

EFEITO DO COLÁGENO MICROCRISTALINO NO PROCESSO DE REPARO EM FERIDAS DE EXTRAÇÃO DENTAL ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS

Mauro Airton RULLI*
Zuleice Viana da Silveira TARELHO*
Maria Tereza Giroto MATHEUS*

RESUMO: Os autores estudaram, histologicamente, o processo de reparo em feridas de extração dental em ratos cujos alvéolos pós-extração foram preenchidos com fragmentos de esponja de colágeno microcristalino. Foram utilizados 42 ratos albinos, variedade Wistar, com peso médio de 150g, separados ao acaso em 2 grupos de 21 animais cada — um grupo controle e um grupo experimental. Após anestesia com Thionembutal, os animais dos dois grupos foram submetidos à extração do incisivo superior direito, sendo que nos ratos do grupo experimental o alvéolo foi preenchido, imediatamente após a avulsão, com pequenos fragmentos de esponja de colágeno microcristalino. Os animais de ambos os grupos, em número de 3 para cada período, foram sacrificados por inalação de éter sulfúrico aos 1, 3, 6, 9, 21 e 24 dias após as exodontias. Pela análise histológica, nas condições de metodologia utilizada, concluiu-se que o colágeno microcristalino introduzido no alvéolo pós-extração: 1) Não provoca reação inflamatória tipo corpo estranho; 2) É biodegradável entre o 7.º e 8.º dias pós-operatórios e, 3) Não altera o tempo necessário para o término do processo de reparo alveolar.

UNITERMOS: Processo de reparo alveolar; colágeno microcristalino; ferida de extração dental.

INTRODUÇÃO

Atualmente são muito bem conhecidas, inclusive a nível histológico, as fases evolutivas do processo de reparo em feridas de extração dental em ratos^{2,3,5,8,9,15,16}.

O processo de reparo em feridas de extração dental exibe a mesma seqüência evolutiva básica, evidenciada histologicamente, no rato e no homem¹³. Todavia, a cronologia do processo de reparação alveolar é mais rápida no rato do que no homem¹³.

Vários são os estudos sobre a influência de substâncias colocadas diretamente no interior do alvéolo, no processo de reparo em feridas de extração dental em ratos, como "osso anorgânico"⁹, poliuretano¹⁰, Boplant¹¹, gesso de Paris¹⁶.

Por outro lado, a utilização de esponja de colágeno em implante subcutâneo, favo-

rece o processo de reparo cutâneo; a textura da esponja atuando como uma matriz para o tecido conjuntivo neoformado⁴.

Face a recente possibilidade de obtenção de colágeno microcristalino entre nós, parece válido estudar o seu efeito no processo de reparo em feridas de extração dental.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 42 ratos albinos, variedade Wistar, com peso médio de 150g, separados ao acaso em 2 grupos de 21 animais cada, a saber: um grupo controle e um grupo experimental.

Após os animais dos dois grupos terem sido anestesiados por via intraperitoneal, com Thionembutal a 2% na dosagem de 50 mg/Kg de peso corporal, foram eles submetidos à extração do incisivo superior direito,

* Departamento de Morfologia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 16100 — Araçatuba — SP.

sendo que nos ratos do grupo experimental o alvéolo foi preenchido, imediatamente após a avulsão, com pequenos fragmentos de esponja de colágeno microcristalino, com auxílio de uma pinça de ponta fina e sem compressão.

As exodontias foram feitas com instrumental especialmente adaptado, segundo OKAMOTO & RUSSO¹².

Durante todo o período experimental, os animais tiveram água à vontade e foram alimentados com ração sólida (Anderson Clayton), exceto nas primeiras 24 horas de pós-operatório quando a ração fornecida era triturada.

