WALLACE ROCHA SARAN

**ESTUDO EXPERIMENTAL DE IMPLANTES DERIVADOS DA RESINA POLIURETANA
DE MAMONA (*RICINUS COMMUNIS*), INSERIDOS NO CANAL MEDULAR DA
TÍBIA DE COELHOS. ANÁLISE DA INTERFACE OSSO E IMPLANTE.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia, Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice

São Carlos

2006

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

S243e Saran, Wallace Rocha
 Estudo experimental de Implantes derivados da
resina Poliuretana de Mamona(*Ricinus Communis*),
inseridos no canal medular da tíbia de coelhos.
análise da interface osso e implante. / Wallace
Rocha Saran - -São Carlos, 2006.
100 p. : il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Escola de Engenharia
de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão
Preto/Instituto de Química de São Carlos-
Universidade de São Paulo, 2006.

Área : Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Orivaldo
Chierice.

1. Poliuretana da mamona. 2. Implantes
intramedulares. 3. Biomateriais. I. Título.

WALLACE ROCHA SARAN

**ESTUDO EXPERIMENTAL DE IMPLANTES DERIVADOS DA RESINA POLIURETANA
DE MAMONA (*RICINUS COMMUNIS*), INSERIDOS NO CANAL MEDULAR DA
TÍBIA DE COELHOS. ANÁLISE DA INTERFACE OSSO E IMPLANTE.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia, Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Bioengenharia.

Data da defesa: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DADOS CURRICULARES

WALLACE ROCHA SARAN

Nascimento 26 de setembro de 1959

Filiação Orides Gentil Saran
Amélia Rocha Saran

1978-1983 Curso de Graduação em Medicina
Universidade Federal de Pelotas - Rio Grande do Sul

1984-1986 Residência em Ortopedia/ Traumatologia - Santa Casa de
Misericórdia de Ribeirão Preto

2004-2006 Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Bioengenharia
Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia,
Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos, da
Universidade de São Paulo.

DEDICO ESTE TRABALHO,

A DEUS,

A submissão, a dedicação e a adoração ao Deus do Evangelho conduzem ao ato de viver pela união do nosso ser com os nossos próximos, tornando o mundo cada vez mais cristão pelo progresso espiritual realizado a serviço do bem comum.

AOS MEUS PAIS,

Os pais entregam a bússola e indicam direções aos filhos que irão buscar os caminhos que não existem , mas são criados no caminhar. Eles ensinaram-me os primeiros passos com o uso da responsabilidade com liberdade. Ao meu saudoso pai, Professor Orides Gentil Saran, *in memoriam* e à minha querida mãe, Professora Amélia Rocha Saran, educadores de escola pública, a eterna gratidão pelo amor que recebi.

À MINHA ESPOSA E FILHOS,

Encontrei Alena e desde então, juntos, encontramos a felicidade de cultivar três flores, a Ana Carolina, a Giovanna e o Wallace. Minha esposa, mesmo exercendo um trabalho de capacitação no setor do Direito, vive a magia de encontrar tempo para educar seus filhos, agora em fase ensolarada do fim da infância e início da adolescência. E, coroando seu dia-a-dia, Alena é o alicerce do entusiasmo que sustenta os meus sonhos, como este trabalho de pesquisa.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao PROFESSOR DOUTOR GILBERTO ORIVALDO CHIERICE,

Professor universitário que, ao encontrar desafios para decifrar mistérios da realidade, formula alternativas que geram estudos marcados pela criatividade científica, e visam solucionar problemas que sustentam o desenvolvimento social do nosso Brasil. Tem o dom raro de extrair dos discípulos o que eles podem oferecer nos diferentes setores dos trabalhos científicos. É o modelo de Mestre para a Universidade Brasileira. Obrigado por me ensinar tanto em tão pouco tempo de trabalho comum.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À PROFESSORA DOUTORA LIZETI TOLEDO DE OLIVEIRA RAMALHO,

A sua dedicação à excelência, à seriedade e ao rigor de suas aferições deixou-me lições de vida inesquecíveis. Com seu apoio senti o quanto vale o compromisso de leituras de resultados para uma pesquisa. Um muito obrigado, com admiração.

À PROFESSORA DOUTORA LÉA ASSED BEZERRA DA SILVA,

A sua experiência de docente, de autora de obras especializadas, de nova visão social do ensino universitário, de longo currículo de educadora da USP, ao dar seu apoio irrestrito ao desenvolvimento de meu trabalho, valioso incentivo, foi a materialização da esperança que sempre acompanha o trabalho criativo. Muito obrigado, Professora Léa.

À PROFESSORA DOUTORA SADA ASSED,

A Universidade como um equipamento dedicado à criatividade, sem isolamentos burocráticos, conduziu-me à Professora Sada, que abriu setores adequados da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, aos meus trabalhos experimentais. Um muito obrigado pelo tudo que esta conduta significou.

AO PROFESSOR DOUTOR HÉLIO FERRAZ PORCIÚNCULA,

Aprendi com o seu convívio, que a escolha de uma pesquisa científica não deve ser influenciada pela preferência de temas, posições e assuntos da moda, mas sim, pela busca do não, ou do menos conhecido. A cada dia que passa, reforça minha opinião de que, como homem do diálogo, seu perfil é o de um educador que incentiva, entre seus discípulos, o respeitoso confronto de idéias, de posições divergentes. O meu agradecimento pelo trabalho criativo, sugestões e orientação com que me distinguiu.

PARA A MATERIALIZAÇÃO DESTE TRABALHO, PARTICIPARAM VÁRIAS PESSOAS, DIRETA E INDIRETAMENTE. MANIFESTO MINHA GRATIDÃO A TODAS ELAS, PRINCIPALMENTE,

Ao **Prof. Dr. José Carlos Pereira**, docente Chefe do Departamento de Bioengenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, pela oportunidade da realização desse trabalho.

Ao **Prof. Dr. José. B. P. Paulin**, Diretor do Laboratório de Bioengenharia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, por ter colocado à disposição desse trabalho, este departamento.

Ao **Prof. Dr. Salvador Claro Neto**, docente do Departamento de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, pela amizade e contribuição, que além de fornecer o material necessário, disponibilizou seus conhecimentos, para que o trabalho se ultimasse.

Ao **Prof. Dr. Marcelo H. P. Nogueira**, médico radiologista, pela atenção, entusiasmo e auxílio na execução e avaliação das radiografias e tomografias, do material do trabalho.

Ao **Prof. Dr. José Álvaro Gonçalves Júnior**, do Instituto de Radiologia de Ribeirão Preto, por sua amizade e apoio, ao disponibilizar o Instituto de Radiologia de Ribeirão Preto, na realização desse trabalho.

À **Janete F. Rodrigues dos Santos**, Secretária do Curso de Pós-Graduação Inter. Bioengenharia – EESC/FMRP/IQSC, pela atenção, amizade, dedicação, entusiasmo e convivência agradável durante a realização deste projeto de pesquisa.

Aos **funcionários do Instituto de Química de São Carlos**, da Universidade de São Paulo, pela amizade e colaboração na execução dessa pesquisa.

Ao **Prof Dr. Orivaldo Lopes da Silva**, um agradecimento especial pelos seus ensinamentos em Física.

Aos **funcionários do Departamento de Bioengenharia de Ribeirão Preto**, da Universidade de São Paulo, nas pessoas de Maria Terezinha Moraes, Secretária, Otávio Terra, Técnico da Oficina de Precisão; Carlos Alberto Moro, Especialista em Laboratório; Luiz Henrique Alves Pereira, Técnico de Laboratório; Francisco Carlos Mazzocato, Técnico de Laboratório, pelo convívio agradável, incentivo e amizade na execução do trabalho.

Ao técnico de laboratório **Marco Antonio dos Santos**, do Departamento de Clínica Infantil, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, pela importante realização do processamento laboratorial histológico desse trabalho.

Ao **Prof. Dr. Paulo Nelson Filho**, Chefe do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo que, com sua experiência em pesquisas, desprendimento e auxílio voluntário, ofereceu-me lições imprescindíveis para a finalização do trabalho.

À **Raquel Assed Bezerra da Silva**, do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, pelo apoio, dedicação e indispensável colaboração, na pesquisa bibliográfica da matéria relacionada à pesquisa.

À **Gisele Faria**, do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, por seus ensinamentos na área da Metodologia Científica e atenção dispensada na concretização do trabalho.

Ao pós-graduando **Francisco Wanderley Garcia de Paula e Silva**, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, pela disponibilidade de tempo, dedicação e auxílio na finalização do trabalho.

À secretária **Rejane Gomes Cavalheiro Mazer**, de Departamento de Clínica Infantil, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, pela atenção que sempre dispensou na convivência diária.

Ao **Júlio César de Matos e Cláudia Regina Corrêa de Matos**, pela precisa diagramação e impressão desse trabalho.

RESUMO

Saran WR. Estudo experimental de Implantes derivados da resina Poliuretana de Mamona (*Ricinus Communis*), inseridos no canal medular da tíbia de coelhos. Análise da interface osso e implante. [dissertação]. São Carlos: Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia, Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo; 2006.

O objetivo deste estudo foi a análise da interface entre o implante derivado do polímero da mamona (*Ricinus communis*) com o canal medular ósseo, por meio dos estudos de diagnósticos por imagem (radiografias simples e tomografias computadorizadas) e análise histológica (microscópica de luz). Foram selecionados 44 coelhos machos, *Oryctolagus cuniculus*, da linhagem Nova Zelândia, albinos, divididos em dois grupos, sendo o Grupo 1, composto por 12 animais controle, cujas fresagens do canal medular foram produzidas bilateralmente nas tíbias e não preenchidas, o Grupo 2, com 30 animais, cujos canais medulares da tíbia, após fresagem, foram preenchidos bilateralmente com os cilindros derivados da poliuretana da mamona. Os 30 animais foram divididos aleatoriamente em 3 subgrupos experimentais (G_{2a} , G_{2b} e G_{2c}) de 10 animais, conforme as datas de eutanásia pré-determinadas em 90, 120, 150 dias após o ato operatório. O mesmo foi feito no grupo controle, com mesma data de eutanásia, sendo realizadas em 3 grupos de 4 animais. Um animal não foi submetido ao procedimento de fresagem, sendo utilizado para controle histológico e outro foi morto após o implante do polímero, sendo utilizado para controle do estudo com tomografia computadorizada. Decorridos os períodos experimentais, os animais foram mortos, as peças removidas e submetidas ao processamento histológico. A análise histológica foi realizada subjetivamente em microscópio óptico, observando-se a presença ou não de um processo inflamatório, tipo e grau do mesmo quando presente, de uma cápsula fibrosa envolvendo o material implantado e da sequência biológica envolvida no reparo do tecido ósseo. No grupo experimental, aos 90 dias, a interface com o polímero apresentava espessa camada de tecido ósseo neoformado rico em osteócitos. Este tecido encontrava-se em processo de amadurecimento. No período de 120 dias, a superfície interna do osso neoformado encontrava-se em franco processo de amadurecimento, com poucos osteócitos no interior da matriz e a organização das fibras colágenas em lamelas concêntricas. Aos 150 dias, havia uma diminuição de osteócitos, com formação tecido ósseo bem organizado. No grupo controle, a superfície interna junto ao canal medular apresentava-se revestida por osteoblastos, seguida de faixa de tecido ósseo, com poucas lacunas preenchidas por

osteócitos. O amadurecimento do tecido da superfície interna medular acontece na região interior, sendo o osso alamelar, constituído por fibras colágenas menos amadurecidas que o osso lamelar. A avaliação por radiografias simples não demonstrou ser um método eficaz para identificar a interação do polímero e o tecido ósseo. Nos grupos de animais mortos após 90, 120 e 150 dias, as imagens tomográficas demonstraram não haver espaço entre a superfície do material e do osso na interface implante/ medula óssea. A densidade dos tecidos medida junto a esta interface foi igual à densidade das demais porções da medula óssea. A análise histológica demonstrou que o polímero é biocompatível, osteoindutor e osteocondutor. A análise radiográfica permitiu documentar a posição intramedular do polímero e as imagens tomográficas demonstraram limites mal definidos entre o implante e o canal medular, evidenciando, assim, a boa interação entre ambos.

