e Valéria Bisinoto*.

Aos colegas de mestrado, pelo companheirismo, amizade e energia.

A todos que, mesmo no anonimato, contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

O presente trabalho avaliou “in vivo” a morfologia a radiodensidade a biocompatibilidade e osteointegração do biopolímero (Poliquil®, Brasil) derivado do óleo de mamona (*Ricinus communis*) utilizado como substituto ósseo no preenchimento de defeito ósseo, provocado em tíbia de coelhos. Foi realizado um estudo experimental utilizando-se 16 coelhos, sexo masculino, albinos, da raça Nova Zelândia, clinicamente saudáveis, que foram separados em quatro grupos de quatro animais (n=4). Os animais foram submetidos a uma análise pareada, sendo utilizados simultaneamente como controle e experimental. Retirou-se um fragmento ósseo na tíbia com cerca de 3 mm de diâmetro através da técnica da trefinagem e o defeito ósseo provocado foi preenchido com a poliuretana derivada do óleo de mamona na pata direita, na pata esquerda foi provocado o mesmo defeito ósseo padrão, e posteriormente foi preenchido com o enxerto autógeno retirado do lado direito do animal. Para análises pertinentes, os animais foram eutanasiados aos 15, 30, 45 e 60 dias após a implantação dos enxertos. Aos 60 dias, o reparo ósseo autógeno apresentou radiograficamente mais trabeculado ósseo e radiolucidez que o lado experimental. O exame radiográfico sugere que o biopolímero da mamona possa ser uma alternativa viável no reparo de defeitos ósseos.

Palavras Chave: biopolímero de mamona, tíbia, enxerto ósseo, reparo ósseo.

ABSTRACT

The present study was to evaluate morphological as radiographic osseointegration and biocompatibility of the polymer derived from castor oil (*Ricinus communis*) used as a substitute in filling bone defects, induced in the tibia of rabbits. We conducted an experimental study using 16 rabbits, clinically healthy, were separated into four groups of four animals. All animals were used as control and experimental. A bone fragment was retired in the shin-bone with about 3 mm in diameter and bone loss caused was filed with polyurethane derived from castor oil in the right paw, left paw in the defect was filled with autogenous graft taken from the right side of the animal. For relevant analyzes, animals were euthanized at 15, 30, 45, 60 days after sugery. At 60 days, repair autogenous bone showed trabecular bone and radiographically more radiolucent than the experimental side. Radiographic examination suggests that the biopolymer castor bean can be a viable alternative in the repair of bone defects.

Keywords: Polymer Castor, shin-bone, Graft, Bone Rapair.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Confeção de defeito óssea padronizada	16
Figura 2 – Preenchimento da defeito com enxerto autógeno	17
Figura 3 – Manipulação de Sangue medular com o cimento de poliuretana	17
Figura 4 – Preenchimento da cavidade com o biopolímero	17
Figura 5 – Sutura do tecido subcutâneo.....	17
Figura 6 – Síntese com fio de nylon 4.0	17
Figura 7- Presença de tecido conjuntivo fibroso.....	19
Figura 8 – Raio x, Grupo I (Osso autógeno)	20
Figura 9 – Raio x, Grupo II (Osso Autógeno)	20
Figura 10 – Raio x, Grupo III (Osso Autógeno)	21
Figura 11 – Raio x, Grupo IV (Osso Autógeno).....	21
Figura 12 – Raio x, Grupo I (Biopolímero).....	22
Figura 13 – Raio x, Grupo II (Biopolímero).....	22
Figura 14 – Raio x, Grupo III (Biopolímero).....	23
Figura 15 – Raio x, Grupo IV (Biopolímero)	23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVO	14
3 MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 - Delineamento experimental	15
3.2 - Pré – cirúrgico	15
3.3 - Pós – cirúrgico	18
3.4 - Avaliação Radiográfica	19
4 - RESULTADOS	19
4.1 - Análises Macroscópicas	19
4.2 - Análises Radiológicas.....	20
4.2.1 – Grupo I (15 dias)	20
4.2.2 – Grupo II (30 dias)	21
4.2.3 – Grupo III (45 dias)	21
4.2.4 – Grupo IV (60 dias).....	23
5 - DISCUSSÃO	24
6 - CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

Os ossos são revestidos, em suas superfícies externas e internas, por membranas conjuntivas ricamente vascularizadas, apresentando células osteoprogenitoras, denominadas periósteo e endósteo, respectivamente. Os vasos sanguíneos do endósteo e do periósteo ramificam-se e penetram nos ossos através de canais encontrados na matriz óssea. As principais funções do periósteo e do endósteo são a nutrição e a osteogênese, necessárias para o crescimento e a reparação dos ossos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O tecido mineralizado que constitui o tecido ósseo, exibe além de suas propriedades mecânicas, grande capacidade de regeneração. Sendo assim, as fraturas ou defeitos ósseos regeneram com organização estrutural semelhante ao tecido original (HERCULANI et al., 2000).