Os animais de ambos os grupos, em número de 3 para cada período, foram sacrificados por inalação de éter sulfúrico aos 1, 3, 6, 9, 21 e 24 dias após as exodontias. A seguir foram decapitados e as mandíbulas separadas dos maxilares; do maxilar direito foi obtida, com uma tesoura romba, uma peça que continha o alvéolo, a qual foi limitada posteriormente por um corte tangenciando a face distal do 2.º molar.

As peças assim obtidas foram fixadas em formol neutro durante 24 horas, após o que foram aparadas de modo a permanecer somente o processo alveolar do incisivo superior direito. Em seguida, foi feita a descalfificação em citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 50%, em partes iguais.

Após a desidratação, as peças foram incluídas em parafina, com orientação de modo a fornecer cortes dos alvéolos no sentido vestibulo-lingual e paralelamente ao seu longo eixo. Os cortes seriados, com 6 micrômetros de espessura, foram corados pela Hematoxilina de Harris e Eosina a 1% em solução aquosa.

RESULTADOS

Como a evolução do processo de reparo em feridas de extração dental já é bem conhecida em ratos, em todas as suas etapas, nossos resultados serão apresentados de maneira sucinta.

De modo geral, serão registradas as diferenças e semelhanças observadas no processo de reparo dos alvéolos preenchidos com colágeno microcristalino em relação aos nossos animais controles e, eventualmente,

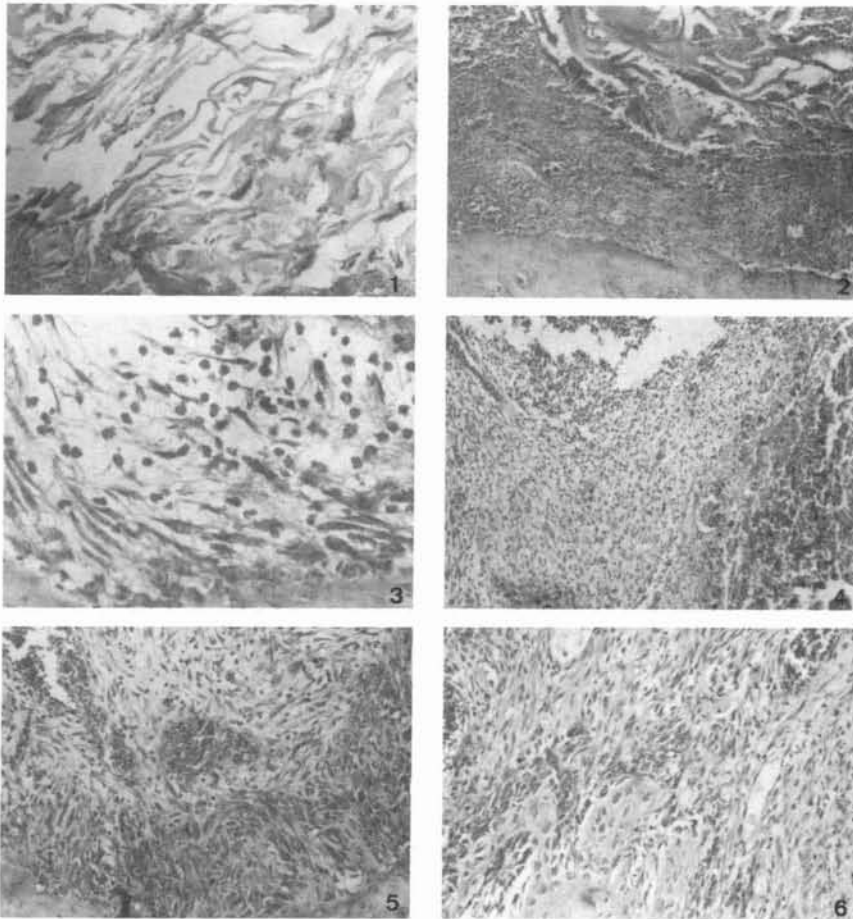
em comparação com a descrição clássica existente na literatura para o processo de reparo em feridas de extração dental em ratos.