Palavras-chave: poliuretana da mamona, implantes intramedulares, biomateriais

ABSTRACT

Saran WR. Experimental study of implants derived from castor oil polyurethane resin (*Ricinus communis*) placed in the medullary canal of rabbit tibiae. Analysis of bone/implant interface. [dissertation]. São Carlos: Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia, Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo; 2006.

The purpose of this study was to analyze the interface between the implant derived from castor oil polymer (*Ricinus communis*) and the bone medullary canal by diagnostic imaging (conventional radiography and computed tomography) and histological analysis (optical microscopy). For such purpose, 44 rabbits (*Oryctolagus cuniculus*, New Zealand, albinus) were selected and assigned to two groups. In Group 1, composed of 12 animals (control), reamings of the medullary canal were produced bilaterally in the tibiae of the rabbits and were not filled. In Group 2, composed of 30 animals, the medullary canals of the tibiae, after reaming, were filled bilaterally and implanted with cylinders derived from castor oil polyurethane. The 30 animals were randomly divided into 3 experimental subgroups (G_{2a} , G_{2b} and G_{2c}), according to the periods of predetermined euthanasia, i.e., 90, 120 and 150 days postoperatively. The same protocol was carried out for the control group, with the same euthanasia dates (3 groups of 4 animals each). One animal was not submitted to the reaming process and served as a histological control; another animal was sacrificed after placement of the polymer implant and served as a control for computed tomography imaging. Euthanasia was performed at the established experimental periods and the pieces were removed and submitted to standard histological processing. The histological analysis was carried out subjectively in optical microscopy and the following events were assessed: presence or not of inflammatory process, type and severity of the inflammatory process (if present), presence of a fibrous capsule surrounding the implanted material and the biological sequence involved in bone tissue healing. In the experimental group, at 90 days, the interface with the polymer presented a thick layer of neoformed bone tissue rich in osteocytes. This tissue was in an ongoing maturing process. In the 120-day period, the internal surface of the neoformed bone was in frank maturing process, with few osteocytes within the matrix and collagen fibers organized in concentric lamellas. At 150 days, there was a decrease in the number of osteocytes, with the formation of a well-organized bone tissue. In the control group, the internal surface close to the medullary canal was lined with osteoblasts, followed by a bone tissue zone with few lacunae filled with osteocytes. The

maturation of the tissue of the medullary internal surface occurs in the inner region, the bone being lamellar, i.e., constituted of collagen fibers less matured than the lamellar bone. The evaluation by conventional radiography demonstrated not to be an effective method to identify the interaction between the polymer and the bone tissue. In the groups of animals sacrificed at the 90th, 120th and 150th postoperative days, the computed tomography images showed no space between the material surface and the bone at the implant/bone marrow interface. The density of the tissues, measured close to this interface was similar to the density measured in the other areas of the bone marrow. The histological analysis demonstrated that the polymer is biocompatible, osteoinductive and osteoconductive. The radiographic analysis allowed documenting the intramedullar position of the polymer, while the tomographic images demonstrated ill-defined limits between the implant and the medullar canal, therefore evidencing a good interaction between them.

Key-words: castor oil polyurethane, intramedullar implants, biomaterials.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISTA DA LITERATURA	17
3 PROPOSIÇÃO	31
.....	
4 MATERIAL E MÉTODO	33
4.1 EXAME RADIOGRÁFICO E TOMOGRÁFICO.....	42
4.2 COLHEITA DO MATERIAL PARA ANÁLISE.....	42
4.3 TÉCNICA HISTOLÓGICA	42
5 RESULTADOS	45
5.1 RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS	45
5.2 RESULTADOS RADIOGRÁFICOS E TOMOGRÁFICOS	76
6. DISCUSSÃO.....	87
7. CONCLUSÃO.....	91
CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
REFERÊNCIAS.....	95

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é uma forma especializada de tecido conjuntivo, de consistência rígida que desempenha funções como suporte dos tecidos moles, proteção de órgãos vitais e apoio à musculatura esquelética, possibilitando a formação de um sistema de alavancas que amplia as forças geradas pela contração muscular. Além disso, os ossos funcionam como depósito de íons como cálcio e fosfato, armazenando-os ou liberando-os de forma controlada, de acordo com suas concentrações nos líquidos corporais (Junqueira e Carneiro, 2005).

Em função disso, áreas como a Ortopedia e a Traumatologia vêm se preocupando, há décadas, com materiais e técnicas que favoreçam a fixação e o reparo de fraturas ósseas ocasionadas por traumatismos, infecções, tumores e malformações congênitas, bem como com a fixação das áreas fraturadas (Kumar et al., 2005).

Estes procedimentos deveriam ser efetuados, preferencialmente, com enxertos livres de osso autógeno (Korlof et al., 1973) ou tecidos homólogos, heterólogos, descalcificados ou, ainda, por meio de transferência óssea empregando a microcirurgia (Fracino, 1998). Todos esses métodos vêm sendo utilizados e aperfeiçoados, apresentando resultados consideráveis (Santoni-Rugiu, 1969; Tessier, 1982). No entanto, a complexidade da reparação de diferentes deformidades, tendo como fatores determinantes sua localização e dimensões (van Putten e Yamada, 1992), conduziu os pesquisadores à busca de materiais aloplásticos ou biomateriais.

Assim, com o desenvolvimento da indústria química, resinas sintéticas vêm sendo desenvolvidas e empregadas como biomateriais, como os polietilenos (Berghans, 1985), as cerâmicas (hidroxipatita, aluminato de cálcio e fosfato tricálcico) (Salier e Hall, 1989; Jarcho, 1981; Miller et al., 1991), o silicone (Chicarilli e Ariyan, 1986), o titânio (Joffe et al., 1993) e o polimetilmetacrilato (van Cool, 1985; Remser et al., 1986).

Com relação à fixação de fraturas, atualmente busca-se um biomaterial que apresente resistência, a fim de proporcionar uma fixação rígida e que, ao mesmo tempo, possa ser osteocondutor, com propriedades osteogênicas. Dentre os materiais inertes, o polímero à base de moléculas de mamoma, desenvolvido em 1984 por pesquisadores do grupo de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros de São Carlos – Universidade de São Paulo (Chierice, 1994) têm evidenciado propriedades promissoras, incluindo osteocondução e osteogênese (Ignácio et al., 1997).

O desenvolvimento das poliuretanas derivados de óleo de mamona teve origem na década de 40 (Baadsgaard, 1970; Boer, 1988; Bonini, 1999), onde foram sintetizados polímeros para aplicação como tintas e vernizes. A mamona é um vegetal tropical trazido para o Brasil na época da colonização (*Ricinus communis*), da classe Dicotiledônea, ordem geraneales e família Euforbaceae. A poliuretana utilizada em enxertos deriva-se de um poliéster sintetizado a partir do óleo de mamona, pré-polímero sintetizado a partir dos polióis, difenilmetanodisocianato.

A poliuretana utilizada neste estudo é um biomaterial que vem sendo amplamente estudado para aplicação na área médica (Claro-Neto, 1997), evidenciando propriedades mecânicas adequadas (Fonseca, 1997). Além disso, é biocompatível quando em contato com culturas de células e tecido conjuntivo e quando empregada sob a forma de implantes ou enxertos (Bonini, 1999; Ara, 1999; Bonini et al., 2002a; Bonini et al., 2002b) em leitos subperiósticos (Puricelli et al., 1999) ou em tecido ósseo (Lamano-Carvalho et al., 1997; Barros et al., 2003; König-Júnior et al., 1999; Beloti et al., 2003; Teixeira e Ramalho, 1999; Garcia-Júnior, 2000; Cavalieri et al., 2001; Ignácio et al., 2002; Souza et al., 2002; Del Carlo et al., 2003; Leonel et al., 2003; Ribeiro, 2003; Leonel et al., 2004; Popak et al., 2004; Boeck-Neto et al., 2005).

Pelo exposto, e em função de seu baixo custo, abundância em nosso país e rigidez satisfatória, a interação da poliuretana derivada do óleo de mamona com o canal medular de ossos longos deve ser avaliada para uma possível aplicação como método para fixação de fraturas e reparação óssea.

REVISTA DA LITERATURA

2 REVISTA DA LITERATURA

Tem sido intensa a busca por materiais biocompatíveis com o organismo humano, pois, com frequência, após a utilização de determinados materiais, nos deparamos com a perda do tecido ósseo e alterações locais (Dahlin et al., 1988).

Os polímeros surgiram como materiais para implantes biológicos na cirurgia ortopédica, neurocirurgia e otorrinologia por causa de suas excelentes propriedades, como tolerabilidade química e biocompatibilidade. Eles também foram estudados em Odontologia como substitutos de ossos e membranas nas cirurgias maxilofaciais com o objetivo de regeneração óssea (Carvalho et al., 1997).

A procura por elementos biocompatíveis com o organismo humano tem sido realizada pelo Professor Doutor Gilberto Orivaldo Chierice, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, campus de São Carlos.

Dentre as propriedades exigidas para um biomaterial, é desejável que o mesmo seja biocompatível, não seja tóxico ou carcinogênico, tenha tolerabilidade química ou biológica, densidade e peso adequados, resistência mecânica e elasticidade adequada e baixo custo (Ignácio et al., 1997).

A poliuretana desenvolvida por Chierice (1994) é derivada de um poliéster sintetizado a partir de óleo de mamona e difenilmetanodiisocianato, sendo composta pelos seguintes componentes:

- carbonato de cálcio (com a finalidade de aumentar o volume da mistura e permitir a formação de poros, acelerar o processo de osteointegração);
- pré-polímero rico em NCO livre (derivado do difenilmetanodiisocianato e polioli poliéster);
- polioli poliéster derivado do óleo da mamona.

A poliuretana derivada do óleo da mamona apresenta fácil processabilidade, flexibilidade de formulação, versatilidade de temperatura de cura, controle de pico exotérmico na transição de pico líquido – gel, excelentes propriedades estruturais, ausência de emissão de vapores tóxicos, baixo custo e é biodegradável (Ignácio et al., 1997).

Os biomateriais têm sido propostos para as áreas médicas e odontológicas com o objetivo de reparar o tecido ósseo e favorecer a reabilitação do paciente. Com o crescente interesse no emprego de materiais aloplásticos, que possam ser implantados no corpo humano, a poliuretana derivada do óleo de mamona, vem de encontro com esta finalidade, tendo como indicação, entre outras, o seu uso em técnicas de enxertia óssea.

Fonseca (1997) avaliaram *in vitro* as propriedades mecânicas da poliuretana elastomérica derivada do óleo da mamona. Corpos de prova, de formato e dimensões adequados ao estudo, estabelecidos pela norma ASTM 638, foram recortados de placas de poliuretana, obtidas pela polimerização de seus componentes básicos, o poliol Q 160 e o pré-polímero FN 329, na forma pura e associada a fios de poliéster longitudinalmente colocados no seu interior, dispostos paralelamente entre si, ou trançados, em número variando de um a sete, com incrementos de dois, segundo o grupo experimental. Os corpos de prova foram submetidos a ensaios de tração em máquina universal de ensaios, tendo sido analisados os parâmetros: 1- resistência à ruptura, 2- tensão máxima, 3- deformação (alongamento), 4- resiliência e 5- módulo de elasticidade. Para cada grupo foram testados três corpos de prova e, dos valores obtidos para cada parâmetro individualmente, foi obtida uma média para execução da análise estatística. Os resultados mostraram que a associação da poliuretana com os fios de poliéster diminui a capacidade de deformação da poliuretana pura, aumentando sua força de resistência, a tensão máxima, a resiliência e o módulo de elasticidade, propriedades cujos valores numéricos aumentam com o incremento do número e com o trançar dos fios, tendo sido muito significativo com cinco e sete fios. Concluiu-se que, na forma associada, a poliuretana derivada do óleo da mamona constitui um material adequado para a confecção de implantes de tendão, passivos ou ativos.

Lamano-Carvalho et al. (1997) avaliaram a biocompatibilidade do poliuretano *Ricinus communis* no alvéolo dental de ratos. Os incisivos centrais superiores de ratos Wistar foram extraídos e imediatamente o alvéolo preenchido com grânulos do polímero. Decorridos os períodos experimentais de 1, 2, 3 e 6 semanas, os animais foram mortos e as peças removidas e submetidas ao processamento histológico. Os cortes foram corados com Hematoxilina e Eosina e submetidos a análises histométricas nas áreas adjacentes aos implantes. Após 1 semana, o material apresentava-se encapsulado e circundado por um tecido conjuntivo imaturo rico em fibroblastos e capilares neoformados, na ausência de reação de corpo estranho. Após 2 e 3 semanas, os implantes mostravam uma cápsula fibrosa menos proeminente com presença de osso trabeculado maduro. Na 6ª semana, o tecido fibroso se mostrava delgado com presença de grande quantidade de tecido ósseo em contato com o material. Esses resultados sugerem que o material testado apresentava biocompatibilidade, uma vez que este foi progressivamente integrado ao osso alveolar durante o processo de reparo.

