

ESTUDO PRELIMINAR DA COMPATIBILIDADE BIOLÓGICA DO CIMENTO DE ÓXIDO DE ZINCO E COPAÍBA. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DE IMPLANTES SUBCUTÂNEOS EM RATOS.

PRELIMINARY STUDY OF THE BIOLOGICAL COMPATIBILITY OF A ZINC OXIDE-COPAÍBA CEMENT. HISTOLOGICAL EVALUATION OF SUBCUTANEOUS IMPLANTS IN RATS.

Carlos Alberto de Souza COSTA*
 Josimeri HEBLING**
 Raphael Carlos Comelli LIA*
 Heron Fernando de Sousa GONZAGA*
 Pablo Agustin VARGAS***

RESUMO

No tecido conjuntivo subcutâneo de vinte ratos foram implantados tubos de polietileno preenchidos com o cimento de óxido de zinco e Copaíba (OZCop). Decorridos os períodos de 7, 15, 30 e 60 dias, biópsias foram realizadas e as peças cirúrgicas foram cortadas seriadamente e coradas com Hematoxilina e Eosina. Aos 7 dias houve discreta presença de células inflamatórias, necrose de contato e degradação de fibras colágenas, não sendo observada presença de neutrófilos e células gigantes. O cone capsular formado junto à abertura tubular apresentou discreta amplitude. Com o decorrer dos períodos todos os eventos histopatológicos reduziram em quantidade, sendo que no último período o tecido conjuntivo da área principal de análise apresentava características histológicas de normalidade permanecendo o tubo de polietileno totalmente envolto por um tecido fibroso denso. Estes achados sugeriram que o material em teste promove discreta ação irritante quando em contato com o tecido conjuntivo subcutâneo do rato.

PALAVRAS-CHAVE

Materiais biocompatíveis; óxido de zinco; bálsamo de copaíba

SUMMARY

Dorsal implants of polyethylene tubes containing zinc oxide-copaiba (ZO Copaiba) were placed in the subcutaneous connective tissue of 20 rats and histopathologically observed in 7, 15, 30 and 60 day periods. In the first period (7 days) the material promoted discreet reaction with preponderance of mononuclear cells, contact necrosis and collagen degradation. Through the periods, it was noticed a decreasing of the histopathological events and a healing of the opening region. In the last periods (30 and 60 days) a connective tissue with dense fibers was covering the tube and surrounding area was showing normal histologic characteristics. Then the ZO Copaiba is a poor irritant material when implanted in dorsal skin subcutaneous surgical pockets of rats.

KEYWORDS

Biocompatible materials; zinc oxide; Copaiba balsam

INTRODUÇÃO

A partir de 1980 a Federation Dentaire Internationale (FDI), preconizou a necessidade de uma série de testes para avaliação dos materiais odontológicos para ser permitido o uso dos mesmos em seres humanos.

A Copaíba é uma planta medicinal cujo nome científico é *Copaifera L* e pertencente a família Leguminosae caesalpinioideae. Possui várias sinônimas populares como por exemplo: Amaranthe, Bálsamo de Copaíba, Copaíba Verdadeira e outros. O seu habitat é terrestre e sua ocorrência geográfica faz-se no Amazo-

nas, Pará, Piauí, Minas gerais e na Bahia podendo ser encontrada em outros países como: Venezuela, Colômbia, São Salvador, Antilhas e África Tropical¹.

A parte empregada desta árvore, que pode atingir 18 a 20m de altura, é a casca e o lenho dos quais é extraído um óleo-resina o qual tem na sua composição essência (40 a 50%) e resina (40 a 60%)², possui sabor amargo sendo comercializado com outros nomes (Maranhão Good Bright). As propriedades terapêuticas que são dadas pela resina da Copaíba são inúmeras: antiblenorrágica, cicatrizante, antitética, dermatose, coriza, antiséptica, mas

em altas doses pode provocar diarreia, vômito, náusea e exantema particular¹. Este óleo-resina é eliminado do corpo humano pela mucosa pulmonar e pelos rins³. A dose média de Copaíba é de 2 a 6g/dia em forma de cápsula segundo Youngken⁸. A Copaíba também apre-

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

** Departamento de Clínica Infantil - Faculdade de Odontologia - UNESP - 14801-903 - Araraquara - SP.

*** Graduando - Faculdade de Odontologia - UNESP - 14801-903 - Araraquara - SP.

senta ação antiinflamatória e analgésica, tendo ainda atividade bactericida, expectorante e diurética⁴.