Pode haver defeitos no tecido ósseo, 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, e métodos auxiliares foram propostos com o intuito de induzir a neoformação óssea. Porém, a capacidade de regeneração óssea é, porém limitada pelo tamanho da lesão, portanto os defeitos ósseos de maior proporção, provocados por traumas, tumores, infecções e anomalias de desenvolvimento, perda dental não se regeneram espontaneamente, representando problema para comunidade cirúrgica e ortopédica (BUSER, DAHLIN, SCHENK, 1996).

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) e aloplásticos (materiais sintéticos ou compostos biomateriais). O Termo enxerto é reservado para o transplante de tecido vivo, como sucesso dependendo sobrevivência das células transplantadas, já o implante é aplicado ao transplante de tecido não vivo (PETERSON, ELLIS, HUPP, TUCKER, 2000).

O osso autógeno recém-extraído é o material de enxerto ósseo ideal, colocando-se acima dos outros materiais por ser o único tipo de enxerto a fornecer

células imunocompatíveis vivas, essenciais à fase I da osteogênese, ou seja, quanto mais células vivas transplantadas, mais tecido ósseo será formado. Quando o enxerto é removido da área doadora, o suprimento sanguíneo é interrompido, assim, as células do transplante ósseo dependerão para a sua sobrevivência da difusão de nutrientes das margens do leito receptor. Uma considerável quantidade de morte celular ocorre durante o procedimento do enxerto, e mesmo assim, as células que sobreviverem serão responsáveis pela maior parte do osso formado. Além de ser o único que envolve os três mecanismos de formação óssea: osteocondução, osteoindução e osteogênese (PETERSON, ELLIS, HUPP, TUCKER, 2000).

O mesmo estudo citado imediatamente acima diz que o enxerto ósseo autógeno embora apresente características mais favoráveis para a formação de novo tecido ósseo, apresenta alguns inconvenientes, como o tamanho da área doadora limitada, risco de infecção na área doadora, intensa reabsorção, incorporação do material durante o processo de cicatrização e principalmente o aumento da morbidade, visto a necessidade de um segundo loco cirúrgico, aumentando assim o tempo cirúrgico e os custos do procedimento.

Os enxertos autógenos podem ser de osso cortical, medular ou misto. Apesar de serem semelhantes, o enxerto ósseo autógeno cortical é mais lentamente revascularizado, porém apresenta uma maior concentração de proteínas morfogenéticas, mostrando uma melhor capacidade indutora. Devido a esses aspectos, quando a indicação do enxerto for a utilização em bloco, deve-se optar por um bloco cortico-medular, pois a porção cortical, colocada par ao lado bucal, permite o restabelecimento da cortical bucal perdida, oferecendo uma boa estabilidade mecânica e menos susceptibilidade a reabsorção, e a porção medular, colocada diretamente em contato com o osso hospedeiro, será principalmente revascularizada e remodelada (BECKER, et al., 1994)

O enxerto homólogo, embora esteja prontamente disponível (banco de ossos) e elimine o problema da dor na região doadora, apresenta como aspecto desfavorável a antigenicidade, com reação tipo antígeno-anticorpo (PETERSON, ELLIS, HUPP, TUCKER, 2000).

Os enxertos com osso descalcificado podem constituir uma opção, sendo a primeira publicação de seu emprego, e relatados bons resultados com sua utilização, por Deaver, segundo SENN (1889 apud Nade & Burwell, 1977). Entretanto, a matriz óssea descalcificada de outros mamíferos, como o enxerto de

osso bovino, além do risco de contaminação por zoonoses (doenças priônicas – doença da vaca louca) envolve um processo de preparo e armazenamento que altera suas características. Os resultados não são satisfatórios quando comparados aos enxertos autógenos (LUPI, 2003).

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. Assim, o grande desafio no estudo dos biomateriais é encontrar um material que tenha um alto grau de semelhança com o tecido vivo, para que o organismo possa reconhecê-lo como parte de sua estrutura e não como um agressor ao seu meio.

Segundo a Agência Nacional de Saúde (ANVISA, 2005), os biomateriais são materiais sintéticos ou naturais utilizados para melhorar, aumentar ou substituir, parcial ou integralmente, tecidos e órgãos. Constituem também uma opção para o preenchimento de defeitos ósseos. Esses materiais são parcialmente inertes e alguns deles têm taxas variáveis de reabsorção (SAILER, PAJOROLA, 2000).

