

A biocompatibilidade dos materiais pode ser avaliada através dos mastócitos?

Marcondes Queiroz Oliveira¹

Moysés Sadigursky²

Resumo

O objetivo do trabalho foi estudar a participação dos mastócitos nos processos de cura de feridas, considerando a sua presença na composição dos critérios de avaliação e interpretação das respostas teciduais de biocompatibilidade. A atividade experimental foi realizada usando-se quarenta *Rattus norvegicus albinus* divididos aleatoriamente em quatro grupos (1, 2, 3 e 4) para avaliação em vinte e quatro horas, uma, duas e três semanas, respectivamente. Cada animal serviu para os grupos experimentais (região dorsocefálica), onde foi implantada uma membrana biocompatível no tecido conjuntivo subcutâneo e controles sham (região dorsocaudal), onde o tecido conjuntivo foi somente manuseado. Os resultados evidenciaram que, nos grupos experimentais, a quantidade de mastócitos nos tecidos foi menor do que nos respectivos grupos sham. Entretanto, a comparação do número dessas células não revelou significância estatística. Os valores estatísticos encontrados para um valor de $p=0,05$, usando o teste "t" de Student, ao se comparar cada grupo experimental com o seu respectivo sham, foram: grupo 1 ($p=0,218$), grupo 2 ($p=0,421$), grupo 3 ($p=0,116$) e grupo 4 ($p=0,668$), portanto, não significante estatisticamente. Os valores entre as grupos sham de vinte e quatro horas e experimental de três semanas foi $p=0,014$ e, entre o grupo experimental de vinte e quatro horas e o sham de 3 semanas, foi $p=0,001$. A conclusão é que a presença de mastócitos nas áreas adjacentes à membrana sugere uma resposta de aceitação. Entretanto, novas investigações devem ser realizadas para se esclarecer a viabilidade da inclusão dessas células nos testes secundários de biocompatibilidade.

Palavras-chave: mastócitos; biocompatibilidade; membrana da casca de ovo.

INTRODUÇÃO

O papel clássico dos mastócitos é o de atuar nas reações alérgicas, liberando de seus grânulos as aminas vasoativas, especialmente a histamina. O processo mais comum de desgranulação resulta da interação da imunoglobulina E (IgE) com os receptores específicos da membrana celular (Fc γ RI), dependente, por outro lado, da geração de uma resposta adaptativa prévia, que envolve fatores antigênicos com os linfócitos B, ativados e

direcionados para a produção de IgE (SAYED; BROWN, 2007; MALBEC; DAERON, 2007).

A forte participação dos mastócitos no processo inflamatório alérgico, liberando a histamina para a vasodilatação, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) para a angiogênese, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) para o recrutamento de neutrófilos e a interleucina 6 e 8 (IL-6 e IL-8) permitiram avanços na compreensão da participação dessas cé-

Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia – UFBA

²Departamento de Propedêutica e Clínica Integrada, Faculdade de Odontologia – UFBA, Universidade Federal da Bahia - UFBA

Correspondência para / Correspondence to:

Marcondes Queiroz Oliveira

Rua Monte Conselho, 689/2002 – Rio Vermelho.

41.940-370. Salvador – Bahia – Brasil.

E-mail: marconde@ufba.br

lulas nos eventos inflamatórios não alérgicos e processos patológicos diversos.

Na cura de feridas a população de mastócitos diminui drasticamente nas primeiras horas, voltando a recompor-se em quarenta e oito horas (EGOZI et al., 2003) o que indica a importância funcional dessas células nos eventos da inflamação. Apesar disso, nenhuma participação dos mastócitos tem sido inserida nos critérios de interpretação da biocompatibilidade, salvo nos estudos e conclusões recentes (REZZANI et al., 2004), sugerindo que os mastócitos podem constituir-se em parâmetro para teste de atividade adversa dos vários materiais.

A avaliação da biocompatibilidade dos materiais tem sido conduzida em cultura de células, identificando-se os índices de proliferação celular, em microscopia eletrônica de varredura, onde se valoriza a morfologia e a adesão celular ao produto, e na implantação de materiais no conjuntivo subcutâneo de animais, identificando-se a presença, o tipo e a intensidade das células do sistema imune inato e específico.