Em busca de um material odontológico que possuía baixa ação irritante quando em contato com tecido conjuntivo (polpa) procuramos associar o óleo de Copaíba ao óxido de zinco (ZO Copaíba), reunindo as propriedades terapêuticas de ambos. A mistura e a espatulação destes materiais: óxido de zinco (pó) e Copaíba (líquido), sofreu o processo de endurecimento. Isto levou-nos a pensar que talvez se esta mistura for menos irritante que o cimento de óxido de zinco e eugenol (OZE) o qual é largamente usado na clínica odontológica, o material em teste pode substituir o OZE, permitindo assim que o Cirurgião Dentista possa utilizar um material de melhor qualidade em seu consultório, provavelmente com melhores resultados.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho é dar início aos testes de Biocompatibilidade com o OZ Copaíba é analisando num primeiro momento na ação irritante deste material quando implantado no tecido conjuntivo subcutâneo do rato, usando como controle a superfície lateral do tubo de polietileno.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 20 ratos (*Rattus norvegicus*, Holtzman) machos, pesando em média 250 gramas, os quais após anestesia com hidrato de cloral a 10% (4ml do anestésico para cada 100 gramas de peso do rato por via intraperitoneal), foram fixados em mesa operatória.

Após tricotomia na região dorsal, foi feita a antisepsia do campo operatório com álcool iodado e álcool éter. Na linha média, equidistante da inserção da cauda e da cabeça do animal, foi feita uma incisão de aproximadamente 6 mm de comprimento e o tecido subcutâneo divulgado lateralmente com tesoura de ponta romba, formando duas lojas cirúrgicas, uma a cada lado da incisão, com aproximadamente 2,5cm de profundidade.

Completadas as lojas cirúrgicas, as resinas em teste foram introduzidas em tubos de polietileno com 10 mm de comprimento e 1 mm de diâmetro interno o qual teve uma das extremidades fechada à quente, tomando-se cuidado para evitar bolhas e estravazamento.

O cimento de Óxido de Zinco e Copaíba, foi preparado da seguinte maneira: Numa placa de vidro foram colocados 1 gota de óleo de Copaíba (0,03ml) e 30mg de óxido de zinco; então, os materiais foram espatulados durante 60 segundos, sendo que o resultado foi uma pasta densa a qual foi inserida nos tubos de polietileno como já descrito e introduzidos nas lojas cirúrgicas recém preparadas.

As bordas das feridas foram suturadas com agulhas montadas 1,7cm com fio de seda 3-0.

Todo material cirúrgico foi esterilizado em estufa à 170°C durante 1 hora, enquanto os tubos de polietileno foram autoclavados à 100°C durante 20 minutos.

Os ratos foram mantidos em gaiolas individuais alimentados com ração balanceada e água "ad libitum". Decorridos 7, 15, 30 e 60 dias após a cirurgia, 5 animais em cada período foram anestesiados por inalação de éter sulfúrico, novamente tricotomizados e a área do implante dissecada, abrangendo suficiente tecido normal circunjacente.

As peças foram fixadas em solução de formalina a 10% durante 24 horas, lavadas em água corrente pelo mesmo período de tempo e em seguida desidratadas e incluídas em parafina. Posicionados os blocos no micrótomo, estes foram desbastados até se encontrar os tubos de polietileno, que após os seccionamento ao meio, tiveram as duas partes cuidadosamente removidas. Em seguida os espaços anteriormente ocupados pelos tubos foram preenchidos com parafina e cortes seriados de 6 micrômetros de espessura foram obtidos, sendo corados com hematoxilina e eosina. No exame ao microscópio óptico procuramos comparar de acordo com os vários períodos estudados os seguintes eventos histológicos provocadas pelas pastas junto a abertura tubular: Necrose, neutrófilos células inflamatórias mononucleares, células gigantes, fibroblastos e organização da cápsula junto à abertura tubular, graduando estes eventos em não significante, discreto, moderado e intenso.

RESULTADO

7 dias - Neste período foi observado discreta reação inflamatória com predomínio de células mononucleares junto à abertura do tubo, área principal de análise. Nesta região, haviam ainda discretas áreas de degradação de colágeno necrose de contato e a formação de um discreto cone capsular. Na superfície lateral do tubo (controle) houve também uma reação inflamatória com padrão semelhante aquela da sua extremidade aberta, sendo que este quadro decresceu à medida que se dirigia a observação para a extremidade fechada do tubo, sendo visto nesta área predomínio de fibras colágenas e fibroblastos sobre as células inflamatórias.