Para facilitar a compreensão dos resultados, o alvéolo dental foi dividido em terços, o cervical, o médio e o apical, considerados a partir da superfície alveolar livre em direção ao “fundus alveolar”.

Assim, no 1.º dia pós-operatório, observa-se nos alvéolos dos animais experimentais, que o terço cervical está inteiramente preenchido pelo colágeno microcristalino, ocorrendo um infiltrado neutrofílico superficial na porção livre do alvéolo e nas adjacências das corticais alveolares (Fig. 1). O terço médio encontra-se preenchido na sua maior parte, a superior, pelo colágeno microcristalino, sendo a sua menor parte, aquela mais próxima do terço apical, constituída por espessa faixa de neutrófilos, muitos dos quais em degeneração (Fig. 2). Essa infiltração neutrofílica ocorre inclusive na porção mais superficial do terço apical, cujo restante está preenchido por coágulo, que exhibe grande quantidade de macrófagos contendo pigmento de hemossiderina. No “fundus” alveolar nota-se delgada faixa de proliferação fibroblástica incipiente e discreto infiltrado inflamatório (Fig. 3).

Os terços alveolares dos animais controles nada apresentavam de diferente em relação ao descrito na literatura para o processo de reparo alveolar, em condições de normalidade, ao 1.º dia pós-operatório.

Ao 3.º dia pós-operatório, nos animais do grupo experimental, o colágeno microcristalino continuava preenchendo totalmente o terço cervical e a metade superior do terço médio, sem nenhuma alteração no tipo, intensidade e localização do infiltrado inflamatório observado no 1.º dia pós-operatório. O terço médio dos alvéolos mostra na sua metade inferior, diferenciação conjuntiva, havendo entretanto maior ocorrência de tecido de granulação do que tecido conjuntivo frouxo neoformado (Fig. 4). Também ao 3.º dia pós-operatório, ainda persistem áreas de coágulo contendo grande quantidade de hemossiderina. O terço apical dos alvéolos exhibe o mesmo quadro histológico que a porção inferior do terço médio, porém próximo ao “fundus” alveolar e nas paredes laterais desse terço, existe diferen-



- FIG. 1 — Terço cervical experimental ao 1.º dia pós-operatório, inteiramente preenchido por colágeno microcristalino, com infiltrado neutrofilico superficial e próximo a cortical alveolar. H. E., 20 X.
- FIG. 2 — Terço médio experimental ao 1.º dia pós-operatório, preenchido na porção superior por colágeno microcristalino. Sua porção inferior apresenta espessa faixa de infiltrado neutrofilico. H.E., 40 X.
- FIG. 3 — Terço apical experimental ao 1.º dia pós-operatório, mostrando o "fundus" alveolar com delgada faixa de proliferação fibroblástica incipiente e discreto infiltrado inflamatório. H.E., 80 X.
- FIG. 4 — Terço médio experimental ao 3.º dia pós-operatório, mostrando sua metade inferior com diferenciação conjuntiva, maior de tecido de granulação do que de tecido conjuntivo frouxo neoformado. Persistem áreas de coágulo contendo pigmento de hemossiderina. H.E., 32 X.
- FIG. 5 — Terço apical experimental ao 3.º dia pós-operatório, com diferenciação conjuntiva adiantada próximo ao "fundus" alveolar e nas paredes laterais. Notar a diferenciação osteoblástica, sem deposição de matriz óssea. H.E., 50 X.
- FIG. 6 — Terço apical experimental ao 6.º dia pós-operatório, preenchido por tecido conjuntivo neoformado, bem vascularizado e rico em fibroblastos. Algumas espículas ósseas podem ser vistas junto ao "fundus" alveolar. H. E., 50 X.