Quando produtos são implantados no tecido conjuntivo de animais, os critérios para a aceitação da biocompatibilidade consideram os eventos presentes e que se desenrolam entre a segunda e a décima segunda semana da sua implantação, conforme Stanford (1980). Os acontecimentos biológicos envolvidos nas primeiras horas e na primeira semana são preparatórios e não participam dos critérios e da interpretação dos resultados, enquanto os das demais semanas são determinantes e respondem por eles, embora seja de aceitação geral a interdependência que existe entre um e o outro.

Para a aceitação da biocompatibilidade, é necessário que o tecido conjuntivo adjacente ao material estudado revele, ao fim da segunda semana, completa ausência de neutrófilos, linfócitos e plasmócitos, ou um grau mínimo dessas células. Se, ao fim da segunda semana, as referidas células estiverem presentes em grau moderado, é necessário que decresçam ao grau mínimo em até doze semanas (STANFORD, 1980).

A utilização dos neutrófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos, como células capazes de determinar a biocompatibilidade de um material, reside nas suas características funcionais. Os linfócitos TCD4+ do tipo Th₁ atuam na produção das interleucinas dos tipos IL-2 e IL-12 e de interferon-gama (IFN- γ). Os linfócitos do tipo Th2 produzem as interleucinas IL-4, IL-6, IL-5. Os macrófagos atuam na fagocitose de restos teciduais, de fibrina, liberam fator de crescimento de fibroblasto (FGF) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). O aproveitamento dos neutrófilos no processo avaliativo se relaciona com a capacidade de responderem imediatamente a qualquer tipo de agente agressor, indicando rapidamente o curso do processo imune adaptativo e determinando o desfecho da lesão tecidual instalada, resolvendo-a ou não.

O objetivo deste trabalho é estudar a participação dos mastócitos nos processos de cura de feridas, considerando-se a sua composição, os critérios de avaliação e interpretação das respostas teciduais à biocompatibilidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ovos da *Gallinea galli gallus domestica* foram limpos com água e sabão, lavados em uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, postos em vasilhame de vidro e mantidos em fluxo laminar por 20 minutos. Após esse tempo, a casca foi quebrada suavemente num dos pólos, para a remoção do conteúdo interno e limpeza com água destilada. A membrana fibrosa interna da casca de ovo (MFCO) foi removida manualmente, cortada em pedaços de 3,0cm e processada de acordo com Oliveira (2006).

A atividade experimental foi realizada obedecendo-se às normas que fundamentam os trabalhos em animais de experimentação, com autorização de comissão ética. Foram usados quarenta *Rattus norvegicus albinus* divididos aleatoriamente em quatro grupos 1, 2, 3 e 4 para a composição dos grupos experimentais (Exp) na região dorsocefálica e controles sham (Sham) na região dorsocaudal, dos mesmos animais. Os

grupos 1, 2, 3 e 4 serviram para as avaliações nos tempos de 24 horas, uma, duas e três semanas respectivamente. Nos animais dos grupos experimentais, foram implantadas as MFCO e, nos animais dos grupos de controle sham, não, embora todos tenham recebido os mesmos procedimentos cirúrgicos.

Para a atividade cirúrgica experimental, foram usados animais machos, com 250g e 280g de peso, que foram confinados em gaiolas individuais sob condições standardizadas de ambiente laboratorial. Para induzir e manter a anestesia, foi aplicada, em cada animal, injeção intramuscular com uma associação de ketamina (100 mg/Kg) e xilazina (5 mg/kg). Em cada animal dos grupos 1, 2, 3 e 4, foi feita a tricotomia na região dorsal mediana, seguida da anti-sepsia com álcool iodado a 2,0%. O ato cirúrgico se realizou em condições de assepsia e, em cada animal, foram realizadas duas incisões de 2.0cm, aprofundadas até a fascia do músculo *Latissimus dorsi*, uma na região dorsocefálica que serviu para implantação da MFCO, e outra na região dorsocaudal, que serviu ao controle sham. Em seguida, as feridas foram aproximadas e as bordas suturadas com fios de seda 3-0 em ponto simples (Tecnofio. Goiânia – Brasil). Os animais foram acompanhados diariamente durante o tempo que durou o experimento, sem uso de ração especial e disponibilidade de água “ad libitum”. Depois de vencidos os tempos estabelecidos para o experimento, os animais foram mortos com superdose de tiopental (Thiopentax – Cristalia – Brasil).