15 dias - Os cortes histológicos revelaram neste tempo de observação que a reação inflamatória antes discreta regrediu, havendo ainda diminuição das áreas de degradação de colágeno e a necrose de contato. O cone capsular significativamente menor quando comparado com o período anterior, apresentou predomínio de fibras colágenas e fibroblastos que estavam num processo de organização no local, tendendo a formar uma cápsula fibrosa a qual estava em contato com o tecido de superfície lateral do tubo. Nesta região lateral, também havia presença de um

tecido fibroso denso com raras células inflamatórias de permeio. Este quadro histológico foi semelhante aquele presente na extremidade fechada do tubo.

30 e 60 dias - Foi observado nos cortes histológicos presença de poucas células inflamatórias mononucleares o que não permitiu caracterizar uma reação inflamatória na região do cone capsular o qual se apresentou amplitude normal, com predomínio de fibras colágenas, fibroblastos e vasos sanguíneos. O material em teste permitiu que uma cápsula fibrosa densa o isolasse do contato com o restante do tecido conjuntivo, sendo que esta estrutura fibrosa/densa contornava todo o tubo de polietileno implantado, sem permitir presença de células inflamatórias de permeio. Não foi observada necrose e degradação de colágeno nestes dois tempos de observação.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram determinar que a pasta de óxido de Zinco e Copaíba (OZCopaíba) promoveu no primeiro período de análise discreta reação inflamatória junto à abertura tubular, área principal de análise, com também discreta necrose de contato e degradação de colágeno, não sendo possível observar presença de neutrófilos e células gigantes. Desta maneira o cone capsular foi discreto, com presença de numerosos vasos sanguíneos. Com o decorrer dos períodos estes eventos histopatológicos regrediram, chegando no último tempo de observação a formar um tecido fibroso/denso (cápsula) envolvendo todo o tubo de polietileno implantado. Nas áreas adjacentes haviam numerosas fibras colágenas entrelaçadas em meio a fibroblastos, não se determinando a presença de células inflamatórias, necrose de contato, degeneração de colágeno, células gigantes e neutrófilos.

Esta reparação tecidual ocorrida junto a abertura tubular foi semelhante àquela presente junto a superfície lateral do tubo (controle). Nesta superfície, a reação inflamatória decrescia em quantidade de células conforme se deslocava a observação da abertura do tubo para sua extremidade fechada, sendo que nesta região, haviam apenas poucas células inflamatórias. Isto sugeriu que o ato cirúrgico de implantar o tubo causou pouca irritação inicial ao tecido conjuntivo subcutâneo do rato, mas a associação da cirurgia com a ação do material, levou a uma somatória de agentes irritantes, principalmente junto à abertura tubular nos primeiros períodos de análise.

Os testes comumente usados para avaliar a biocompatibilidade não podem ser de imediato extrapolado para o homem, mas eles são recomendados pela FDI como preliminares e indicativos para se comparar o grau de irritabilidade dos materiais odontológicos. Assim embora o tecido subcutâneo não reproduza

as condições pulpares e periapicais⁵, é um método relativamente simples para identificar as possíveis reações, e os nossos resultados mostraram que o cimento de OZ Copaíba é

pouco irritante ao tecido conjuntivo subcutâneo do rato. Desta maneira, é necessário dar continuidade aos estudos com este material, comparando-o com o OZE, pois nossa propos-

ta inicial é substituir o eugenol do cimento pelo óleo de Copaíba e então darmos sequência aos testes de biocompatibilidade nos demais níveis de pesquisa indicados pela FDI.

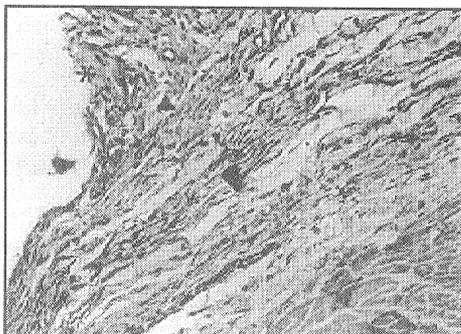


Figura 1 - Óxido de Zinco e Copaíba - 7 dias - Região junto à abertura tubular, com presença discreta de células inflamatórias de predomínio mononuclear () necrose de contato () e áreas de degradação de colágeno. H/E; ZEISS - 125x.

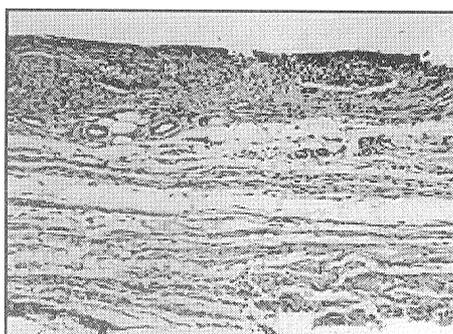


Figura 2 - Superfície lateral de um tubo de polietileno removido após 7 dias de implante. Características histológicas semelhante àquela presente junto à abertura tubular, visto na figura anterior. H/E; ZEISS - 64x.