As propriedades de um material ideal para enxerto ósseo são: ser quimicamente inerte, biocompatível, não alérgico, não cancerígeno, de custo aceitável, passível de esterilização sem que haja alteração de sua composição química, fácil manipulação, fácil conformação durante a realização da cirurgia, boa estabilidade, apresentar radiopacidade, não ser uma fonte passível de crescimento bacteriano. Finalmente, o material deve ser totalmente reabsorvível e substituível por novo tecido ósseo em quantidade e qualidade semelhante ao do hospedeiro (POTTER, ELLIS, 2004)

O óleo de mamona também é conhecido como óleo de rícino, única espécie entre os produtos naturais por apresentar 18 átomos de carbono hidroxilado. No produto final da polimerização, não existem sítios ativos livres para futura interação no corpo humano, mas sim uma quantidade previamente balanceada e calculada de cadeias uretanas que atraem o cálcio orgânico e substituem o cálcio inorgânico, no processo de interação óssea (IGNÁCIO, 1995). Sendo a síntese da poliuretana a partir da matéria prima vegetal leva a formação de um composto com baixo índice de resíduos e diferentes estruturas físicas dando margem a variações na resistência, densidade, consistência e porosidade que permitem variações na osteocondução

(CHIERICE 1994). Os primeiros implantes de polímero de mamona levaram a resultados insatisfatórios, que podem ter sido originados por falhas técnicas no processo de síntese do material ou pelas características da superfície do implante.

Desta forma, é de suma importância pesquisar, comparativamente, a biocompatibilidade e a integração entre o biopolímero da mamona no preenchimento do defeito ósseo padronizado confeccionado pela trefinagem óssea com um tipo específico de preparo, onde o biomaterial foi manipulado com sangue extraído da medular óssea, e o enxerto autógeno tido como ideal (JACQUES, 2001). Devido à notoriedade, e ao crescente interesse pela utilização dos biomateriais como alternativa para o preenchimento de defeitos ósseos, este estudo teve, como objetivo avaliar a ação do polímero de mamona no preenchimento de falhas ósseas.

2 OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo a análise comparativa “in vivo” morfológica e radiográfica do enxerto de biopolímero de mamona e enxerto de osso autógeno em defeito ósseo padrão confeccionado na tíbia em coelhos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto iniciou-se após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Uberaba sob o protocolo de nº 0017/2010.

3.1 - Delineamento experimental

Os fatores em estudo foram a biocompatibilidade, por aspecto macroscópico e o reparo das falhas ósseas das tíbias das patas posteriores de coelho, por meio de análise radiográfica para comparação dos dois tipos de enxerto utilizados, enxerto autógeno e biopolímero.

Dezesseis coelhos da linhagem Nova Zelândia, albinos, machos, de três a seis meses de idade, peso entre 2.200 e 3.000g, foram distribuídos em grupos que seriam determinados pelo período para a realização da eutanásia. Sendo, grupo I (15 dias), grupo II (30 dias), grupo III (45 dias) e grupo IV (60 dias).

Nos grupos I, II, III, e IV foi realizado um procedimento para retirada de osso das patas direitas e esquerdas, o osso retirado da pata direita foi enxertado na pata esquerda, determinando o lado controle utilizando o enxerto autógeno. Na pata direita foi implantado o cimento de polímero da mamona.

3.2 - Pré – cirúrgico

Os procedimentos pré anestésicos e de anestesia foram baseados em preceitos recomendados pela Medicina Veterinária da UNIUBE, assim como a escolha das drogas e doses utilizadas. O projeto de pesquisa e os procedimentos operatórios foram realizados de forma semelhante, com esmero de técnica operatória e cuidados durante os pós-operatórios imediato e mediato, contribuindo assim para a evolução dos animais sem intercorrências ou acidentes.

Os coelhos receberam anestesia dissociativa de Cloridrato de Xilazina-IM-6mg/Kg e Cloridrato de Cetamina-IM-40mg/Kg e no local da cirurgia foi realizada a tricotomia e a assepsia, para colocação do campo cirúrgico. Foi feita a dissecação dos tecidos com o uso de um bisturi e lâmina de Bisturi N. 10 (Free Bac®, Brasil),

afastamento do periósteo para exposição do osso, onde a falha óssea foi criada cirurgicamente em ambas as tíbias por meio do uso de uma fresa para implante tipo Trefina (Neodent®, Brasil) de 3,3 mm de diâmetro, para padronização do diâmetro, sob refrigeração com soro fisiológico estéril, com o uso de micro-motor em baixa- rotação, com 800 rpm.

Os procedimentos operatórios seguiram método padronizado para a confecção de um defeito ósseo de 3,3mm na região ântero-posterior na tíbia de coelhos. A retirada de um cilindro ósseo deixou uma cavidade que foi preenchida posteriormente por osso autógeno (Figura 1) ou pelo cimento de biopolímero (Poliquil®, Araraquara Polímeros Químicos Ltda. Anvisa 2005), alternadamente em ambos os lados, em cada grupo de observação.



Figura 1- Confecção do defeito ósseo padronizada.
Fonte: Próprio Autor, 2011.