As peças retiradas foram fixadas em formol tamponado a 10,0% durante uma semana e depois processadas para cortes em parafina. Secções de 5m de espessura foram obtidas, desparafinizadas e hidratadas. A coloração foi feita com uma solução de azul de toluidina a 1% (A 1111. 01. AD, Synth. São Paulo – Brasil) diluída em tampão fosfato (pH=4-6) nos espécimes pelo tempo de 45 segundos. Depois, as lâminas foram lavadas com solução tampão fosfato por um minuto, rapidamente desidratadas através de etanol e acetona p.a, a 70, 96%, passadas no xilol e montadas em balsamo do Canadá. Para a coloração do picrossírius, as lâ-

minas foram coradas usando-se a solução de Sírius Red (Sírius Red F3B 2000, Mobay Chemical, Union, NJ – USA) a 0,1%, dissolvida em ácido pícrico aquoso saturado. Após a lavagem em água corrente, os espécimes histológicos foram contracorados com hematoxilina-eosina, e as lâminas montadas em balsamo do Canadá para leitura.

Para a identificação e quantificação dos mastócitos, foram contados dez campos no subcutâneo de cada espécime (400x), nos tecidos adjacentes à MFCO, em um campo de 0,0490625 mm², determinado pela expressão matemática $A = \frac{\delta d^2}{4}$, onde $d = 0,25$; $\delta = 3,14$; $d = 0,25$ mm e fator de correção 1x, em uma secção representativa de cada espécime. Nos grupos de controle sham, igualmente foram contados os mastócitos em dez campos, nas áreas correspondentes à manipulação tecidual que envolvia a derme e o subcutâneo. A quantificação do colágeno foi feita usando-se a intensidade dessas fibras em graus mínimo (grau1), pequeno (grau 2), médio (grau 3) e grande (grau 4), considerando-se as áreas nas proximidades da membrana para o grupo experimental e nas áreas de manuseio cirúrgico para o controle sham em objetiva 40x. Para a análise estatística dos resultados, foi usado o teste “t” de Student, aceitando-se, para as diferenças entre os grupos experimentais e o de controle, o valor de $p = 0,05\%$.

RESULTADOS

O exame clínico das áreas operadas dos animais dos grupos sham e experimental não revelou resposta tecidual que indicasse necrose ou processo infeccioso.

· 24 horas

O estudo histológico da pele de cada animal do grupo 1 (sham e experimental) revelou a destruição do tecido epitelial pavimentoso estratificado, ceratinizado na área operada, formando, em seu lugar, uma camada amorfa de coágulo. No tecido conjuntivo subjacente, identificou-se uma área estreita de destruição, que envolvia a região papilar e reticular, e, no tecido conjuntivo subcutâneo, uma grande área de lise.

· **1 semana**

No exame histológico da pele dos animais do grupo 2 (sham e experimental), foi evidenciada a reepitelização, com hiperplasia fisiológica de queratinócitos. Na derme papilar e reticular, foram identificadas áreas com densa população fibroblástica, o mesmo ocorrendo na região subcutânea. No grupo experimental, os fibroblastos povoaram a área de destruição, que se concentrou adjacente à membrana implantada e nas suas proximidades.

· **2 semanas**

No exame histológico do grupo 3, foi identificado um epitélio pavimentoso estratificado, ceratinizado e subjacente, e, na derme papilar e reticular, observou-se área de população fibroblástica numerosa no grupo sham. Nos espécimes do grupo experimental, foi igualmente identificada, no tecido conjuntivo subcutâneo, especialmente nas proximidades da membrana implantada, numerosa população fibroblástica.