Bonini, em 1999, testou a suspensão do material, preparada a partir da trituração da forma sólida e calcificada da poliuretana derivada de óleo de mamona, em camundongos isogênicos C57/BL/6 e em cultura de macrófagos peritoniais obtidos a partir da lavagem intraperitoneal desses animais. O objetivo foi estudar a citotoxicidade e o tipo, intensidade e duração da resposta inflamatória induzida pelo poliuretano derivado do óleo da mamona. O material-teste revelou-se não-citotóxico ao interagir com macrófagos peritoniais em cultura. A migração de leucócitos para a cavidade peritoneal, 4, 8, 24, 48, 72, 96 horas e 15 dias, após da injeção intraperitoneal da suspensão do material revelou o crescimento e predomínio do número de neutrófilos nos períodos iniciais, sendo que nos períodos finais, subsequente ao decréscimo do número de neutrófilos, predominaram os mononucleares. E, embora no pulmão e no tecido subcutâneo, após 4, 8, 24, 48, 72 horas e 15 dias após as injeções endovenosa e subcutânea, a cinética de leucócitos tenha sido semelhante a essa, no tecido subcutâneo, foi observada a diferenciação morfológica de macrófagos e o desenvolvimento de granuloma do tipo corpo estranho, o que reflete um caráter persistente da resposta inflamatória e, provavelmente, está relacionado à metabolização do poliuretano. Pelas análises espectrofotométricas foi constatado que, embora o material-teste tenha induzido, em cultura de macrófagos peritoniais, a liberação de NO em níveis relativamente baixos, não ativou macrófagos para a produção de H_2O_2 . Diante de todos estes achados, concluiu-se que a poliuretana derivada do óleo da mamona apresentou um comportamento favorável a biocompatibilidade.

König-Júnior et al. (1999) avaliaram a biocompatibilidade da resina poliuretana *Ricinus communis* aplicada no alvéolo dental de cães, após a extração dos pré-molares. Foram utilizados 3 cães, com peso médio de 15Kg, nos quais os alvéolos dentais foram preenchidos com a resina, sendo o excesso de material removido após a polimerização. Decorridos 90 dias, os animais foram mortos, as peças processadas e os cortes corados pelo tricrômico de Masson para avaliação microscópica. Foi observado que o poliuretano foi progressivamente substituído por tecido ósseo neoformado, algumas vezes com formação de osteon. Em algumas áreas, havia presença de tecido osteóide depositado de maneira irregular enquanto outras áreas apresentavam uma mistura de diferentes tipos de tecido ósseo, inclusive com formação de osso lamelar. Na interface osso neoformado/ osso alveolar podia ser observada uma linha de deposição de material semelhante a cimento separando as duas regiões. Havia tecido ósseo maduro trabeculado presente em quase toda a extensão do alvéolo, com trabéculas mais ou menos separadas umas das outras. Não foi observada reação imune ou inflamatória em nenhum espécime. Os autores afirmaram que, baseado nestes achados, o material se mostrou biocompatível para ser aplicado em alvéolos após a extração.

Puricelli et al. (1999) analisaram o comportamento do polímero poliuretano da mamona implantado em leito subperióstico em ângulos mandibulares de ratos. Vinte *Rattus norvegicus* 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 mortos após 15, 30, 60 e 90 dias pós-operatórios. Ao exame histológico, em cortes corados com Hematoxilina e Eosina, 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, os autores concluíram 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.

Teixeira e Ramalho (1999) avaliaram a neoformação óssea basal da mandíbula de 40 ratos após preparo de um defeito ósseo obtido com fresa cilíndrico-cônica e preenchimento do leito ósseo de 20 ratos do grupo experimental com poliuretano vegetal. 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 mortos e suas mandíbulas removidas e coradas com hematoxilina e eosina para o estudo morfológico sob microscopia óptica. No período de 15 dias, pôde-se notar que o material ocupava o local do defeito ósseo, tendo apenas efeito de preenchimento. Observou-se que não houve reação tecidual. Aos 25 dias, observou-se no grupo experimental, próximo à resina, tecido conjuntivo denso com grande número de fibras colágenas acompanhadas de células do tecido conjuntivo, sem, no entanto, estar presentes células inflamatórias. Aos 40 dias, observou-se a presença de resina e processo de inflamação praticamente inexistente sem formação de cápsula fibrosa. No período de 60 dias, na região que delimitava o osso com a resina, a superfície era lisa e contínua. Havia formação de tecido osteóide, com grande concentração de capilares e ausência de inflamação. Os resultados demonstram grande aceitação orgânica à resina, não ocorrendo formação de cápsula, tampouco migração local de células inflamatórias.

Ainda em 1999, Teixeira e Ramalho estudaram a neoformação óssea basal da mandíbula de 60 ratos, após preparo de um defeito obtido com fresa cilíndrico-cônica, e preenchimento do leito ósseo de 30 ratos do grupo experimental com poliuretano vegetal

acrescida de CaCO_3 (carbonato de cálcio). Para os 30 animais do grupo controle, o defeito ósseo não recebeu nenhum tratamento. Aos 15, 25, 40, 60, 90 e 120 dias após a cirurgia, os animais foram mortos e suas mandíbulas removidas e coradas com hematoxilina e eosina, Picrosírius e tricrômico de Mallory para o estudo morfológico sob microscopia óptica comum e de polarização. No período de 15 dias, o polímero mostrou-se biologicamente compatível ao organismo, visto que não provocou reação tecidual após inserção no defeito ósseo da base da mandíbula. A interface osso/resina era lisa e contínua. Aos 25 dias, a resina apresentava-se fragmentada, com grandes vacúolos preenchidos por matriz orgânica altamente celularizada. Os pequenos fragmentos da resina encontravam-se rodeados por osso na ausência de reação de corpo estranho. Aos 40 dias, havia presença de resina com poros de diversos diâmetros. A interface osso/resina era lisa e contínua. Não havia células inflamatórias, tampouco formação de cápsula fibrosa. O tecido neoformado junto à resina apresentava células cartilaginosas. Aos 60 dias, havia persistência do periósteo e acentuada invasão tecidual nos poros do material, grande concentração de capilares, ausência de células inflamatórias e células multinucleadas ao longo da resina. Nos períodos de 90 e 120 dias do período pós-operatório, os pequenos glóbulos de resina apresentavam-se rodeados por células de reabsorção em meio ao tecido conjuntivo neoformado e notava-se também osso com configuração lamelar associado ao osso imaturo rico em osteócitos. Os resultados demonstraram grande aceitação orgânica à resina, não ocorrendo formação de cápsula, tampouco migração local de células inflamatórias, além de o carbonato funcionar como isca, promovendo neoformação óssea, estimulando o aparecimento das células osteogênicas.

Garcia-Junior (2000) avaliou o processo de reparo ósseo em defeitos cirúrgicos realizados na parede anterior do seio maxilar após osteotomia e colocação de implantes de polietileno poroso de alta densidade - Medpor, poliuretana de mamona (*Ricinus communis*) e matriz óssea desmineralizada bovina. Foram empregados 8 macacos pregos (*Cebus apella*). As análises foram feitas após 145 dias de implantação por meio de avaliações histológicas e histométricas utilizando método de microscopia óptica computadorizada - Imagelab 98. Os resultados mostraram que o reparo ósseo se estabeleceu em 77,24% da superfície de contato com a matriz óssea bovina; 41,31% com o Medpor e 28,24% do polímero da mamona. Houve prevalência de neoformação conjuntiva (58,5%) no grupo sem implantações. O autor afirmou que o melhor comportamento histomorfológico foi da matriz óssea bovina, seguida do polietileno poroso de alta densidade - Medpor e da poliuretana de mamona (*Ricinus communis*), o qual respondeu com intensa fibrose e moderado infiltrado inflamatório crônico tardio.

Calixto et al. (2001) avaliaram a biocompatibilidade de uma resina natural, derivada do óleo de mamona, implantada na cavidade de extração dental de ratos, e a possível interferência do material na cronologia do reparo alveolar. O material foi implantado no alvéolo imediatamente após a extração do incisivo superior direito sendo os ratos mortos 1 a 6 semanas após a extração ou a extração seguida do implante. As hemi-maxilas foram desmineralizadas e processadas para inclusão em parafina e obtenção de cortes semi-seriados, corados pela Hematoxilina e Eosina. Os flocos da resina, de forma irregular e tamanho variável, localizaram-se entre os terços alveolares médio e cervical, os quais inicialmente foram circundados por tecido de granulação seguido pela deposição progressiva de tecido ósseo, freqüentemente interposto pela presença de um tecido conjuntivo, sendo observado em algumas áreas aparente osseointegração direta. Não houve persistência da reação inflamatória, sendo observada pequena quantidade de células gigantes aderidas à superfície do material, em todos os períodos. A análise histométrica (contagem diferencial de pontos) do terço apical mostrou um atraso de 13% a 20% no reparo alveolar dos ratos implantados, com menor neoformação óssea associada a maiores volumes percentuais de tecido conjuntivo e de remanescentes do coágulo sangüíneo.

Cavalieri et al. (2001) realizaram um estudo comparativo das respostas teciduais após a implantação de polímero de mamona, cimento ósseo e resina acrílica termicamente ativada em defeitos ósseos cirúrgicos confeccionados nas tíbias de coelhos, mediante análises macroscópicas por meio da microscopia de luz. Foram utilizados nove coelhos adultos com peso médio de aproximadamente quatro quilos e divididos em quatro grupos: Polímero de Mamona (PM), Cimento ósseo (CO), Resina Acrílica termicamente Ativada (RATA) e Controle. Inicialmente, realizou-se a confecção de dois defeitos ósseos em cada tibia. No lado direito, um defeito foi implantado com polímero de mamona (grupo PM) e o outro com cimento ósseo (grupo CO). No lado esquerdo, um defeito foi implantado com resina acrílica termicamente ativada (grupo RATA) e o outro foi preenchido apenas por coágulo sangüíneo (grupo Controle). Decorridos 30 dias, 60 e 90 dias, três coelhos de cada grupo foram mortos. As peças contendo os defeitos ósseos foram removidas em bloco, fixadas em formol a 10%, processadas e submetidas às análises macroscópica e microscópica. O polímero de mamona, a resina acrílica termicamente ativada e o cimento ósseo foram bem tolerados pelos tecidos hospedeiros nos três períodos avaliados.

Kfuri-Júnior et al. (2001) realizaram um estudo no qual compararam as propriedades mecânicas e o comportamento biológico de dois polímeros distintos, a poliparadioxanona e a poliuretana da mamona. Pinos de aproximadamente 1,3mm de diâmetro foram submetidos a ensaios mecânicos de cisalhamento, nos quais foram analisadas propriedades tais como a carga máxima, carga no limite de proporcionalidade, resistência e rigidez destes implantes. Os resultados foram analisados por meio do teste t de Student não pareado. A superioridade dos pinos de poliparadioxanona foi evidente em todas as propriedades mecânicas estudadas, exceto a rigidez. O comportamento biológico desses pinos foi estudado em coelhos. Submeteram-se 31 animais da raça Nova Zelândia a osteotomia do côndilo femoral medial direito no plano axial. A fixação do segmento osteocondral foi realizada com pinos absorvíveis, sendo os animais diferenciados em dois grandes grupos, de acordo com o polímero utilizado na cirurgia. A eutanásia dos animais ocorreu após 3, 6 e 12 semanas de pós-operatório, quando os espécimes femorais foram submetidos a estudo macroscópico, radiográfico e histológico. Nos diferentes períodos estudados, a poliparadioxanona apresentou comportamento biológico superior ao da poliuretana da mamona no que diz respeito a bioabsorção dos pinos e à osteogênese em seus sítios de implantação.