O defeito padrão realizado no lado esquerdo, recebeu o cilindro ósseo autógeno de 3 mm de diâmetro, retirado do lado direito (lado controle) (Figura 2) e o do defeito ósseo do lado esquerdo foi preenchido com quantidade suficiente para o preenchimento com cimento de poliuretana de mamona manipulado com o sangue medular do coelho (Figuras 3 e 4).

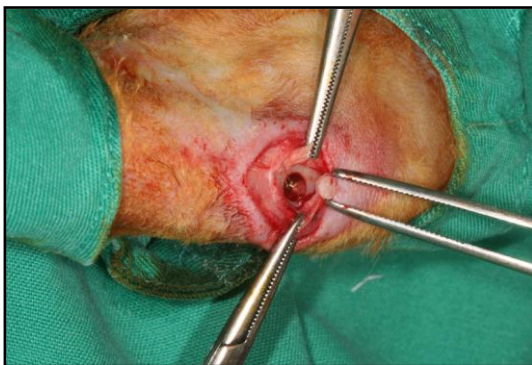


Figura 2 - Preenchimento do defeito com enxerto autógeno.
Fonte: Próprio Autor, 2011.

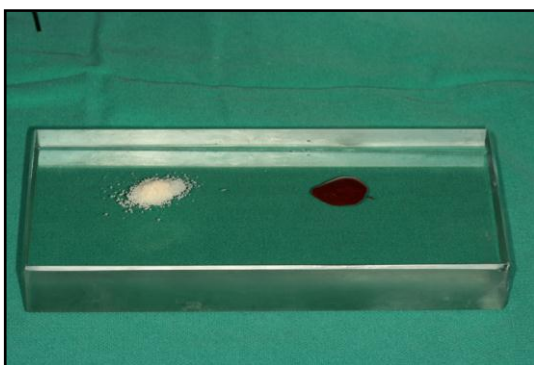


Figura 3 - Manipulação de Sangue medular com o cimento de poliuretana
Fonte: Próprio Autor, 2011.



Figura 4 - Preenchimento da cavidade com o biopolímero
Fonte: Próprio Autor, 2011.

Os tecidos, muscular e subcutâneo foram aproximados com fio de Nylon 4.0 (ETHICON®, EUAs), assim como a síntese da pele (Figuras 5 e 6).



Figura 5- Sutura do tecido subcutâneo.
Fonte: Próprio Autor, 2011.



Figura 6 - Síntese com fio de Nylon 4.0
Fonte: Próprio Autor, 2011.

3.3 - Pós – cirúrgico

Os coelhos receberam via IM Enrofloxacina 10mg/kg e Meloxicam 0,2mg/kg por 5 dias, por se tratar de cirurgia ortopédica .Foi utilizada solução fisiológica para lavar as extremidades das falhas ósseas e aplicação de Rifamicina spray antes do curativo.

Para a recuperação anestésica, os coelhos foram devolvidos às suas gaiolas permanecendo envoltos pelos panos operatórios para evitar perda de calor corporal. Durante o período de pós-operatório os animais ficaram confinados individualmente em gaiolas metálicas adequadas para a espécie, onde foram alimentados e receberam água a vontade. No pós-operatório imediato, permitia-se que os animais deambulassem livremente, porém, até o 3º dia, essa movimentação era feita com dificuldade, provavelmente ocasionado pela dor causada pelo procedimento cirúrgico. A partir do 4º dia, esses animais já deambulavam sem restrições, apoiando totalmente os membros operados. Também não foi observado nenhum tipo de hemorragia e/ou limitações dos movimentos.

O acompanhamento pós-cirúrgico dos animais mostrou ausência de sinais externos decorrentes de infecção nas regiões cirúrgicas. Alguns animais apresentaram edema discreto ou moderado, desaparecendo poucos dias após, sem ocorrência de supuração ou abertura de incisão. Os animais foram submetidos a exames diários até o sétimo dia pós-operatório, não sendo verificada nenhum tipo de reação patológica, devido ao procedimento efetuado.

Após períodos de observação de 15, 30, 45 e 60 dias os animais foram eutanasiados recebendo injeção intramuscular de pentobarbital sódico, na dose de 60mg.Kg-1. Posteriormente foram confirmados os óbitos por exame clínico de ausência de reatividade pupilar à luz e por parada cardiorrespiratória. Ambos os membros posteriores foram desarticulados no quadril e as tíbias dissecadas.

Os tecidos moles conectores com a tibia seccionados e a área óssea do procedimento operatório foram observados em relação à integridade óssea e cicatrização do acesso operatório, e foram colocados em solução de formol a 10% V/V (INDALABOR®, Brasil).

3.4 - Avaliação Radiográfica

Foram realizadas radiografias (Aparelho de 750.000Å, colimador de raio horizontal com distância de foco fixa em 10cm, com 43KV e tempo de exposição de 0,10s com 100mA), em posicionamento ântero-posterior e látero-lateral, e a ausência de halo de radiotransparência circundando o enxerto ósseo e/ou o implante de poliuretana de mamona será considerada consolidação óssea.