· **3 semanas**

No grupo 4 (sham e experimental), o tecido epitelial do tipo pavimentoso estratificado ceratinizado mostrou-se composto de queratinócitos, formando uma faixa epitelial de espessura uniforme. O tecido conjuntivo das áreas papilar, reticular e subcutâneo dos animais do grupo sham revelou células e feixes de fibras dentro da normalidade. Entretanto, no grupo experimental, discreto aumento fibroblástico foi ainda observado no conjuntivo subcutâneo adjacente à membrana implantada.

O exame histológico para a quantificação do colágeno revelou, no grupo sham de 24 horas, nas áreas de intervenção, zonas de lise colágena, representadas por espaços claros e feixes colágenos delicados, limitadas por uma região normal com densidade expressiva de fibras. Nas áreas de inflamação do grupo sham, a quantidade de colágeno foi considerada pequena e, no grupo experimental, observou-se, na junção da membrana-tecido, mínima quantidade de colágeno, com a presença de muitas áreas claras, representantes do edema intercelular. No grupo sham de uma semana, a presença de

colágeno foi considerada de média intensidade; portanto, as áreas mostraram-se preenchidas por feixes finos e curtos de fibras. No grupo experimental, a quantidade de colágeno foi considerada, na maioria dos espécimes, como de média intensidade. Nos espécimes do grupo sham de duas semanas, o colágeno foi identificado como de grande intensidade, com as fibras já em arranjo e condensação. No grupo experimental, identificou-se, no limite da junção membrana-tecido, uma quantidade média de colágeno, que formava uma faixa bem estreita. No grupo sham e experimental de três semanas, as fibras colágenas presentes se arranjaram com orientação definida, correndo paralelas ao corpo e em grande quantidade. As observações histológicas mostraram que os mastócitos se localizaram preferencialmente à distância das áreas manuseadas e na periferia dos vasos sanguíneos. Poucos foram os mastócitos encontrados nas zonas de inflamação ou de proliferação fibroblástica.

A quantificação dos mastócitos e a intensidade do colágeno nos grupos 1, 2, 3 e 4 sham e experimental está inserida na tabela 1 e 2, respectivamente.

Os resultados estatísticos comparados entre os grupos experimental e sham, em 1, 2, 3 e 4, revelaram não existir significância estatística. Os valores encontrados foram $p = 0,218$ para vinte e quatro horas, $p = 0,421$ para uma semana, $p = 0,116$ para duas semanas e $p = 0,668$ para três semanas. Os valores encontrados entre os grupos sham de vinte e quatro horas e experimental de três semanas foi $p = 0,014$, e entre o grupo experimental de vinte e quatro horas e o sham de 3 semanas foi $p = 0,001$, portanto, estatisticamente significativa.

DISCUSSÃO

Durante muitas décadas, os mastócitos estiveram diretamente relacionados aos processos alérgicos e parasitários, por liberarem histamina através da desgranulação, no processo de exocitose, desencadeado pela interação entre a imunoglobulina E (IgE) e seu receptor de membrana ($Fc\epsilon RI$) (DE MORA;

Tabela 1 - Quantificação do número de mastócitos por campo nos grupos sham e experimentais nos tempos de 24 horas, uma, duas e três semanas.

Animais	Tecido conjuntivo subcutâneo							
	24 horas		1 semana		2 semanas		3 semanas	
	Sham	Exp	Sham	Exp	Sham	Exp	Sham	Exp
1	3,0	4,5	8,9	3,4	2,5	6,5	8,3	10,6
2	4,3	4,5	7,6	10,8	9,0	4,8	11,8	7,0
3	3,9	4,1	5,5	5,1	6,0	4,0	9,1	7,5
4	8,0	5,4	4,4	5,9	7,3	6,0	11,3	7,6
5	6,0	3,1	5,4	6,3	5,1	6,5	7,6	8,2
6	4,5	8,0	8,5	6,7	10,7	5,5	8,5	8,4
7	5,0	3,6	10,2	10,1	8,7	6,6	5,2	10,8
8	7,7	2,2	5,6	7,5	10,4	10,1	11,9	9,3
9	6,7	3,7	12,8	6,8	11,2	4,5	8,7	12,2
10	7,5	6,7	8,5	6,7	6,1	4,9	8,7	4,6
Média/grupo	5,66	4,58	7,74	6,93	7,70	5,94	9,11	8,62

Nota: Sham = controle manuseado; Exp = experimental

Tabela 2 - Intensidade das fibras colágenas nos grupos sham e experimentais nos tempos de 24 horas, uma, duas e três semanas.