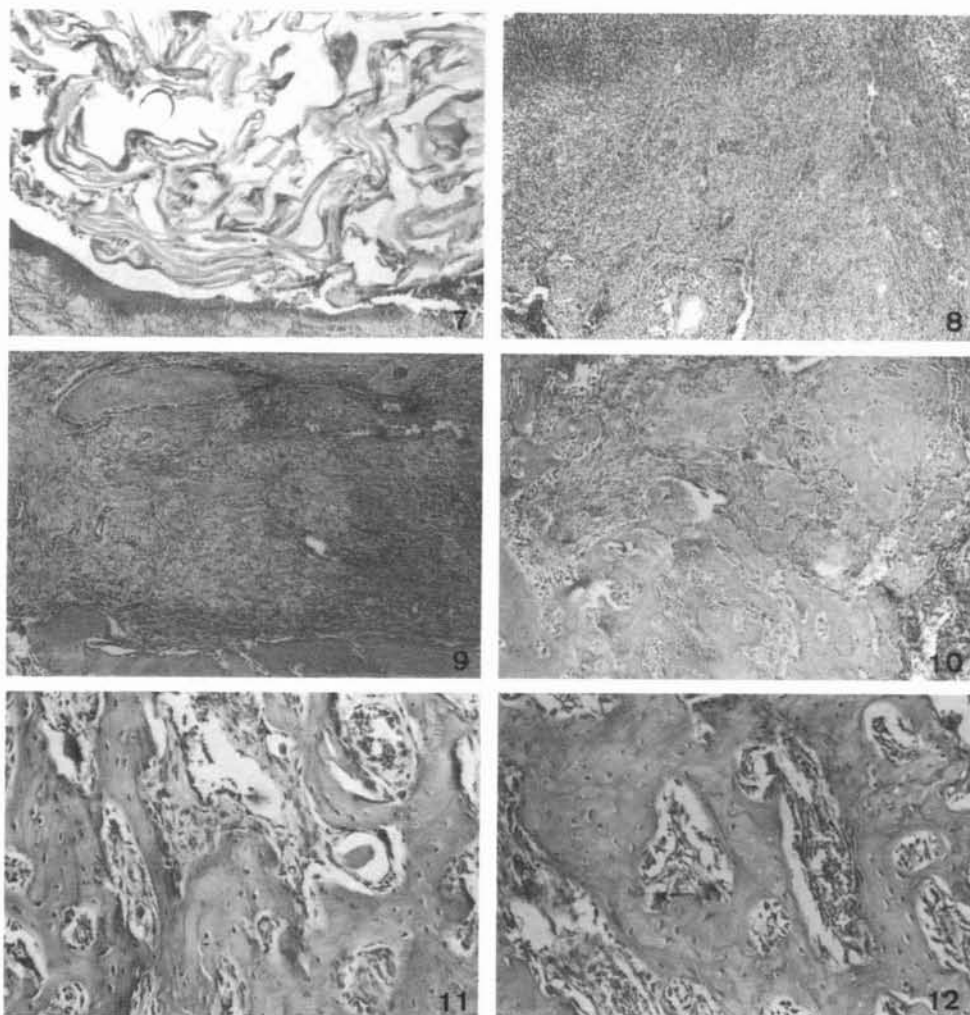


FIG. 7 — Terço cervical experimental ao 6.^o dia pós-operatório, preenchido por colágeno microcristalino, de malhas frouxas e "fitas" constituintes delgadas. H.E., 20 X.

FIG. 8 — Terço cervical experimental ao 9.^o dia pós-operatório, com intenso infiltrado neutrofílico decrescendo de intensidade à medida que se aproxima do terço médio. H.E., 20 X.

FIG. 9 — Terço médio experimental ao 9.^o dia pós-operatório, com áreas de diferenciação conjuntiva e áreas de diferenciação óssea. H.E., 20 X.

FIG. 10 — Terço apical experimental ao 9.^o dia pós-operatório, quase inteiramente preenchido por tecido ósseo neoformado, com espaços medulares amplos. H.E., 20 X.

FIG. 11 — Terço cervical experimental ao 21.^o dia pós-operatório, preenchido por tecido ósseo neoformado. H.E., 50 X.