4 - RESULTADOS

4.1 - Análises Macroscópicas

Em todos os animais, foi observada uma grande quantidade de tecido fibroso envolvendo o sítio cirúrgico tanto no lado controle (autógeno) quanto no lado experimental (Biopolímero) (Figura 7).

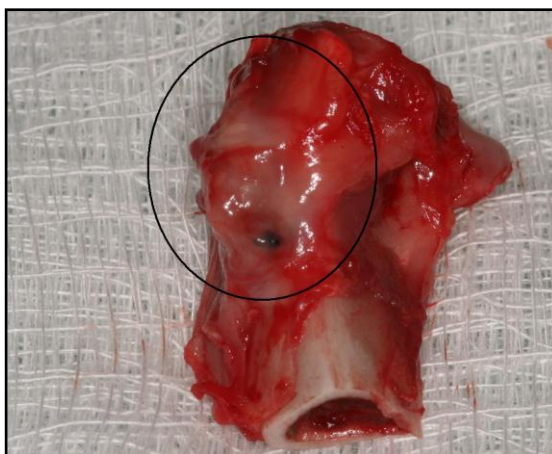


Figura 7 – Presença de tecido conjuntivo fibroso

No lado controle (osso autógeno), o osso enxertado estava visível e apresentava grande quantidade de tecido fibroso, com perda de definição da interface enxerto-osso.

Nos animais eutanasiados com 60 dias, observou-se uma menor quantidade de tecido fibroso adjacente ao material implantado, já no lado controle não foi possível identificar a interface enxerto-osso, embora o enxerto ainda fosse

discretamente visível, com tecido conjuntivo fibroso em quantidade moderada comparado aos animais eutanasiados com 30 dias.

4.2 - Análises Radiológicas

Em todos os animais as peças em análise, foram postas de forma a obter as imagens radiográficas através de cortes no sentido latero-lateral na tíbia de coelhos a fim de padronizar a obtenção dessas imagens para que fossem analisadas comparativamente.

4.2.1 – Grupo I (15 dias)



Figura 8 – Raio x, Grupo I (Osso autógeno).



Figura 9 – Raio x, Grupo I (Biopolímero)

Enxerto Autógeno	Implante do Biopolímero
Presença estável do enxerto ósseo, presença de um halo radiolúcido na interface enxerto-osso, como também apresentou radiopacidade uniforme tanto na face externa do enxerto quanto na face interna do sítio receptor (Figura 8).	Boa adaptação do enxerto, não existindo lacuna entre o material implantado e a superfície do defeito ósseo criado. O biopolímero apresentou boa radiopacidade e uniformidade de sua estrutura (Figura 9).

4.2.2 – Grupo II (30 dias)

Figura 10 – Raio x, Grupo II (Osso Autógeno).



Figura 11 – Raio x, Grupo II (Biopolímero).



Enxerto Autógeno	Implante do Biopolímero
<p>A região do enxerto apresentou-se com boa estabilidade do enxerto, a presença do halo radiolúcido ainda persiste, porém com sinais de involução, tanto nas faces externas do enxerto como nas internas (Figura 10).</p>	<p>Observou-se a formação de um halo radiopaco na superfície externa do defeito ósseo criado, a radiopacidade do enxerto diminuiu comparada ao Grupo I do implante de poliuretana (Figura 11).</p>

4.2.3 – Grupo III (45 dias)



Figura 12 – Raio x, Grupo III (Osso Autógeno).



Figura 13 – Raio x, Grupo III (Biopolímero).

Enxerto Autógeno	Implante do Biopolímero
<p>Observa-se ainda a presença do halo radiolúcido evoluindo para uma possível reabsorção e posterior substituição do enxerto. Não mais foi observada a presença de maior radiopacidade nas faces do enxerto e sítio receptor (Figura 12).</p>	<p>Ausência de halo radiopaco na interface implante-osso, diminuição da radiopacidade da região implantada (Figura13).</p>

4.2.4 – Grupo IV (60 dias)



Figura 14 – Raio x, Grupo IV (Osso Autógeno).



Figura 15 – Raio x, Grupo IV (Biopolímero).

Enxerto Autógeno	Implante do Biopolímero
Observa-se uma discreta área radiopaca externa no defeito ósseo criado, e maior semelhança de estrutura radiográfica entre o osso da tíbia e o enxerto (Figura 11).	Foi observado a ausência de bordos definidos (Figura 15).

5 - DISCUSSÃO

O estudo foi elaborado com a intenção de fazer um seguimento ao longo do tempo. Entretanto, nossas avaliações decorreram de cortes transversais no tempo, sendo que as observações dos fenômenos macroscópicos e radiográficos implicaram na eutanásia dos animais. Desta forma, os resultados obtidos em cada período de eutanásia eram analisados em animais distintos.