Bonini et al., em 2002, estudaram a citotoxicidade e a ativação de macrófagos em resposta à poliuretana derivada do óleo da mamona. A suspensão do material-tese na forma mineralizada foi testada em cultura de macrófagos peritoniais obtidos a partir da lavagem intraperitoneal de camundongos isogênicos C57/BL/6. Por meio de análise espectrofotométricas, o material-teste revelou-se não-citotóxico ao interagir com macrófagos peritoniais em cultura e foi constatado que, embora tenha induzido a liberação de NO em níveis relativamente baixos, não ativou macrófagos para a produção de H₂O₂. Portanto, os autores concluíram que a poliuretana derivada do óleo da mamona apresentou um comportamento biocompatível.

Ainda em 2002, Bonini et al. avaliaram o tipo, intensidade e duração da resposta inflamatória induzida pela poliuretana derivada da mamona. A suspensão do material na forma mineralizada foi testada em camundongos isogênicos C57/BL/6. Por meio de microscopia de luz observou-se a migração de leucócitos na cavidade peritoneal da suspensão, a qual revelou, inicialmente, o crescimento e predomínio do número de neutrófilos, e subsequente ao decréscimo destes, o predomínio dos mononucleares. Os autores concluíram que a poliuretana derivada do óleo da mamona apresentou um comportamento favorável à biocompatibilidade.

Ignácio et al. (2002) avaliaram a utilização da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea em coelhos. Foram realizadas, em 18 animais, falhas ósseas com dimensões de 1,0cm de diâmetro por 0,8cm de profundidade nas metáfises distais dos fêmures e proximais das tíbias bilateralmente, que foram preenchidas com a poliuretana da mamona. Todos os animais foram mortos após 3, 6 e 12 meses da cirurgia. Macroscopicamente, ao longo do tempo, observou-se aderência maior dos corpos de prova no interior dos defeitos ósseos, especialmente nos porosos. As avaliações radiográficas evidenciaram aspectos semelhantes aos obtidos pela tomografia computadorizada, com formação de uma linha de menor radiodensidade entre o implante e o tecido ósseo. Os dados obtidos com a microscopia de luz demonstraram a formação de um tecido conjuntivo fibroso na interface osso-poliuretana, que não diminuiu de espessura ao longo do tempo e que penetrou superficialmente nos corpos de prova de maior porosidade, especialmente no maior tempo de evolução. Não foi verificada, histologicamente, a presença de reação tipo corpo estranho ou de células fagocitárias e, na microscopia eletrônica de varredura, não se observaram sinais de irregularidades na superfície da poliuretana em contato com o tecido ósseo, indicativos de reabsorção do material.

Souza et al. (2002) avaliaram a utilização do polímero da mamona em forma de blocos pré-fabricados, como biomaterial nas reconstruções de grandes falhas ósseas decorrentes da ressecção de tumores benignos agressivos e tumores malignos. Foram avaliados 20 pacientes entre 2000 e 2002 com tempo de acompanhamento de 26 e 147 semanas ($78,3 \pm 35,1$ semanas). As falhas ósseas foram reconstruídas com blocos pré-fabricados de polímero de mamona, tendo sido adaptados e fixados ao leito receptor de acordo com a margem e o tipo de ressecção. Foi obtida a seguinte taxa de sucesso: 7 (35%) de resultado excelente, 4 (20%) bons, 4 (20%) regulares e 5 (25%) de falhas. O biopolímero apresentou como vantagens: disponibilidade; baixo custo; ausência de riscos de transmissão de doenças; biocompatível e osteointegrável. O polímero da mamona foi considerado uma alternativa viável para reconstrução de falhas ósseas pós-ressecção de tumores benignos agressivos e malignos.

Barros et al. (2003) avaliaram a biocompatibilidade do poliuretano *Ricinus communis* (RCP), em três composições químicas diferentes, após implantação no tecido ósseo de coelhos. No Grupo I foi avaliado o RCP puro (RCPp), no Grupo II o RCP associado ao carbonato de cálcio (RCP+CaCO₃) e no Grupo III o RCP associado ao fosfato de cálcio [RCP+Ca₃(PO₄)₂]. Doze coelhos machos foram anestesiados e foram implantados 2 cilindros

de RCP em cada fêmur. Após 8, 12 e 16 semanas, os animais foram mortos, os fêmures removidos e submetidos ao processamento histológico. Para avaliação em microscopia de luz e análise histomorfométrica, os cortes foram corados pelo azul de Stevenel's e vermelho de Alizarina. Pela análise microscópica, nos três períodos estudados, foi observado que os cilindros de RCP estavam localizados no sítio de implantação na ausência de resposta inflamatória ou reação de corpo estranho. Após 8 semanas da implantação, havia regeneração do osso cortical ao redor de todos os implantes, sendo este tecido caracterizado por osso maduro. Pela análise histomorfométrica, foi observado que o grupo do RCP associado ao fosfato de cálcio apresentou processo de osseointegração melhorado quando comparado aos grupos do RCP associado ao carbonato de cálcio e RCP puro, nos períodos de 8 e 12 semanas. Por outro lado, no período de 16 semanas, o processo de osseointegração se mostrava semelhante nos grupos do fosfato e carbonato de cálcio e superior ao do RCP puro. Os autores sugeriram que essa resposta foi dose-dependente e baseados na ausência de osteocondutividade do RCP puro, consideraram o mesmo um material bioinerte.

Del Carlo et al. (2003) avaliaram o processo de reparação tecidual e o comportamento do implante de polímero vegetal extraído do óleo de mamona acrescido de 40% de carbonato de sódio, associado ou não à impregnação com medula óssea autógena, em falhas ósseas experimentais em raios de 30 coelhos e em sítio heterotópico em 6 animais. Em 15 coelhos, a falha óssea no rádio direito foi preenchida por cilindros de polímero de mamona (grupo P) com dimensão semelhante à da falha; a falha no rádio direito dos outros coelhos recebeu aspirado de medula óssea autógena junto com o implante (grupo M). A falha óssea no membro esquerdo de cada coelho não recebeu nenhum tratamento e serviu como controle. Os 6 coelhos restantes receberam 6 implantes no músculo reto abdominal (sítio heterotópico), sendo que, em 3 animais, os implantes estavam embebidos em aspirado de medula óssea autógena. No local do implante, em ambos os grupos, foi observado aumento da radiopacidade, sem desvio de eixo ósseo ou reabsorção das extremidades ósseas receptoras. O grupo P apresentou áreas irregulares de calcificação na região periférica e sobre o polímero e o M apresentou um padrão de radiopacidade mais intenso, regular e precoce em relação ao P. Na avaliação histológica, em ambos os grupos, foi observada formação de tecido ósseo imaturo com tendência à organização, brotos isolados de formação de osso novo sobre o polímero em seus poros superficiais e nos poros internos que se comunicavam. Quando foi associado à medula, o implante permitiu a ocorrência de osteocondução e osteogênese progressiva; houve migração de capilares,

tecidos perivasculares e células osteoprogenitoras entre os poros, com tecido fibrovascular invadindo a superfície do implante; a incorporação dos implantes deu-se de maneira lenta e estava incompleta até as nove semanas do estudo; o implante foi biocompatível no período avaliado. Em sítio heterotópico, o implante foi incapaz de osteoindução e histologicamente, em ambos os sítios de implantação foram identificadas células gigantes e tecido fibroso envolvente.

Leonel et al. (2003) avaliaram a utilização de membranas derivadas do óleo de mamona (*Ricinus communis*) para o recobrimento de defeitos ósseos faciais. Para este propósito foram utilizados 15 ratos após a realização de um defeito ósseo cortical na região mandibular de todos os animais. A seguir, uma membrana, fixada por um pino, foi adaptada sobre o defeito ósseo. A membrana e o pino de fixação empregados eram produtos derivados do óleo de mamona. Decorridos períodos de observação de 30, 60 e 90 dias, os animais foram mortos, as peças removidas e submetidas ao processamento histológico de rotina para análise histológica. Os resultados mostraram que a membrana do óleo de mamona levou a formação de um tecido ósseo imaturo, com reabsorção lenta da membrana. Desta forma, os autores concluíram que a membrana derivada do óleo de mamona promoveu a neoformação óssea, atuando como agente osteopromotor.

Ainda em 2003, e considerando a importância do conhecimento da biologia envolvida na cicatrização dos efeitos ósseos, Leonel et al. realizaram outro estudo com o objetivo avaliar a formação do calo ósseo em defeitos preenchidos com o polímero de mamona. Foram utilizados 45 ratos após a criação de um defeito ósseo no arco zigomático dos animais, preenchido pelo polímero de mamona. Decorridos os períodos de 15, 30, 60, 90 e 120 dias, os animais foram mortos, as peças removidas e submetidas ao processamento histológico de rotina para análise histológica. Os resultados mostraram a formação de um discreto calo ósseo. Além disso, o polímero de mamona estava sendo substituído por osso maduro, auxiliando na regeneração dos defeitos criados experimentalmente.

Leonel et al. (2003) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a importância da porosidade interna do polímero de mamona durante a neoformação óssea. Foram utilizados 45 ratos, submetidos a ressecção de um segmento do arco zigomático direito, que foi imediatamente reconstituído pelo polímero de mamona. Após períodos de observação de 15, 30, 60, 90 e 120 dias, os animais foram mortos e os tecidos removidos avaliados por meio de microscopia óptica. Os resultados demonstraram a existência de uma neoformação

tecidual em meio aos poros do polímero em todos os períodos de avaliação. Uma progressiva diminuição no volume do polímero foi observada, à medida que tecido ósseo era formado em substituição ao polímero. Assim, a estrutura interna do polímero de mamona permitiu a neoformação tecidual, que foi favorável a regeneração do efeito ósseo criado experimentalmente.

Ribeiro (2003) avaliou a utilização do implante de poliuretana de mamona no espaço alveolar, após exodontia do terceiro pré-molar inferior em eqüinos por meio de análise clínica, radiográfica e histológica. Foram utilizados oito eqüinos, machos e fêmeas, submetidos a extração do terceiro pré-molar inferior e a preenchimento da cavidade alveolar com a poliuretana de mamona. Foi aplicada uma resina à base de metilmetacrilato na superfície do alvéolo, fixada após a realização do condicionamento ácido nas faces interproximais dos segundo e quarto pré-molares. O tempo médio de cicatrização total da ferida cirúrgica foi de 25 dias e o período de permanência da resina a base de metilmetacrilato foi de 76 dias de pós-operatório. Radiograficamente observou-se proliferação óssea acentuada e aumento da radiopacidade do tecido após 120 dias. O exame histológico do material no interior do alvéolo revelou a presença de tecido ósseo compacto ou trabecular. O autor concluiu que a poliuretana derivada da mamona é inerte e mostrou excelente biocompatibilidade quando implantada no alvéolo de eqüinos.

Leonel et al., em 2004, avaliaram a ação do polímero de mamona durante a neoformação óssea. Com esse objetivo foram utilizados 45 ratos submetidos à ressecção de um segmento ósseo do arco zigomático direito para avaliação do polímero de mamona empregado para a reconstrução do mesmo. Para o preenchimento do defeito ósseo, utilizou-se o 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 foi utilizado um material resinoso, também derivado do óleo de mamona. Decorridos períodos experimentais de 15, 30, 60, 90 e 120 dias, os animais foram mortos e as peças removidas e submetidas ao processamento histológico. A avaliação microscópica dos eventos ocorridos foi realizada de forma descritiva, em microscopia de luz. Os resultados mostraram que o polímero de mamona auxiliou no processo cicatricial. 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 promovia a continuidade com o tecido ósseo do leito receptor e preenchia vários poros do polímero, constituía-se por fibras colágenas neoformadas, fibroblastos, capilares

sangüíneos e alguns macrófagos. Aos 60 dias, a quantidade do polímero encontrava-se reduzida, devido a substituição do mesmo por tecido ósseo neoformado do tipo primário. Os poros do polímero remanescente encontravam-se ainda preenchidos por tecido conjuntivo denso, com alguns macrófagos. 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. No período de 120 dias, alguns fragmentos do polímero podiam ser ainda vistos, em contato direto com o tecido ósseo neoformado do tipo lamelar. Os autores concluíram que o polímero de mamona auxiliou no processo regenerativo do defeito ósseo criado experimentalmente, atuando como um agente osteocondutor.