FIG. 12 — Terço cervical controle ao 21.^o dia pós-operatório, preenchido por tecido ósseo neoformado. H.E., 50 X.

ciação conjuntiva mais adiantada, com proliferação fibroblástica e neoformação vascular acentuadas (Fig. 5). Em algumas áreas esparsas no “fundus” alveolar, nota-se diferenciação osteoblástica, todavia sem deposição extracelular de matriz óssea.

Os terços alveolares dos animais controles apresentavam-se como o descrito na literatura para o período do 3.º dia pós-operatório no rato, em condições de normalidade.

Ao 6.º dia pós-operatório, os terços apicais dos alvéolos dos animais experimentais e controles apresentavam-se, quase inteiramente, preenchidos por tecido conjuntivo neoformado, bem vascularizado e rico em fibroblastos (Fig. 6). Nesse período, foram observadas numerosas espículas ósseas neoformadas, rodeadas por numerosos osteoblastos, próximo ao “fundus” alveolar, tanto nos animais experimentais quanto nos controles. Na metade inferior do terço médio dos animais experimentais, o infiltrado neutrofilico era moderado e ocorria proliferação fibroblástica incipente e proliferação vascular acentuada, além de numerosos macrófagos contendo pigmento de hemossiderina. Nestes animais, a metade superior do terço médio e o terço cervical estavam preenchidos pelo colágeno microcristalino, com as mesmas características descritas para os períodos de 1 e 3 dias pós-operatório, quanto ao infiltrado inflamatório. Todavia, o colágeno microcristalino apresentava-se menos compacto e suas “fitas” constituintes eram mais delgadas do que o notado nos períodos anteriores (Fig. 7).

Ao 9.º dia pós-operatório não mais foi observado nenhum remanescente de colágeno microcristalino nos alvéolos dos animais experimentais. As porções por ele anteriormente ocupadas, agora o eram por infiltrado neutrofilico intenso no terço cervical, que decrescia de intensidade em direção ao terço médio (Fig. 8); na porção profunda do terço cervical já havia tecido de granulação e áreas com diferenciação óssea conjuntiva no terço médio (Fig. 9). O terço apical dos alvéolos dos animais experimentais estava, quase inteiramente, preenchido por tecido ósseo neoformado, porém com espaços medulares amplos (Fig. 10).

Nos animais controle, no 9.º dia pós-operatório, todos os terços alveolares continham tecido ósseo neoformado, porém com trabéculas mais espessas no terço apical. Nestes animais observa-se ainda, nos terços médios e cervical, remanescentes de coágulo e áreas de tecido conjuntivo sem diferenciação óssea, quer de tecido conjuntivo frouxo quer de tecido de granulação.

Ao 21.º dia pós-operatório foram notadas diferenças individuais, tanto nos animais experimentais quanto nos controles, em relação ao completo preenchimento do alvéolo por tecido ósseo neoformado (Figs. 11 e 12). Essas diferenças não foram mais observadas ao 24.º dia pós-operatório em que ambos os grupos de animais apresentavam alvéolos inteiramente preenchidos por tecido ósseo neoformado, com pequenos espaços medulares.

DISCUSSÃO

Os períodos de 3, 6, 9 e 21 dias de pós-operatório estabelecidos para a análise histológica do processo de reparo, no presente estudo, o foram em função de serem estádios característicos deste processo em ratos, e já perfeitamente estabelecidos por vários autores^{1,6,7,8,10,14}.

O período de 1 dia pós-operatório foi escolhido por constituir o período em que poder-se-ia constatar a presença ou ausência do material colocado no alvéolo, e a reação inicial por ele provocada.

O período de 24 dias de pós-operatório foi incluído para, na eventualidade da ocorrência de um retardo no término do processo de reparo alveolar dos animais experimentais, ser possível verificar se o término ocorria até esse período.