Grupo	Tecido conjuntivo subcutâneo			
	24 horas	1 semana	2 semanas	3 semanas
Sham	2	3	4	4
Exp	1	3	3	4

Nota: Sham = controle manuseado; Exp = experimental; Mínima intensidade = 1; Pequena Intensidade = 2; Média intensidade = 3; Grande intensidade = 4.

PUIGDEMONT; TORRES, 2006; SAYED; BROWN, 2007), quando antígenos foram difundidos pelo humores teciduais. Entretanto, há alguns poucos anos e atualmente, o papel funcional dos mastócitos tem sido vinculado também aos processos de regular inflamação (ANDERSON, 2001; COLEMAN, 2002), a processos patológicos diversos (STEINSVOLL; HELGELAND; SCHENCK, 2004; BATISTA; RODINI; LARA, 2005) e na resposta adversa aos materiais (REZZANI et al., 2004).

Os nossos resultados, fundamentados no menor número de mastócitos presentes nos tecidos dos grupos sham e experimental, nas primeiras vinte e quatro horas, não se revelaram estatisticamente significantes. Entretanto, quando foram comparados os resultados dos grupos de vinte e quatro horas com os experimentais e sham de três semanas, os resultados foram esta-

tisticamente significantes, sugerindo que parte da população de mastócitos das áreas teciduais envolvidas é perdida no processo de desgranulação, justificando-se, assim, a diminuição dessas células nas primeiras horas do processo inflamatório agudo. Esses resultados estão em concordância com os de Egozi e colaboradores (2003). Por outro lado, em nossos experimentos que envolveram os grupos sham e experimental, o número dessas células foi crescente nas semanas seguintes, exceto na segunda, o que sugere o curso normal de um processo de repopulação. Os nossos dados concordam com as informações de que a repopulação se inicia em quarenta e oito horas após a instalação da inflamação aguda (EGOZI et al., 2003). Entretanto, contrariamente ao esperado, o número de mastócitos foi menor nos grupos experimentais que nos grupos sham, mas não foi estatisticamente significativa, indicando uma aceitação da membrana. Possivelmente fatores desencadeados pela intensidade da resposta inflamatória ou originados dos macrófagos se relacionem com essa inibição, considerando-se que a presença de mastócitos foi menor nas áreas de maior concentração de neutrófilos e macrófagos, pelo menos nos primeiros dias do processo inflamatório agudo. É provável que as citocinas dos macrófagos exerçam algum tipo de influência reguladora, porque, nos grupos sham, o número de macrófagos foi menor que nos grupos experimentais nos tempos de duas e

três semanas, segundo os resultados de Oliveira (2006), que trabalhou com biocompatibilidade dos materiais. A presença dos mastócitos nas proximidades dos vasos sanguíneos torna inquestionável a associação dessas células com a vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular (NOLI; MIOLO, 2001; MALBEC; DAERON, 2007; STEINSVOLL; HELGELAND; SCHENCK, 2004), o que é concordante com as nossas observações histológicas. Essas observações são concordantes com as informações de Salamon e colaboradores (2005) que relacionam o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) produzido pelos mastócitos como estimulante de células endoteliais para a produção de moléculas de adesão, e com as de Egozi e colaboradores (2003), que consideram o recrutamento de neutrófilos para os tecidos e a quimiotaxia com a produção de interleucina 8 e 9 (IL-8 e IL-9).