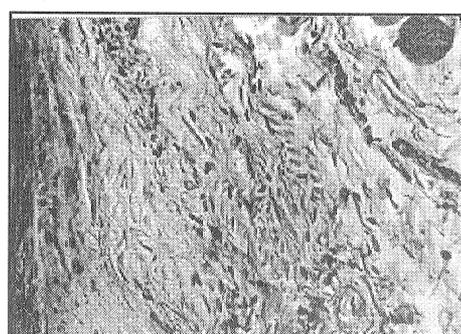


Figura 3 - Óxido de Zinco e Copaíba - 15 dias. Área junto à abertura do tubo, apresentando raras células inflamatórias em meio a numerosos fibroblastos e fibras colágena. H/E; ZEISS - 160x.

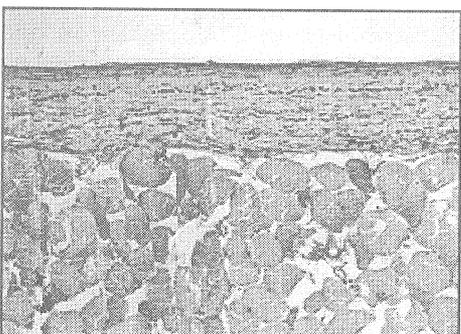


Figura 4 - Superfície lateral de um tubo de polietileno removido após 15 dias do implante. Presença de um tecido rico em fibras colágenas e fibroblastos, sendo observadas poucas células inflamatórias de permeio. H/E; ZEISS - 64x.

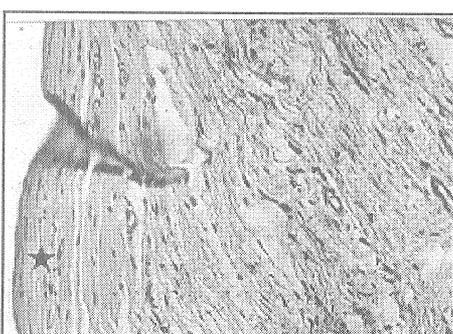


Figura 5 - Óxido de Zinco e Copaíba - 30 dias. Junto à abertura tubular é observado presença de uma cápsula fibrosa/densa (), sendo que o tecido conjuntivo adjacente tem características histológicas de normalidade. H/E; ZEISS - 160x.

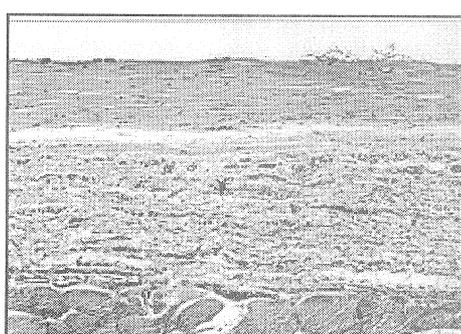


Figura 6 - Superfície lateral de um tubo de polietileno removido após 30 dias do implante. Cápsula fibrosa/densa envolvendo o tubo, sendo que o tecido adjacente apresenta-se normal com poucas células inflamatórias presentes. H/E; ZEISS - 64x.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BAHIA. Subsecretaria de Ciência e Tecnologia. Inventário das plantas medicinais do Estado da Bahia. Salvador: p. 413-5., 1979
- 2 - CASAMADA, R.S.M. Tratado de farmacognosia. Barcelona: Científico-Médica, 1977.
- 3 - CORRÊA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1931. v.2.
- 4 - FERNANDES, R.M., PEREIRA, N.A., PAULO, L.G. Anti-inflammatory activity of copaiba balsam (*Copaifera cearensis*, Huber). Rev. Bras. Farm., Rio de Janeiro, v.73, n.3, p. 53-6, 1992.
- 5 - LANGELAND, K. et al. Methods in study of biologic responses to endodontic materials. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., St. Louis, v. 27, n.6, p. 552-62, 1969.
- 6 - SMITH, D.C. Characteristics of dental tissues and their response to dental materials. In: SMITH, D.C., WILLIAMS, D.F. Biocompatibility of dental materials. Boca Raton: CRC Press, 1982., cap. 1. p. 6-21, v.1, 1982.
- 7 - ROWE, A.H.R. Reaction of rat molar pulp to various materials. Br. Dent. J., London, v. 122, n.3, p.291-300, 1967.
- 8 - YOUNGKEN, H.W. Tratado de farmacognosia. México: Atlante, 1951. Cap 5