Os resultados por nós verificados nos animais controles, em qualquer período estudado, foram semelhantes aos encontrados na literatura^{1,6,7,8,10,14}, significando que o trauma cirúrgico não atingiu nível capaz de alterar o padrão normal do reparo alveolar.

Quanto ao colágeno microcristalino, nossos resultados revelam sua presença até o 6.º dia pós-operatório, no qual ocupa o alvéolo da mesma forma que o fazia ao 1.º dia pós-operatório, e revelam sua ausência no 9.º dia pós-operatório. Isto indica que sua degradação ocorre entre o 7.º e 8.º dias de

pós-operatório. Tal fato é reforçado pela ausência de células gigantes multinucleadas de reabsorção junto e/ou no interior do colágeno microcristalino, até o 6.º dia pós-operatório, e ainda corroborado pelo afrouxamento de sua malha e adelgaçamento de suas "fitas" constituintes, por nós observado ao 6.º dia pós-operatório.

Por outro lado, o colágeno microcristalino parece não ter provocado reação inflamatória, apesar de ter havido uma delgada faixa superficial de infiltrado neutrofilico nas suas porções laterais e recobrimdo sua margem livre. Este infiltrado também existiu no terço cervical dos animais controles, nos períodos pós-operatórios de 1, 3 e 6 dias, e está dentro das características normais de evolução do processo de reparo em feridas de extração dental em ratos, conforme MARQUES-MIGUEL⁸.

Interessante ressaltar que o atraso, inicialmente verificado, do processo de reparo nos terços médio e cervical dos alvéolos preenchidos com colágeno microcristalino, aos 9 dias pós-operatórios não é mais tão discrepante em relação aos controles desse mesmo período. Isto sugere que a degradação do colágeno possa ter influído para a aceleração do processo de reparo nesses terços. Todavia, essa aceleração na realidade deve ser interpretada apenas como uma recuperação do tempo perdido até o 6.º dia pós-operatório, pois ao 21 dias pós-operatórios o quadro de término do processo de reparo, em todos os terços alveolares, foi o mesmo tanto nos animais experimentais quanto nos controles.

Outrossim, verificou-se que em todos os animais experimentais, em qualquer período pós-operatório em que não tenha ainda ocorrido a degradação do colágeno microcristalino, que o mesmo ocupou inteiramente o terço cervical e a metade superior do terço médio.

Como o colágeno microcristalino não provocou reação inflamatória, inclusive tipo corpo estranho, parece oportuno um novo estudo em que se faça a sua introdução na porção superficial do terço cervical, com a finalidade de verificar se esse material pode atuar como um protetor biológico do processo de reparo alveolar.

CONCLUSÕES

Nas condições da metodologia utilizada, parece lícito concluir que o colágeno microcristalino introduzido no alvéolo pós-extração: 1) não provoca reação inflamatória tipo corpo estranho; 2) é biodegradável entre o 7.º e 8.º dias pós-operatórios, e 3) não altera o tempo necessário para o término do processo de reparo alveolar.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Professor Doutor Benedicto de Campos Vidal, do Instituto de Biologia da UNICAMP, pelo fornecimento do colágeno microcristalino "MICROLÁGENO" (Cirumédica).

RULLI, M.A. *et alii* — Effect of microcrystalline collagen on the healing of extraction wounds. Histological study in rats. *Rev. Odont. UNESP, São Paulo, 13(1/2):5-11, 1984.*

ABSTRACT: *The authors studied histologically the effect of microcrystalline collagen on the healing of extraction wounds in rats. Forty two male albinus Wistar rats, with 150g of corporal weight were employed and randomly divided into two groups of 21 animals each — control and experimental groups. After anesthesia the animals of the two groups had their right maxilar incisor removed. In the animals of the experimental group the post-extraction alveolus was filled up with microcrystalline collagen fragments. The rats from both groups, 3 for each period, were sacrificed by sulphuric ether inalation at 1, 3, 6, 9, 21 and 24 days after the extraction. It was concluded by histological analysis that the microcrystalline collagen introduced in the post-extraction alveolus: 1) did not provoke foreign body inflammatory reaction; 2) was biodegradable on the 7th and 8th post-extraction days, and 3) did not disturb the time necessary for the ending of the extraction wound healing.*