Popak et al. (2004) avaliaram o efeito da poliuretana de mamona (*Ricinus communis*) aplicada em defeitos produzidos experimentalmente na porção proximal medial da tíbia de cães normais em fase de crescimento. Para isto, foram utilizados 12 cães subdivididos aleatoriamente em 3 grupos de igual número, com mesmo tratamento, nos períodos experimentais de 30 (GI), 60 (GII) e 90 (GIII) dias. O estudo constou de avaliações clínica, radiográfica, macroscópica, histopatológica e tomográfica. Os exames macroscópico, histopatológico e tomográfico das tíbias, foram realizados após a eutanásia dos cães. Após a retirada dos tecidos moles, a avaliação macroscópica foi executada com finalidade de observar o desvio lateral e características dos implantes. O material em seguida foi processado e as lâminas coradas pela Hematoxilina e Eosina e examinadas em microscópio óptico. As tíbias direita e esquerda foram submetidas à tomografia com objetivo de graduar o desvio sofrido, sendo a esquerda o controle. Os ângulos foram aferidos com auxílio de transferidor no corte correspondente ao terço médio das cristas. Os dados obtidos por meio da avaliação tomográfica foram submetidos à análise estatística para determinar a significância dos desvios por meio de observações emparelhadas (teste T pareado). A avaliação clínica demonstrou não haver rejeição do implante. A análise radiográfica revelou intensa reação periosteal e neoformação óssea no local da implantação. Macroscopicamente observou-se espessamento da crista tibial, neoformação óssea e desvio lateral da crista. Os achados à microscopia óptica revelaram presença de tecido conjuntivo fibroso ao redor da poliuretana, ausência de proliferação óssea em direção ao implante e proliferação de periosteó na face medial das tíbias. A tomografia computadorizada revelou desvio lateral da crista em 11 animais.

Boeck-Neto et al. (2005) avaliaram o fosfato de cálcio e o polímero da mamona (*Ricinus communis*) associados ao osso autógeno no processo de regeneração óssea, quando utilizados como material para enxerto em casos de levantamento de seio maxilar. O enxerto foi colocado no assoalho do seio maxilar, sendo estabelecida a proporção de 1:2 de osso autógeno para o fosfato de cálcio e para o polímero da mamona. Dez meses após a realização do procedimento cirúrgico, foram realizadas biópsias, em 10 indivíduos, com idade média de 45 anos. As peças obtidas foram submetidas ao processamento histológico e coradas pela Hematoxilina e Eosina. Por meio da análise histomorfométrica, foi observada regeneração óssea satisfatória nos dois grupos avaliados, sendo a média de formação de tecido ósseo na área do enxerto de $44,24 \pm 13,79\%$ para o grupo do fosfato de cálcio e $38,77 \pm 12,85\%$ para o grupo do polímero da mamona. Pela análise microscópica, foi observada presença de um infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear que, na maioria dos casos, não foi significativo. Os autores concluíram que os materiais para enxerto associados ao osso autógeno foram biocompatíveis, embora ambos estivessem presentes no sítio de aplicação após 10 meses.

PROPOSIÇÃO

O

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi a análise da interface entre o implante derivado do polímero da mamoma (*Ricinus communis*) com o canal medular ósseo, por meio dos estudos de diagnósticos por imagem (radiografias simples e tomografias computadorizadas) e análise histológica (microscopia de luz), em coelhos.

MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

Após aprovação do projeto de pesquisa pela Comissão de Ética no Uso de Animais, processo nº 06.1.343.53.3, foram selecionados 44 coelhos machos *Oryctolagus cuniculus*, da linhagem Nova Zelândia, albinos, de 8 a 10 semanas, pesando aproximadamente 2,5 kilogramas fornecidos pelo Biotério Geral da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Durante toda a experimentação, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, no laboratório da Disciplina de Bioengenharia, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em condições ambientais de temperatura, nível de ruído e luminosidade apropriados e tratados com ração padronizada e água *ad libitum*.

Os animais selecionados foram divididos em grupos, sendo o Grupo 1, composto por 12 animais controle, cujas fresagens do canal medular foram produzidas bilateralmente nas tíbias e não preenchidas e, o Grupo 2, com 30 animais, cujos canais medulares da tíbia, após fresagem, foram preenchidos bilateralmente com os cilindros derivados da poliuretana da mamona.

Os 30 animais do Grupo 2 foram divididos aleatoriamente em 3 subgrupos experimentais (G_{2a} , G_{2b} e G_{2c}), conforme as datas de eutanásia pré-determinadas em 90, 120, 150 dias após o ato operatório. O mesmo foi feito no grupo controle, com mesma data de eutanásia, sendo realizadas em 3 grupos de 4 animais.

Um animal não foi submetido ao procedimento de fresagem, sendo utilizado para controle histológico e outro foi sacrificado após o implante do polímero, sendo utilizado para controle do estudo com tomografia computadorizada. Os grupos experimentais encontram-se descritos na tabela, a seguir:

Tabela 1 – Distribuição dos grupos experimentais, variáveis e número de animais para cada grupo experimental

Grupo	Variáveis	Número de animais
G _{1a}	Controle - morte aos 90 dias	4
G _{1b}	Controle - morte aos 120 dias	4
G _{1c}	Controle - morte aos 150 dias	4
G _{2a}	Experimental - morte aos 90 dias	10
G _{2b}	Experimental - morte aos 120 dias	10
G _{2c}	Experimental - morte aos 150 dias	10
G ₃	Não submetido à fresagem	1
G ₄	Morto após implante – utilizado para estudo da tomografia computadorizada	1

MÉTODO

Inicialmente para punção foi utilizada a veia marginal da orelha, com agulhas siliconizadas, de paredes ultrafinas e bisel curto trifacetado ("butterfly") nº21. Foi efetuada anestesia geral, por via endovenosa, com nembutal sódico¹, na dosagem de 25 mg / Kg de peso e quando necessário foi realizada a suplementação anestésica, com o mesmo medicamento. A seguir, o animal foi posicionado na mesa operatória na posição de decúbito ventral, efetuada a tricotomia dos joelhos direito e esquerdo e realizada a anti-sepsia com álcool iodado². O campo cirúrgico em ambos os joelhos possuía uma fenestração nas áreas a serem operadas. Todo o instrumental utilizado foi previamente autoclavado à 120°C por 20 minutos e montados em campos cirúrgicos esterilizados.

Foi selecionado para a colocação do implante o canal medular da tíbia, por ser o mesmo mais retilíneo do que o fêmur e por apresentar via de acesso tecnicamente menos invasiva.

O polímero, derivado da mamona, em forma de uma haste cilíndrica, foi introduzido na face extensora do joelho no plano de dissecação medial ao tendão patelar, para exposição da tíbia do coelho, na sua porção extra articular, próximo a inserção deste tendão. A poliuretana avaliada neste estudo era derivada de um poliéster sintetizado a partir de óleo de mamona e difenilmetanodiisocianato, composto por: carbonato de cálcio que apresenta a finalidade de aumentar o volume da mistura e permite a formação de poros; pré-polímero rico em NCO livre, derivado do difenilmetanodiisocianato e poliol poliéster; e poliol derivado do polímero poliuretano do óleo da mamona.

O acesso à tíbia foi realizado inicialmente por meio de uma incisão superficial de aproximadamente 1,5 centímetros, utilizando uma lâmina de bisturi número 15³ na face ventral e medial do joelho, próxima à inserção do tendão patelar, seguido pela exposição do tendão, e afastamento do mesmo lateralmente, com o objetivo de possibilitar a exposição da face extraarticular proximal medial da tíbia.

Para acesso ao canal medular foi iniciada a perfuração da tíbia utilizando uma broca de 2 mm, com um motor elétrico sendo a mesma a seguir, introduzida por todo o canal medular da tíbia, com o auxílio de uma chave em "T" com mandril, desde a epífise proximal até a distal.

Com o objetivo de prevenir a lesão celular por calor, provocada pela alta rotação da broca não foi utilizado o motor. Após a viabilização do canal medular da tíbia, foi introduzido um cilindro de poliuretano com carbonato de cálcio⁴ esterilizados com óxido de etileno⁵ sem ultrapassar a epífise distal da tíbia. As hastes cilíndricas de poliuretana com carbonato de

¹ Becton Dickinson In Cir. Ltda.

² Marcos Pedrilson Prod. Hosp. Ltda.

³ Feather Safety Co. Ltda.

⁴ GOATP – IWSC - USP

⁵ OximedTec. em Esterilização Ltda.

cálcio foram fornecidos pelo Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, os quais possuíam 2 mm de espessura e preenchiam assim toda a extensão do canal medular. As hastes cilíndricas foram cortadas de acordo com o tamanho em extensão do canal medular, o qual possuía em média 11 centímetros, ficando os mesmos justamente sepultados no canal medular ao orifício de entrada.

A seguir, foi realizada a sutura da incisão com fio monofilamento 4-0 e a limpeza com soro fisiológico, deixando-a descoberta e sem qualquer tipo de imobilização. Os animais foram examinados semanalmente, por meio da palpação dos locais cirúrgicos, da manipulação das articulações dos joelhos, visando identificar o estado das feridas cirúrgicas, para a identificação dos sinais inflamatórios ou da deiscência da sutura, do recuo dos materiais implantados ou de outras restrições.

Decorridos os períodos experimentais, os animais foram mortos, com a utilização do mesmo anestésico utilizado durante o ato operatório, por via endovenosa, com dose letal de acordo com o peso do animal, sendo monitorizados os batimentos cardíacos com estetoscópio, até a parada cardiorespiratória.

LISTA DE FIGURAS

Fig. 01: Planejamento da incisão no joelho do coelho;

Fig. 02: Incisão e exposição do tendão patelar;

Fig. 03: Exposição da tuberosidade da tíbia;

Fig. 04: Perfuração com broca, com protetor para não lesar o tendão patelar;

Fig. 05: Exposição da broca;

Fig. 06: Introdução de toda broca no canal medular, tornando-o permeável;

Fig. 07: Fio metálico utilizado para identificar o comprimento da tíbia do coelho;

Fig. 08: Introdução da haste de polímero da mamona;

Fig. 09: Sutura do tendão patelar.

4.1 Exame Radiográfico e Tomográfico

Após as cirurgias, foram feitas as radiografias das tíbias direitas e esquerdas dos coelhos, ainda sob efeito anestésico, para a verificação do posicionamento dos implantes, com o objetivo de avaliar a presença de falsos trajetos ou fraturas. O exame radiográfico foi realizado com aparelho Unimax (Siemens), com 48 kVp, 10 mA e 0.1 segundo de exposição com a ampola a uma distancia de 1,0 metro do animal, em projeção antero-posterior, com a intenção de documentar o posicionamento intramedular da haste de polímero. Foi utilizado o filme R.H.S. (SAKURA) 18x24 e "écran" sendo a revelação realizada com processador RP – X Omat da Kodak.

Foram efetuadas novas radiografias após a morte dos animais e realizada a desarticulação das tíbias ao nível do joelho e tornozelo e a remoção cuidadosa das partes moles.

Após a eutanásia, foram realizados cortes tomográficos axiais de 1 milímetro de espessura com 1 milímetro de espaçamento entre os cortes. Para cada tíbia foram obtidos dois cortes contíguos na metáfise proximal, quatro cortes contíguos no terço médio da diáfise e dois cortes contíguos na metáfise distal.

Os exames tomográficos foram realizados em equipamento de tomografia computadorizada modelo Sytec Synergy GE medical Systems 1999, com software versão 3.5 A, a técnica padronizada para este estudo utilizou 120 kv e 60 mA, com FOV (field of view) de 23,4 centímetros.

4.2 Colheita do Material para Análise

Como área para estudo, foi escolhida a diáfise das tíbias nas suas porções centrais. Após a medição do tamanho das tíbias, foram efetuadas ressecções de 1,0 centímetro nas diáfises tibiais nas suas porções centrais, com a utilização de um disco diamantado para osteotomia, com fluxo de água contínuo, para evitar o aquecimento das peças.

Optou-se por esta área por ser mais estável do ponto de vista celular, uma vez que nas epífises há uma intensa atividade celular em animais em crescimento, o que poderia prejudicar o estudo da relação osso/ poliuretano.

4.3 Técnica Histológica

As peças foram colocadas em frascos previamente identificados pelo número dos coelhos, tempo de implante e o lado da tíbia (direita ou esquerda), e submetidas à fixação

MÉTODO

em solução à base de glutaraldeído, sacarose e cacodilato, por 24 horas, a temperatura ambiente.