O biopolímero é fornecido, comercialmente, em dois frascos separados, um contendo um polioliol (-OH) e o outro contendo um pré-polímero (NCO). Ambos são produtos intermediários obtidos por modificações do óleo da mamona, utilizando técnicas especiais de ativação para reação uretana, que serão misturados no carbonato de cálcio como material de preenchimento não ativo e com o propósito de conferir maior porosidade à mistura e visibilidade aos raios x (OHARA, et al., 1995).

A polimerização por meio da reação discretamente exotérmica (em torno de 40° C) atingindo o estado “adesivo” de 3 a 5 minutos e em torno de 5 a 10 minutos atinge o estado “manipulável” (biomassa), levando em torno de 20 minutos para o endurecimento, lembrando um plástico endurecido. A poliuretana derivada do óleo da mamona apresenta uma formula molecular que tem se mostrado compatível com os tecidos vivos, apresentando aspectos favoráveis de processabilidade, flexibilidade de formulação, versatilidade de temperatura de cura e controle de pico exotérmico na transição líquido-gel, excelentes propriedades estruturais, ausência de emissão de vapores tóxicos, bom poder de adesão, não libera radicais tóxicos quando implantada e baixo custo. (IGNÁCIO,1995; OHARA,1995; JACQUES, 2001), uma vez que o enxerto de osso autógeno integra-se adequadamente aos tecidos vizinhos, tem boa resistência e perenidade. Porém, tem como fator limitante a quantidade de material, às vezes, necessária para a correção do defeito. Pacientes com baixa reserva de osso autógeno (crianças, idosos) ou com uso prévio dessas reservas em cirurgias anteriores são de difícil conduta terapêutica (FREITAS, ANDRADE, OLIVEIRA, PORCIÚNA, 2004).

O biopolímero, derivada do óleo de mamona, apresenta uma fórmula molecular que tem mostrado compatibilidade com os tecidos vivos, apresentando aspectos favoráveis de processabilidade, flexibilidade de formulação, versatilidade de curva e controle do pico exotérmico na transição líquido-gel, excelentes propriedades estruturais, ausência de emissão de vapores tóxicos, bom poder de adesão e baixo custo, levando assim a formação de um composto com baixo índice de resíduo e grande gama de estruturas físicas, dando margem a variações de resistência, densidade, consistência e porosidade que permitiriam variações no processo de osteocondução (JACQUES, et al., 2004).

O polímero da mamona mostrou-se como um material de preenchimento adequado, uma vez que foi substituído por osso neoformado na medida em que foi reabsorvido. Esta substituição e conseqüente neoformação óssea foi mais evidente no período de análise de 120 dias (FREITAS, ANDRADE, OLIVEIRA, PORCIÚNA, 2004). Contradizendo Ignácio (1995), no qual os defeitos cilíndricos promovidos na metáfise distal do fêmur de cães foram preenchidos com biopolímero na forma porosa ou compacta. A microscopia eletrônica de varredura evidenciou, em todos os momentos de observação, a presença de estrutura semelhante a tecido conjuntivo fibroso, na interface entre a poliuretana e o tecido ósseo adjacente. Em todos os segmentos analisados à microscopia óptica, ambas as formas de implante, encontravam-se envoltas por tecido conjuntivo com alta densidade de fibras colágenas, dispostas paralelamente à superfície do material, e com presença de fibroblastos, que se interpunham entre o implante e o tecido ósseo adjacente. Em nenhum local foi observada a presença de tecido ósseo em contato com a superfície do biomaterial, nem sinais indicativos de degradação do mesmo, concluindo-se ser o implante de poliuretana espaçador biológico biocompatível, biotolerante e sem osteointegração.

Não foi observada a reação do tipo corpo estranho, nem o preenchimento completo do defeito ósseo nos animais tratados com polímero derivado do óleo da mamona, diferenciando do grupo tratado com enxerto autógeno, em que a reparação foi total (FERNANDES, et al., 2007), confirmando a ausência de reação do tipo corpo estranho do presente estudo, e contrariando os resultados obtidos no que diz respeito ao preenchimento completo do defeito ósseo, sucesso que pode ser atribuído ao composto ter sido manipulado com o sangue medular extraído da parte medular da tíbia dos coelhos.

Radiograficamente a área de ostectomia se apresentou bem definida, delimitando a falha com um halo mais radiopaco, o qual foi sendo disperso durante o decorrer do experimento, caracterizando atividade osteogênica, com esclerose óssea e reabsorção (DEL CARLO, et al., 2003), assim como ocorreu no trabalho realizado.