KEY-WORDS: *Alveolar healing; microcrystalline collagen; extraction healing wounds.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARROSO, J.S. — *Processo de reparo em feridas de extração dental em ratos submetidos à ação da tirocalcitonina. Estudo microscópico e pela densitometria radiográfica*. Bauru, Fac. Odont. USP, 1977. (Tese Livre-Docência).
2. BARROSO, J.S.; SANTOS-PINTO, R. & OKAMOTO, T. — Efeitos do 6-propil-2-tiouracil no processo de reparo em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 1:71-82, 1972.
3. BERNICK, S. & GRANT, D.A. — Modifications vasculaires et nerveuses liées à la guérison de plaies résultant d'extractions dentaires. *Méd. Hyg.*, 1027:1445-1449, 1972.
4. CUTRIGHT, D.E.; POSEY, W.R.; BHASKAR, S.N. & LARSON, W.J. — Collagen sponge — Subcutaneous implantation. *Oral Surg.*, 25:144-149, 1973.
5. FREGONESI, M.E.; SANTOS-PINTO, R.; MARTINELLI, C. & MARQUES-MIGUEL, R. — Processo de reparo em feridas de extração dental após remoção das glândulas sublinguais. Estudo radiográfico e histológico em ratos. *Arq. Cent. Est. Cur. Odont. UFMG.*, 12:81-104, 1975.
6. FURUSE, T.A.; CASTRO, A.L.; OKAMOTO, T. & SANTOS-PINTO, R. — Processo de reparo em feridas de extração dental após a administração de ciclofosfamida. Estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 3:197-205, 1974.
7. GOSUEN, L.C.; SANTOS-PINTO, R.; OKAMOTO, T. & AZOUBEL, R. — Processo de reparo em ferida de extração dental após tireoparatiroidectomia. Estudo histológico em ratos. *Rev. bras. Pesq. Méd. biol.*, 5:229-235, 1972.
8. MARQUES-MIGUEL, R. — *Efeito da radiação X no processo de reparo em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos*. Araçatuba, Fac. Odont. Araçatuba, UNESP, 1980 (Tese Livre-Docência)
9. MARQUES-MIGUEL, R.; SANCHES, M.G. & SANTOS-PINTO, M.C. — Processo de reparo em feridas de extração dental após implante de "osso anorgânico". Contribuição ao estudo radiográfico em ratos. *Rev. Ass. paul. Cirurg. Dent.*, 27:88-93, 1973.
10. OKAMOTO, T.; CARVALHO, A.C.P.; MILANEZI, L.A.; HOLLAND, R. & RUSSO, M.C. — Implante de Poliuretano em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 2:19-25, 1973.
11. OKAMOTO, T.; CARVALHO, A.C.P.; MILANEZI, L.A. & TAGLIAVINI, R.L. — Implante de Boplant em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 3:13-21, 1974.
12. OKAMOTO, T. & RUSSO, M.C. — Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 2:153-168, 1973.
13. PIETROKOVSKI, J. & MASSLER, M. — Ridge remodeling after tooth extraction in rats. *J. dent. Res.*, 46:222-231, 1967.
14. SALOMÃO, J.I.S.; GRANDINI, S.A. & OKAMOTO, T. — Processo de reparo em feridas de extração dental em ratos ooforectomizadas. Estudo histológico. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 3:183-196, 1974.
15. SMITH, N. — A comparative histological and radiographic study of extraction socket healing in the rat. *Aust. dent. J.*, 19:250-254, 1974.
16. VICTOR, J.O.; SANTOS-PINTO, R.; OKAMOTO, T. & CASTRO, A.L. — Implante de gesso de Paris em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 4:71-79, 1975.

Recebido para publicação em 05.10.83.