Posteriormente, as peças foram imersas em um recipiente de vidro contendo uma solução à base de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) composta de EDTA (93,05 g – EDTA Disodium Salt Dihydrate – Merck — Darmstadt Alemanha), glutaraldeído a 25% (20 mL – Glutaraldehyde 25% Aqueous Solution[®] – Mallinckrodt Chemicals – Phillipsburg – EUA), cacodilato de sódio 98% - solução tamponada pH 7,4 (280 mL – Sigma[®] Cacodylic acid – Sigma – St. Louis – EUA), água destilada (200 mL) e hidróxido de sódio 0,1 N (Hidróxido de Sódio p.a.[®] – Casa da Química Ind. e Com. Ltda – Diadema – Brasil) e submetidas a desmineralização, acelerada pelo forno microondas (Sharp Carousel[®] – São Paulo – Brasil). Para a realização deste procedimento, o recipiente contendo as peças foi parcialmente imerso em outro recipiente de vidro contendo água e gelo, com o objetivo de retardar o aumento da temperatura e, conseqüentemente, incrementar o tempo de ação das microondas. O forno de microondas operou na frequência de trabalho de 2450 MHz, correspondendo a uma frequência de onda no vácuo de 12,2 cm, potência máxima nominal de 700 W, regulado em potência média/máxima à temperatura de 30°C para evitar alterações teciduais. As peças foram irradiadas por 10 minutos, com intervalos de 5 minutos entre as irradiações, por um período de 4 horas/dia. A cada 6 irradiações, as peças foram lavadas com solução tampão de cacodilato de sódio a 98% tamponado, pH 7,4, e renovada a solução à base de EDTA. No intervalo entre os dias, o material permaneceu na solução desmineralizadora sem agitação, à temperatura ambiente.

Cabe ressaltar, que o EDTA que nos recentes anos é o principal substituto para o ácido orgânico, na descalcificação de tecido ósseo, em muitos dos laboratórios histológicos, não incita reações proteolíticas (van de Putte e Marshall, 1965).

A completa desmineralização das amostras, avaliada por meio da penetração de uma agulha nos tecidos para verificação da sua consistência e por meio de exame radiográfico das peças, foi obtida em aproximadamente 21 dias. Concluída a desmineralização, as peças foram neutralizadas em solução de sulfato de sódio a 5% (Sulfato de Sódio Anhido – J.T.Baker – Xalostoc – México) por 24 horas, lavadas em água corrente por 24 horas, desidratadas em concentrações crescentes de álcool (Álcool Etílico Absoluto Anhidro[®] - J.T. Baker – Xalostoc – México), diafanizadas em xilol (Xylol[®] - Merck – Darmstadt – Alemanha) e incluídas em parafina (Histosec[®] Pastillen – Merck – Darmstadt – Alemanha), de acordo com a rotina histológica.

A peça escolhida para análise foi feita de forma aleatória por sorteio, sendo que desta forma analisou-se somente a peça do lado direito ou esquerdo do mesmo coelho, conforme o lado sorteado.

A sequência da análise dos coelhos em cada grupo também foi realizada de forma aleatória e por sorteio.

Os blocos contendo as peças ósseas foram reduzidos pelos cortes seriados com espessura de 06 um. Para análise histológica, os cortes foram corados pela Hematoxilina e Eosina, para uma visão geral da morfologia celular e pelo Tricrômico de Mallory, para a análise da substância intercelular das fibras colágenas, da presença dos componentes celulares, da formação do osteóide e da mineralização, e pelo método de Brown e Brenn para evidenciar se há presença de bactérias nas peças.

4.4 Análise Histológica

A análise histológica foi realizada subjetivamente em microscópio óptico⁶, observando-se a presença ou não de um processo inflamatório, tipo e grau do mesmo quando presente, de uma cápsula fibrosa envolvendo o material implantado e da sequência biológica envolvida no reparo do tecido ósseo.

A sequência biológica do reparo do tecido ósseo foi baseada na verificação dos seguintes acontecimentos: 1) Calo ósseo; 2) Neoformação vascular; 3) Neoformação óssea (com a determinação dos elementos celulares envolvidos e da formação do ósteon); 4) Tecido ósseo imaturo; 5) Tecido ósseo maduro; 6) Linha reversa óssea.

⁶ Microscópio Óptico Zeiss Modelo Jenaval

RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Resultados Histopatológicos

Grupo Experimental - Período de 90 dias

Aos 90 dias, a parede óssea interna do canal medular e a interface com o polímero apresentou espessa camada de tecido ósseo neoformado, rico em osteócitos, constituindo um novo sistema fundamental externo e outro sistema fundamental aderido ao osso receptor, formando uma linha reversa de crescimento.

Este tecido encontrava-se em processo de amadurecimento considerando que as lamelas de fibras colágenas estavam se organizando de forma circular a fim de constituírem o sistema de Havers, em cuja luz há ocorrência de tecido mole e presença de vasos sanguíneos.

Figura 10 (TM)

A análise do material corado pela hematoxilina-eosina mostrou nitidamente a linha reversa que separa o osso novo do osso do leito receptor. Esta linha tortuosa fortemente corada delimitava o osso neo formado, que ao longo da superfície interna do canal medular apresentava espessuras diferentes.

Figuras 11e 12 (HE)

Também a superfície óssea do canal medular em alguns locais apresenta-se irregular com saliências e reentrâncias.

Figura 13 (HE)

Nas porções em que o osso neoformado apresentava uma estreita faixa, esta apresentava inúmeros osteócitos, rodeados por matriz cujas fibras colágenas eram paralelas formando um osso do tipo primário.

Figura 14 (HE)

Em alguns locais esparsos da superfície óssea do canal medular, ocorreu uma concentração de células mononucleadas, que muitas vezes preenchia as reentrâncias do tecido ósseo.

Figura 15 (HE)

Pela análise do Tricrômico de Mallory, pode-se observar os diferentes níveis de mineralização do osso neoformado por meio da coloração alaranjada e azulada das fibras colágenas.

Figuras 16 e 17 (TM)

Presença de células recobrindo a superfície óssea interna.

Figura 18 (HE)

Ocorreu com certa frequência a presença do canal de Volkmann unindo o osso neoformado com o osso do leito receptor.

Figura 19 (TM)

Canal de Volkmann visto pela coloração pela Hematoxilina e Eosina.

Figura 20 (HE)

Presença de osso maduro secundário em locais isolados do canal medular. Pela Hematoxilina e Eosina, o osso neoformado, aos 90 dias, tem um grau de coloração muito mais acentuado que a coloração do osso do leito receptor.

Figuras 21 e 22 (HE)

Visão geral da parede óssea interna do canal medular com a imagem negativa do implante.

Figura 23 (HE)

Neoformação óssea na parede interna do canal medular.

Figura 24 (TM)

Neoformação óssea na parede interna do canal medular.

Figura 25 (TM)

Neoformação óssea na camada interna visualizada pela técnica de coloração Tricrômico de Mallory.

Figura 26 (TM)

Grupo Experimental - Período 120 dias

Neste período de 120 dias, a superfície interna do osso neoformado encontrou-se em franco processo de amadurecimento, onde se visualizaram poucos osteócitos no interior da matriz e a organização das fibras colágenas em lamelas concêntricas, aos Canais de Havers.

Figura 27 (TM)

Observa-se a formação das lamelas concêntricas ao redor de um amplo canal de Havers, pela coloração de Tricômico de Mallory.

Figura 28 (TM)

Ocorre a presença de lamelas concêntricas e amplos canais de Havers muito próximos do canal medular.

Figura 29 (HE)

A observação pelo Tricômico de Mallory mostra muito bem a ocorrência do processo de amadurecimento ósseo por meio da formação das lamelas concêntricas na superfície interna do canal medular.

Figura 30 (TM)

Ainda persiste a presença de leucócitos no interior do canal medular (reação inflamatória).

Figura 31 (HE)

O osso neoformado em franco processo de amadurecimento com organização das fibras colágenas.

Figura 32 (HE)

Superfície óssea interna revestida por compacta óssea interna mostrando fibras paralelas, constituindo o chamado sistema fundamental interno. Não se nota a presença de linha reversa de crescimento.

Figura 33 (HE)

Pelo Tricômico de Mallory observam-se as lamelas concêntricas bem organizadas, com os osteócitos situados ao redor do canal de Havers como também a presença dos canais de Volkmann.

Figuras 34 e 35 (TM)

Pode-se observar em alguns pontos da superfície óssea interna a ausência do sistema fundamental interno, sendo o revestimento constituído por lamelas concêntricas. Salienta-se que o sistema fundamental interno possui numerosos osteócitos, preenchendo as lacunas e sendo todos paralelos uns aos outros. Pelo Tricômico de Mallory observa-se a íntima adesão entre as lamelas concêntricas e o sistema fundamental interno.

Figuras 36 e 37 (HE)

Grupo Experimental - Período de 150 dias

Neste período ocorreu uma diminuição de osteócitos no sistema fundamental interno, apresentando-se distantes uns dos outros, em formação paralela.

Figuras 38 e 39 (TM)

Restante do osso formado por lamelas concêntricas bem organizadas.

Figura 40 (TM)

Pela Hematoxilina e Eosina, observa-se que os poucos osteócitos localizados no sistema fundamental interno preenchem a lacuna como um todo.

Figura 41(HE)

Grupo Controle – Período de 90 dias

Aos 90 dias, observa-se o osso neoformado revestindo a parede do canal medular é rico em osteoblastos.

Figura 42 (HE)

Alinhados na superfície interna junto a medula óssea, no interior da matriz, inúmeros nichos, ocupados pelos osteócitos.

Figura 43 (HE)

Espaços medulares que constituem os canais de Havers, com diâmetros irregulares, preenchidos por tecido conjuntivo, frouxo e vaso sanguíneo.

Figura 44 (HE)

Osso neoformado junto ao canal medular do tipo alamelar.

Figura 45 (HE)

A análise pelo Tricrômico de Mallory mostra a ocorrência da superfície óssea irregular junto à medula, com pequenos canais preenchidos por tecido conjuntivo.

Figura 46 (TM)

O tecido neoformado junto à superfície medular com grau de amadurecimento das fibras colágenas menor que o tecido ósseo localizado à distancia.

Figura 47 (TM)

Grupo Controle – Período de 120 dias

A superfície interna junto ao canal medular encontrava-se revestida pelos osteoblastos, seguida de faixa de tecido ósseo, com poucas lacunas preenchidas por osteócitos e presença da linha reversa de crescimento, limitando o osso lamelar de Havers, com diâmetros homogêneos.

Os canais de Havers são preenchidos por vasos sangüíneos.

Fica evidente o grau de amadurecimento do tecido da superfície interna medular para o interior, sendo que na superfície interna o osso é alamelar, constituído por fibras, colágenos menos amadurecidos que o osso lamelar da porção óssea mais interna.

Figura 48 (HE) e figura 49 (TM)

Grupo Controle – Período de 150 dias

A análise pela Hematoxilina e Eosina mostra a presença do osso lamelar, desde a porção interna junto ao canal medular até o corpo da tíbia. As lamelas são concêntricas aos canais de Havers, com diâmetros homogêneos preenchidos por vasos sanguíneos.

Os osteocitos são numerosos e ocupam as lacunas de Howship

Figura 50 (HE)

Na análise pelo Tricomico de Mallory, as fibras colágenas formam lamelas concêntricas aos canais de Havers, que se encontram rodeados por osteócitos, que se apresentam altamente ramificados.

(Figura 51 (TM))

Pelo método de coloração Brown e Brenn não foram encontradas bactérias no material examinado tanto no Grupo controle, como no experimental.

4.2 Resultados Radiográficos e Tomográficos

Grupo Experimental

A avaliação por radiografias simples não demonstrou ser um método eficaz para identificar a interação do polímero e o tecido ósseo.

As radiografias simples foram realizadas em projeção Antero-posterior e permitiram basicamente documentar o posicionamento intramedular correto das hastes de polímero. Não foram identificadas violações da cortical óssea, pelos implantes.

Entretanto, esta interação foi identificada por meio de tomografias computadorizadas, que foram avaliadas por um médico radiologista com experiência na leitura destes exames no sistema músculo-esquelético.