A regeneração óssea depende de irrigação vascular adequada, com osteoblastos funcionando nas regiões adjacentes aos vasos sanguíneos, onde a formação do tecido ósseo altamente organizado requer superfície mecanicamente estável e sólida sobre a qual o osso neoformado pode ser depositado (SVERZUT, et al., 2008). É importante também determinar a diferença entre o enxerto autógeno cortical e medular. Após as duas primeiras semanas é possível detectar diferenças entre a biologia de incorporação do enxerto ósseo medular e a do enxerto ósseo cortical, principalmente quanto ao índice de revascularização e neoformação óssea, mecanismos de reparo e propriedades mecânicas do enxerto. A revascularização do enxerto medular é rápida, iniciando poucas horas após o transplante e tem uma completa reparação por substituição. Este fator constitui-se na principal diferença entre o enxerto ósseo corticalizado e o esponjoso (BECKER, et al., 1994).

A não reabsorção da poliuretana foi confirmada com sua presença aos 180 dias e a presença de uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso, sendo associada a utilização de diversos tipos de polímeros utilizados, sendo que o polímero associado ao carbonato de cálcio teve uma maior regeneração óssea (FERNANDES, et al, 2007). Nesta pesquisa, o resultado favorável, radiograficamente, pode também ser atribuído ao fato de o biopolímero granuloso ter sido agregado ao sangue medular do coelho, obtido na loja cirúrgica. Além de promover a osteogênese, devido a presença de celular viáveis progenitoras no sangue medular, vale referir que o uso de sangue autólogo ofereceu uma melhor agregação do produto no momento da aplicação. Sem a inclusão de sangue poderia haver dispersão dos grânulos. Embora não tenha sido empregado qualquer tipo de barreira, como por exemplo, membranas osteopromotivas (Zellin & Linde, 1996), o biomaterial manteve-se concentrado no defeito ósseo gerado, verificado pelos exames radiográficos.

O estudo morfológico comparativo mostrou que o implante de poliuretana de mamona integra-se ao osso receptor de modo mais lento e incompleto que o enxerto ósseo autógeno (JACQUES, et al, 2004), porém no presente trabalho, o exame sugere o contrário, uma vez que foi observada integração completa do implante do

biopolímero ao osso remanescente ao ponto de confundir os limites de aderência entre eles, porém este resultado só poderá ser confirmado, por meio de trabalhos futuros, que envolvam o exame histológico.

O tecido conjuntivo denso encontrado ao redor do polímero de mamona nos períodos iniciais de observação não deve ser confundido com aquele tipo de tecido fibroso responsável por isolar corpos não biocompatíveis. A principal diferença entre esses dois tecidos reside em suas morfologias, sendo que a cápsula fibrosa é constituída exclusivamente por fibras colágenas, enquanto o tecido conjuntivo denso possui uma composição tanto de fibras colágenas como uma grande população celular, que posteriormente poderão se diferenciar em celular osteoprogenitoras (FREITAS, ANDRADE, OLIVEIRA, PORCIÚNA, 2004).

O estudo radiológico mostrou que a integração do polímero é menor que do osso autógeno. Apesar dos resultados mostrarem que a poliuretana de mamona tem uma capacidade de integração ao tecido ósseo, quando utilizado como implante para preenchimento de falhas ósseas (JACQUES, et al, 2004). Considerando os aspectos favoráveis da aplicação da poliuretana de mamona como biomaterial, decidiu-se pela avaliação radiográfica do reparo ósseo do biopolímero, e radiograficamente podemos observar que houve neoformação óssea nos grupos experimentais.

A identificação do material enxertado em observação macroscópica demonstrou a presença do enxerto em 100% dos animais que receberam implante de poliuretana de mamona. Na comparação entre os lados controle e experimental, a identificação do material foi significativamente maior no grupo poliuretana de mamona que no enxerto autógeno, o que decorre da lenta absorção do polímero por ser de natureza lipídica e ser reabsorvido por um mecanismo de lipólise. Através de observações de estudos citoquímicos, o polímero de mamona é identificado pelo organismo como sendo um lipídio. Isto implicaria em um processo enzimático que não requer a participação e conseqüentemente, a presença de células gigantes geradas por um processo inflamatório, constituindo-se em uma resposta tecidual indesejada no processo de regeneração dos tecidos (CHIERICE, 1994).

Não houve sinais macroscópicos e radiológicos de nenhum tipo de reação de corpo estranho quando comparados implante de poliuretana e o enxerto ósseo autógeno, demonstrando assim, a grande aceitação do material implantado. O

biomaterial, no entanto comparado ao enxerto ósseo autógeno, promoveu o reparo ósseo nos tempos estudados.

Estudos que possam adequar à utilização do biopolímero no preenchimento de defeitos ósseos, modulando a reparação óssea, são passíveis de pesquisa para contribuir para uma maior integração do material. É preciso que seja realizado um estudo histológico, para observar a sequência de reparo e o potencial de osteoindução e osteocondução do enxerto autógeno e biopolímero, assim teremos condição de afirmar se o biopolímero possui a mesma capacidade de reparo ósseo do enxerto autógeno.

Mais estudos devem ser realizados com o intuito de sugerirmos o biopolímero como possível substituto do enxerto autógeno com aplicação em defeitos ósseos em humanos.