As imagens obtidas mostraram o implante de polímero em posição intramedular. O implante foi bem individualizado nas imagens e identificado em cada um dos cortes como pequena estrutura circular homogênea mais densa do que a medula óssea e menos densa do que a cortical óssea. Nos grupos de animais sacrificados após 90, 120 e 150 dias após a cirurgia do implante, as imagens tomográficas não demonstraram alterações significativas na interface implante/medula óssea. A densidade dos tecidos medida junto a esta interface foi igual à densidade das demais porções da medula óssea. Os limites entre o implante (polímero) e a cavidade medular são mal definidos nas imagens de tomografia computadorizada. Não foram observadas imagens hipertransparentes na transição entre o implante e a medula óssea. Também não foram observadas variações significativas no aspecto tomográfico comparando-se os três grupos.

Na interface polímero/canal medular evidenciou-se preenchimento do espaço por tecido ósseo. Não há sinais de reabsorção óssea ao redor do implante, observados na imagem de tomografia computadorizada, nos grupos de 90, 120 e 150 dias.

No caso do animal sacrificado no mesmo dia da colocação do implante, as imagens de tomografia mostraram coleção com densidade gasosa entre o implante e a medula óssea, provavelmente correspondendo a preenchimento do espaço residual entre o implante e o canal da fresagem por ar no intra-operatório.

As imagens do animal sacrificado sem implante serviram de controle e mostraram a densidade habitual dos ossos cortical e esponjoso da tibia.

Figura 52 – Radiografia das tíbias dos coelhos com polímero implantado com 03 meses.

Figura 53 – Radiografia das tíbias dos coelhos com polímero implantado com 04 meses.

Figura 54 – Radiografia das tíbias dos coelhos com polímero implantado com 05 meses.

Figura 55 – Tomografia Computadorizada demonstrando os cortes que foram realizados.

Figura 56 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com sua anatomia preservada e como forma de controle.

Figura 57 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, sem implante na diáfise, com fresagem do canal medular.

Figura 58 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na diáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado no mesmo dia da cirurgia.

Figura 59 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na metáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado no mesmo dia da cirurgia.

Figura 60 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na diáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado após 90 dias da cirurgia.

Figura 61 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na metáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado após 90 dias da cirurgia.

Figura 62 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na diáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado após 120 dias da cirurgia.

Figura 63 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na metáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado após 120 dias da cirurgia.

Figura 64 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na diáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado após 150 dias da cirurgia.

Figura 65 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na diáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado após 150 dias da cirurgia.

Figura 66 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na metáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado após 150 dias da cirurgia.

Figura 67 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na metáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado após 150 dias da cirurgia.

Figura 68 – Tomografia Computadorizada onde se evidencia o canal medular da tíbia, com implante na metáfise, sendo que o sacrifício do animal fora realizado após 150 dias da cirurgia.

Figura 69 – Tomografia Computadorizada comparando-se o sacrifício com implante após a cirurgia e depois de 150 dias.

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

6.1 Resultados Histopatológicos

Segundo William (1987), os polímeros são a classe mais versátil de biomateriais, sendo extensivamente aplicados na Medicina e Biotecnologia. Comparados com outros tipos de biomateriais, como os metais e as cerâmicas, os polímeros apresentam como vantagem o fato de poderem ser preparados em diferentes composições, estruturas e propriedades (Barros et al., 2003).

A biocompatibilidade do polímero da mamona tem sido evidenciada em inúmeros estudos, quando empregada como material para enxerto/ implantes ósseos (Barros et al., 2003) e em implantes em alvéolos de animais após extração dental (Lamano-Carvalho et al., 1997; König Júnior et al., 1999), fato este também evidenciado por nós.

No entanto, a fim de avaliar se o polímero da mamona poderia ser indicado também para fixação óssea, o objetivo do presente estudo foi avaliar, pela primeira vez, a interface entre esse material e o canal ósseo medular.

Os polímeros emergiam como materiais para implantes biológicos na cirurgia ortopédica, neurocirurgia e otorrinolaringologia em função de suas propriedades biológicas e química. Têm sido avaliados, também, na área odontológica, como substituto ósseo e sob a forma de membranas em cirurgias para regeneração óssea (Carvalho et al., 1997).

Com relação à composição, a poliuretana avaliada neste estudo foi sintetizada a partir de um poliol poliéster sintetizado a partir de óleo de mamona, um pré-polímero derivado do difenilmetanodiisocianato e carbonato de cálcio. A adição do carbonato de cálcio confere melhor padrão de resistência e elasticidade, em relação ao tecido ósseo (Claro-Neto, 1997). Além disso, a associação com o carbonato de cálcio tem a função de fornecer íons cálcio, facilitando a troca iônica na interface de contato osso/polímero, com depósito desses íons na matriz colágena (Kharmandayans, 1997).

O carbonato de cálcio quando em contato com o sangue estimula a resposta orgânica, conduzindo a uma reação química de liberação de íons cálcio e CO₂ (Chierice, 1994).

A fórmula molecular da poliuretana derivada do óleo de mamona é de fácil processamento e formulação, apresenta versatilidade de temperatura de cura e controle de pico exotérmico na transição de pico líquido-azul, além de excelentes propriedades estruturais, ausência de emissão de vapores tóxicos, baixo custo e é biodegradável (Ignácio

et al., 1997).

Neste estudo, optou-se pela utilização de hastes de poliuretana contendo carbonato de cálcio, em função da facilidade de inserção no canal medular da tíbia de coelhos. Além disso, de acordo com Chierice (1994), este polímero tem uma reação exotérmica de 42 a 45 graus. Embora tal reação não ocasione lesão celular térmica, neste estudo foi utilizado o material polimerizado, a fim de evitar qualquer geração de calor.

Estudos recentes têm evidenciado resultados promissores com o uso dessa resina poliuretana de origem vegetal derivada do óleo de mamona, com possibilidade de aplicação em Ortopedia e Cirurgia Plástica. Implantes de diferentes tamanhos e formas têm se mostrado biocompatíveis, em estudos realizados com diferentes modelos experimentais como no interior de ossos longos e intra-articulares em coelhos (Ignácio et al., 1997; Ohara et al., 1995) e ratos (Magro-Filho et al., 1998), na câmara anterior do olho de camundongos (Vilarinho e Hetem, 1996), no tecido de ratos após extração dental (Lamano-Carvalho et al., 1997; Calixto et al., 2001). Entretanto, em nenhum trabalho, foi relatada a reação induzida por esse material quando utilizado no interior do canal medular da tíbia de coelhos.

Os resultados obtidos nos grupos experimentais (G2a, G2b e G2c), onde se empregou o polímero da mamona nos períodos de 90, 120 e 150 dias, evidenciaram um processo evolutivo de reparação tecidual, entre a haste derivada do polímero da mamona e o canal medular. No período de 90 dias, observou-se espessa camada de tecido ósseo rico em osteócitos, tecido em processo de amadurecimento e fibras colágenas em organização, com linha reversa nítida delimitando o osso neoformado. No período de 120 dias observou-se franco processo de amadurecimento e organização das fibras colágenas, com reparação completa aos 150 dias. À semelhança dos relatos de Lamano-Carvalho et al. (1997), não foi observada reação do tipo corpo estranho com presença de células gigantes. A proliferação fibroblástica foi substituída por lamelas ósseas, envolvendo a haste de polímero sendo evidenciado, a presença de osso neoformado na interface polímero/ canal medular.

Nos períodos finais desse estudo (150 dias), observou-se que o polímero sofreu osteointegração que, de acordo com Lamano-Carvalho et al. (1997) é definida como uma correção direta funcional e estrutural entre o tecido ósseo organizado e o material implantado.

Este tipo de osseointegração direta (contato direto do material com o tecido ósseo é a ideal, tendo em vista que uma integração indireta ou fibro-óssea) (LeGeros e Craig, 1993) é aceitável apenas nos estágios de implantação, por ser desfavorável à estabilidade do implante ou material de fixação, a longo prazo.

Os resultados do grupo experimental, no presente estudo, são concordados com os

de Frascino (1998), que observou incorporação dos implantes polímeros com tecido ósseo após 24 semanas (aproximadamente 150 dias).

6.2 Resultados Radiográficos e Tomográficos

A avaliação das radiografias simples não demonstrou ser um método eficaz na identificação da interação do polímero com o tecido ósseo. Essas radiografias, tomadas em projeção antero-posterior, permitiram basicamente a documentação do posicionamento intramedular correto das hastes do polímero, evidenciando que não houve rompimento da cortical óssea, durante a realização do experimento.

Entretanto, esta interação pôde ser identificada por meio das tomografias computadorizadas, não evidenciando alterações significativas na interface implante/medula óssea nos grupos experimentais após 90, 120 e 150 dias). A observação de limites tomográficos mal definidos entre o implante e o canal medular evidencia a boa interação entre ambos demonstrando do ponto de vista tomográfico que houve interação entre o implante de polímero e o osso pois houve desaparecimento das imagens hipertransparentes na transição entre polímero/medula óssea com total preenchimento deste espaço por tecido ósseo neoformado. Não houve evidencia de imagens de coleção gasosa ou líquida ao redor da haste de poliuretana demonstrando assim ausência de sinais de infecção do ponto de vista tomográfica.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Por meio da análise do resultado obtido neste estudo, conclui-se que:

- o polímero da mamona propiciou a formação de tecido osteogênico, o que foi demonstrado histologicamente pela interação do tecido ósseo neoformado com a haste de poliuretana;
- o polímero da mamona induziu o processo de formação de tecido ósseo maduro, dentro do canal medular, ao redor da haste do polímero, interagindo com a mesma;
- o polímero da mamona demonstrou ser um material biocompatível, não apresentando nenhuma reação de corpo estranho.
- As análises tomográficas mostraram interação polímero/osso.
- Os estudos histológicos não evidenciaram nenhum sinal de infecção nas peças analisadas.
- Os princípios de osteoindução e osteocondução foram demonstrados em todos materiais analisados.
- O metabolismo do polímero com substituição por tecido ósseo ficaram evidenciados pelos estudos histológicos e tomográficos, não apresentando reações adversas de produtos de degradação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O homem é filho da natureza e também cria uma nova natureza para sobreviver. Este trabalho criativo tem um nome, História que segundo definição de Marx ("Miséria da Filosofia") **"não é outra coisa senão a transformação contínua da natureza."** Sobre o conceito de História, o papa João Paulo II ("Cruzando o limiar da esperança") lecionava: **"A criação foi entregue e confiada como tarefa do homem para que continua para ele não uma fonte de sofrimento, mas o fundamento de uma existência criativa no mundo."** História seria construir um novo mundo e a ela pertence o trabalho da constante busca da verdade, codificado no campo da Ciência pelo método experimental.

E quando se planeja um estudo, a necessidade inicial, básica, é a revisão da literatura, como um necessário preâmbulo da pesquisa científica.

Foi citada uma série de manifestações vinculadas direta ou indiretamente ao meu trabalho, intitulado "Estudo experimental de implantes derivados da resina poliuretana de mamona (*ricinus communis*), inseridos no canal medular da tíbia de coelhos. Análise da interface osso e implante.

Foi necessária a revisão da literatura para planejar e executar este estudo. A literatura debatendo e descrevendo outras soluções, diversos caminhos, na bibliografia científica, é fonte de certezas, de debates, até de descaminhos quando se aplica o método experimental.

A busca de elementos da matéria biocompatíveis com o organismo humano, diretriz dos estudos, experiências e pesquisas de ponta do Professor Doutor Gilberto Orivaldo Chierice, do Instituto de Química da USP de São Carlos, que agora forma pesquisadores que se propuseram um desafio:- vencer a dificuldade em se encontrar um material que apresente propriedades de biocompatibilidade com o organismo humano, conforme está evidenciado na tese "Caracterizações físico-químicas de um poliuretano derivado de óleo de mamona utilizado para implantes ósseos", do Dr. Salvador Claro Neto, tendo como orientador o Prof. Doutor Gilberto Orivaldo Chierice.

Na qualidade de profissional da área médica, é uma honra fazer parte de um trabalho que busca suprir necessidades do Homem Brasileiro partindo de um planejamento "pés no chão", economicamente realizável; aproveitar a mamona na área da Ortopedia, na recuperação óssea.