6 - CONCLUSÃO

Em conformidade com os objetivos propostos, os resultados obtidos dentro das condições experimentais desta pesquisa demonstraram que:

1. O material implantado sugere radiograficamente, que o biopolímero pode ser uma alternativa a ser utilizada em reparo de defeitos ósseos;
2. Após o período de análise do enxerto de 60 dias, o exame radiográfico sugere que o biopolímero apresenta reparo ósseo mais homogêneo que o autógeno;
3. Para defeitos ósseos pequenos e circundados por paredes, o enxerto particulado de biopolímero, respondeu mais rápido que o enxerto autógeno em bloco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Poliquil*. 2005. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=17062>>. Acesso em: jun. 2011.

BECKER, W. ET all. The effect of clinical loading on bone regenerated by GTAM barriers; a study in dogs. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v.9, p.305-13, 1994.

BRASIL MINISTÉRIO DA SAÚDE. ANVISA – **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2005 (citado em dezembro de 2005). Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>>. Acesso em: jul. 2010.

BUSER, D.; DAHLIN, C.; SCHENK, R.K. **Regeneração óssea guiada na implantodontia**. 1.ed. Quintessense, 1996. 2:31-46.

CHIERICE, G.O. Pesquisa e desenvolvimento de biomateriais baseados em poliuretanas derivadas do óleo de mamona. **SNM-PADCT-II**. P. 76, 1994.

DEL CARLO, R.J., et al. Castor oil Plant polymer and calcium associated or not to autogenous bone marrow in bone gaps repair. **Rev. Ciência Rural**, v.33, n.6, P 1081-1088, nov\dez, 2003.

FERNANDES, E.S., et al. Histological evaluation of polymer derived from castor oil ben (*Ricinus communis*) in the tibia proximal diaphase in dogs. **R. Bras. Ci. Vet.**, v.14, P.63-66, mai/ago 2007.

FREITAS, EC.; ANDRADE, J.; OLIVEIRA, LT.; PORCIÚNA, HF.; MANGILLI, P.D.; RAPOPORT, A. Ação do polímero da mamona durante a neoformação óssea. **Acta Cir Bras** (serial online) 2004 Jul-Ag: 19(4). Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502004000400005>. Aceso em: ago. 2011.

HERCULANI, P.P., et al. Tratamento de defeito ósseo perene em calvária de cobaia com membrana de cortical óssea bovina liofilizada associada ou não a enxerto ósseo bovino desmineralizado. **Rev Brás Implant**. Apr.-June. 2000.

IGNÁCIO, H. **Utilização do cimento derivado do polímero da mamona no preenchimento de falha óssea. Estudo experimental em coelhos** (Tese de Mestrado). Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 1995.

JACQUES, J.W. **Estudo comparativo entre enxerto ósseo autógeno e poliuretana de mamona em coelhos.** (Tese de Mestrado). São Paulo: Escola Paulista de Medicina. UNIFESP-2001.

JACQUES, J.W., et al. The role of the ricin polyurethane as substitute of the bone autogenous graft in rabbits. Escola Paulista de Medicina - UNIFESP. **Rev Col Bras Cir.** Jul/Ago. 2004 Vol.31 N.4 P236-241.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **HISTOLOGIA BASICA.** Rio de Janeiro: Guanabara, 2004.

LUPI, O. Prionic disease: evaluation of the risks involved in using products of bovine origina). **An Bras Dermatol**, Rio de Janeiro, 78(1):7-18. Jan.\Fev. 2003.

MARZOLA, C.; TOLEDO FILHO, J. L.; RODRIGUES SANCHES, M., P. R. Os Enxertos Ósseos e de Biomateriais e os Implantes Osseointegrados, **Rev. brasil. Cirurg. Implant.**, v. 8, n. 30, p. 126-40, abr./jun., 2001.

PETERSON, L.R.; ELLIS, E.; HUPP, J.R.; TUCKER, M.R. **Cirurgia oral e maxilo facial contemporânea.** 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000; 28:662-675.

POTTER, J.K.; ELLIS III, E. Biomaterials for reconstruction of the internal orbit. **J oral Maxilofac Surg.** 2004; 62: 1280-97.

SAILER, H.F.; PAJOROLA, G.F. **Cirurgia bucal.** São Paulo: Artes Médicas. 2000; 213-316.

SENN, N. On the healing of aseptic boné cavities by imptantation of antiseptic decalcified bone. **Am J Med Sciences.** 1889: 98:219. Citado por Jsoy Nade & Burwell, 1977.

SVERZUT, C.E., et al. Bone rapair in mandibular body osteotomy after using 2.0 miniplate system histological and histometric analysis in dogs. **In J Exp Pathol.** 2008; 89-91.

ZELLIN, G.; LINDE, A. Effects of different osteopromotive membrane porosities on experimental bone neogenesis in rats. **Biomaterials**, v. 17, p. 695-702, 1996.