Uma literatura sobre um tema científico tem a características de uma mini-enciclopédia. E diante das inter-relações desta listagem, nascem reflexões variadas e "approachs" criativos que firmam as dimensões das pesquisas científicas de elevado pioneirismo.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Albrektsson T. Repair of bone graft. Scand J Plast Surg 1980;14:1-12.
2. Ara CA. Fijación cervical con polímero vegetal. Neurocir 1999;2(3):103-7.
3. Araújo LC. Caracterização química, térmica e mecânica de poliuretanas elastoméricas baseadas em materiais oleoquímicos [dissertação]. São Carlos: Instituto de Física e Química de São Carlos – Universidade de São Paulo; 1992.
4. Baadsgaard K. Defect pseudarthroses: an experimental study on rabbits. Acta Orthop. Scand 1970;40(6):689-95.
5. Boer HH. The history of bone grafts. Clin Orthop 1988;226:292-8.
6. Bohr H, Ravin HO, Werner H. The osteogenic effect of bone transplants in rabbits. J Bone Joint Surg 1968;50:866.
7. Bonini S, Mazzer N, Barbieri CH, Campaneli AP. Resposta inflamatória à poliuretana derivada do óleo de mamona: avaliação da citotoxicidade e ativação de macrófagos em cultura. Rev Odonto Ciênc 2002;17(37):307-17.
8. Bonini S, Mazzer N, Barbieri CH, Lara VS. Resposta inflamatória à poliuretana derivada do óleo de mamona: Estudo da migração e diferenciação de células no sítio inflamatório. Rev Odonto Ciênc 2002;17(35):27-37.
9. Bonini S. Avaliação da resposta inflamatória à poliuretana derivada do óleo de mamona: estudo experimental em camundongos [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo; 1999.
10. Burchardt H. The biology of bone graft repair. Clin Orthopaedics Rel Res 1983;174:28-42.
11. Burwell RG. Studies in the transplantation of bone. Treated composite homograft-autografts of cancellous bone: an analysis of inductive mechanisms in bone transplantation. J Bone Joint Surg Br 1966;48(3):532-66.
12. Carvalho TLL, Teófilo JM, Araújo CA, Brentegani LG. Chronology of alveolar healing following immediate implantation of *Ricinus Communis* polyurethane resin: histometric analysis in rats. J Biomed Mater Res 1997;37(4):449-52.
13. Cavalieri I, Sá-Lima JR, Gomes MF. Estudo do processo de reparação óssea entre os implantes de polímero de mamona, resina acrílica termicamente ativada e cimento ósseo em tíbias de coelhos. BCI 2001;8(29):64-70.
14. Chambers TJ. The pathobiology of the osteoclast. J Clin Pathol 1985;38:241-52.
15. Chierice GO. Pesquisa e desenvolvimento de biomateriais, baseados em poliuretanas derivadas de óleo de mamona. SNM – PADCT II; 1994.

16. Claro-Neto S. Caracterizações físico-químicas de um poliuretano derivado de óleo de mamona para implantes ósseos [tese]. São Carlos: Instituto de Física e Química de São Carlos – Universidade de São Paulo; 1997.
17. Costa CAS, Marcantonio RAC, Hebling J, Teixeira HM, Kuramae M. Biocompatibilidade do polímero de 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;1(1):44-8.
18. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconst Surg* 1988;81:672-6.
19. Del-Carlo RJ, Kawata D, Vitoria MIV, Oliveira DR, Silva AS, Marchesi DR, et al. Polímero derivado de mamona acrescido de cálcio, associado ou não à medula óssea autógena na reparação de falhas ósseas. *Ciênc Rural* 2003;33(6):1081-8.
20. Enneking WF, Eady JL, Burchardt H. Autogenous cortical bone grafts in the construction of segmental skeletal defects. *J Bone Joint Surg* 1980;62:1039.
21. Frascino LF. Implante de resina poliuretana vegetal em cranioplastia: estudo experimental em coelhos [dissertação]. São José do Rio Preto: UNESP; 1998.
22. Garcia-Júnior IR. Utilização dos implantes de polietileno-mrfpor, poliuretana de mamoma e matriz óssea bovina em defeitos ósseos maxilares: análise histológica e histométrica em macacos [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2000.
23. Gepstein R, Weiss RE, Saba K, Hallel T. Bridging large defects in bone by demineralized bone matrix in the form of a powder. *J Bone Joint Surg* 1987;69:984-91.
24. Ignácio H, Mazzer N, Barbieri CH, Chierice GO. Utilização da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães. *Rev Bras Ortop* 2002;37(5):187-94.
25. 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;32:815-21.
26. Ilizarov GA. The tension–stress effect on the genesis and growth of tissues *Clin Orthop* 1989;239:263-85.
27. Jackson IT, Carls F, Bush K, Topf J, Xiao H, Gowda M, Audet B. Assessment and treatment of facial deformity resulting from radiation to orbital area in childhood. *Plast Reconstr Surg* 1996;98:1169-79.
28. Junqueira LC, Carneiro J. *Biologia celular e molecular*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
29. Kaban LB, Glowacki J. Induced osteogenesis in the repair of experimental mandibular defects in rats. *J Dent Res* 1981;60(7):1356-64.

30. Kfuri-Júnior M, Paccola CAJ, Chierice GO, Shimano AC. Comparação entre pinos absorvíveis de poliparadioxanona e de poliuretana da mamona na fixação de segmentos osteocondrais do fêmur distal de coelhos. *Rev Bras Ortop* 2001;36(4):125-31.
31. Korloff B, Nylen B, Rietz K. Bone grafting of skull defects. *Plastic Reconstr Surg* 1973;52:378.
32. Koskinen EV, Ryopoy SA, Lindholm TS. Osteoinduction and osteogenesis in implants of allogeneic bone matrix, influence of somatotropin, thyrotropin, and cortisone. *Clin Orthop Relat Res* 1972;87:116-31.
33. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
34. Lance EM. Some observations on bone graft technology. *Clin Orthop* 1985;200:114-24.
35. LeGeros RZ, Craig RG. Strategies to affect bone remodeling: osteointegration. *J Bone Mineral Res* 1993;8:583-96.
36. Lemons J, Natiella J. Biomaterials, biocompatibility and peri-implant considerations. *Den Clin North Am* 1986;30:3-23.
37. Leonel ECF, Mangilli PD, Ramalho LTOR, Andrade-Sobrinho J. A importância da porosidade interna do polímero de mamona durante a neoformação óssea. Estudo em ratos. *Ciênc Odontol Bras* 2003;6(3):19-25.
38. Leonel ECF, Porciúncula HF, Andrade-Sobrinho J, Oliveira LT, Mangilli PD. A presença do calo ósseo na neoformação óssea promovida pelo polímero de mamona. *Rev Bras Odontol* 2003;60(5):314-7.
39. Leonel ECF, Porciúncula HF, Andrade-Sobrinho J, Ramalho LTO, Castro MS, Mangilli PD. Avaliação da reação óssea após a colocação de membrana e pino derivados do óleo de mamona na mandíbula de ratos. *Rev Paul Odontol* 2003;25(5):12-5.
40. Leonel ECF, Porciúncula HF, Andrade-Sobrinho J, Ramalho LTO, Mangilli PD, Rapoport A. A ação do polímero de mamona durante a neoformação óssea. *Acta Cir Bras* 2004;19(4):304-10.
41. Magro-Filho O, Garcia-Junior IR, Okamoto T. Implante de polímero de mamona em cavidades cirúrgicas experimentais realizadas em tíbia. Estudo histológico em ratos. *Innovations Magazine* 1998;2:10-4.
42. Marchant RE, Anderson JM, Phua K, Hiltner A. In vivo biocompatibility studies. II Biomer. Preriminary cell adhesion and surface characterization studies. *J Biom Mater Res* 1984;18:309-15.
43. Marx RE, Kline SN, Johnson RP, Malinin TI, Matthews JG, Bethesda VG. The use of freeze-dried allogeneic bone in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Surg* 1981;39:264-74.

44. Maxian SH, Zawadsky JP, Dunn MG. Effect of Ca/P coating resorption and surgical fit on the bone/implant interface. *J Biomed Mater Res* 1994;28(11):1311-9.
45. Miller TA, Ishida KB, Kobayashi M, Wollman JS, Turk AE, Ralph HE. The induction of bone by an osteogenic protein and the conduction of bone by porous hydroxyapatite: a laboratory study in rabbit. *Plast Reconst Surg* 1991;87(1):87-95.
46. Nade S, Burwell RG. Decalcified bone as a substrate for osteogenesis: an appraisal of the interrelation of bone and marrow in combined grafts. *J Bone Joint Surg* 1977;59:189.
47. Nilsson OS, Urist MR, Dawson EG, Schmalzried TP, Finerman GAM. Bone repair induced by bone morphogenetic protein in ulnar defects in dogs. *J Bone Joint Surg* 1986;68(B):635-42.
48. Nolan PC, Nicholas RM, Mulholland BJ, Mollan RAB, Wilson DJ. Culture of human osteoblasts on demineralized bone: possible means of graft enhancement. *J Bone Joint Surg* 1992;74(B):284-6.
49. Ohara GH, Kojima KE, Rossi JC, Telles M, Soares TUC, Salomão C. Estudo experimental da biocompatibilidade do polímero da mamona implantada intraóssea e intra-articular em coelhos. *Acta Ortop Bras* 1995;3(2):62-8.
50. Parrish FF. Treatment of bone tumors by total excision and replacement with massive autologous and homologous grafts. *J Bone Joint Surg* 1966;48:968.
51. Pogrel MA, Podlesh S, Anthony JP, Alexander JA. Comparison of vascularized and nonvascularized bone grafts for reconstruction of mandibular continuity defects. *J Oral Maxillofac Surg* 1997;55:1200-6.
52. Popak MP, Padilha-Filho JG, Canola JC, Castro MB. Poliuretano de mamona (*Ricinus communis*) para desvio da crista tibial no cão. *Cienc Rural* 2004;34(3):821-7.
53. Puranen J. Reorganization of fresh and preserved bone transplants: an experimental study in rabbits using tetracycline labelling. *Acta Orthop Scand* 1966;92:1-75.
54. Puricelli E, Baraldi CE, Ponzoni D, Peschke R. Estudo histológico do polímero poliuretano da mamona implantado no ângulo mandibular de ratos. *Rev Fac Odontol Porto Alegre* 1999;40(1):37-40.
55. Ray RD, Holloway JA. Bone repair. *J Bone Joint Surg* 1957;39:1119-28.
56. Ribeiro MG. Avaliação clínica e histológica do implante de poliuretano de mamona (*Ricinus communis*) no espaço alveolar após exodontia do terceiro pré-molar inferior: estudo experimental em eqüinos [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2003.
57. Richter HE, Bethesda VG, Boyne PJ. New concepts in facial bone healing and grafting procedures. *J Oral Surg* 1969;27:557-9.

-
58. Santoni-Rugiu P. Repair of skull defects by outer table osteoperiosteal free grafts. *Plastic Reconstr Surg* 1969;43:157-161.
59. Souza AM, Brandt CT, Lima JA. Biopolímero da mamona na reconstrução de falhas ósseas após ressecção de tumores no esqueleto apendicular. *An Fac Med Univ Fed Pernamb* 2002;47(2):116-23.
60. Taylor GI, Miller GDH, Ham FJ. The free vascularized bone graft: a clinical extension of microvascular techniques. *Plast Rec Surg* 1975;55:533-44.
61. Teixeira HM, Kuramae M, Ramalho LTO. Reação à resina vegetal de mamona com carbonato de cálcio durante o processo de reparo em defeitos ósseos induzidos no corpo da mandíbula. *Rev Odontol UNESP* 1999;28(1):63-72.
62. Teixeira HM, Ramalho LTO. Reação à resina vegetal de mamona durante o processo de reparo em defeitos ósseos induzidos no corpo da mandíbula. *Rev Odontol UNESP* 1999;28(1):49-61.
63. van de Putte KA, Urist MR. Osteogenesis in the interior of intramuscular implants of decalcified bone matrix. *Clin Orthop Relat Res* 1965;43:257-70.
64. Vilarinho RH, Hetem S. Implante de resina poliuretana vegetal na câmara anterior do olho de camundongo. *Odonto* 2000 1996;1:25-9.
65. Weiland AJ, Phillips TW, Randolph MA. Bone grafts: a radiologic, histologic, and biomechanical model comparing autografts, allografts, and free vascularized bone grafts. *Plast Reconstr Surg* 1984;74(3):368-79.