Segundo Noli e Miolo (2001), a deposição de colágeno pelos fibroblastos é estimulada pelos mastócitos. Entretanto, essa informação não foi confirmada no trabalho experimental de Egozi e colaboradores (2003). Os nossos resultados indicam que, em duas semanas, houve mais colágeno no grupo com maior número de mastócitos; entretanto, na terceira semana, essa correspondência não se sustentou. Apesar de o número de mastócitos no grupo sham ter sido maior, a quantidade de colágeno foi semelhante, e os mastócitos estavam distantes das áreas onde o colágeno novo foi produzido. As observações teciduais não indicaram que a presença de neovascularização se relacione com os mastócitos, porque os estudos com animais normais e deficientes em mastócitos não mostraram existir diferenças estatisticamente significantes (EGOZI et al., 2003).

As informações da literatura consideram que os mastócitos migram para os nódulos linfáticos (SAYED; BROWN, 2007; NOLI; MIOLO, 2001; REZZANI, et al., 2004), onde se relacionam com as células dendríticas (KITAWAKI, et al., 2006), com os linfócitos T virgens (SAYED; BROWN, 2007; SALAMON, et al., 2005). Os mastócitos contribuem com citocinas para o recrutamento de neutrófilos, na resposta específica, interagindo com os

linfócitos T virgens para a diferenciação em células Th₁ e Th₂ (EGOZZI et al., 2003) e através da prostaglandina D₂ (PGD₂), mediando a ação das células dendríticas sobre os linfócitos T virgens, diferenciando-os em linfócitos Th₂, (KITAWAKI, et al., 2006; SAYED; BROWN, 2007). A IL-4 dos mastócitos age sobre as células T virgens, permitindo a sua diferenciação para as células Th₂ (STEINSVOLL; HELGELAND; SCHENCK, 2004), enquanto a IL-12 participa na diferenciação da célula T virgem para a Th₁. Assim, a estreita relação entre os mastócitos e os linfócitos parece ser positiva no processo de indução à diferenciação, mas é certo que os mastócitos não participam da produção de linfócitos, porque, nos estudos de Egozi e colaboradores (2003), não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre o número de linfócitos de animais normais e deficientes em mastócitos.

Tradicionalmente, a avaliação da biocompatibilidade dos materiais em testes secundários, descritos por Stanford (1980), contempla os polimorfonucleares neutrófilos, os macrófagos, os linfócitos, os plasmócitos e as células gigantes. Nos critérios de biocompatibilidade descritos por Molea e colaboradores (2000), são acrescidos os fibroblastos, os eosinófilos, o diâmetro da reação inflamatória e a quantificação total das células. Em nosso estudo, foi usada uma membrana biocompatível, de modo que não foi possível avaliar a presença dos mastócitos em áreas com infiltração linfoplasmocitária. A sugestão de Rezzani e colaboradores (2004) para a utilização dos mastócitos como células indicadoras de biocompatibilidade está fundamentada na presença dessas células em quantidade estatisticamente significativa no tecido conjuntivo e nos nódulos linfáticos, em resposta a uma das três ligas metálicas que estudaram. Os nossos achados mostraram que os mastócitos foram localizados à distância do foco maior da inflamação, onde a sua presença foi muito pequena, indicando uma atuação de mediação nos processos de regeneração. O conhecimento da presença de mastócitos nos linfonodos e no tecido conjuntivo em número estatisticamente significativo em resposta a uma liga metálica, comparada a

outras, permitiu a Rezzani e colaboradores (2004) considerarem o seu uso como indicador de uma resposta adversa. Entretanto, no nosso entendimento, o uso desse conhecimento na formulação de algum tipo de teste, mesmo inicial, que envolva os linfonodos, parece difícil na rotina da prática cirúrgica experimental.

CONCLUSÃO

Considerando o modelo escolhido, as condições estabelecidas e os resultados obtidos,

é possível concluir que: 1. a presença dos mastócitos, nos tecidos adjacentes à membrana fibrosa da casca de ovo, sugere uma aceitação, servindo para os testes iniciais de biocompatibilidade; 2. a inclusão dos mastócitos nos critérios de avaliação para os testes secundários de biocompatibilidade parece não ser pertinente; e 3. novas pesquisas com materiais que induzam respostas não biocompatíveis precisam ser realizadas.

Could biocompatibility of the materials be evaluated by the mast cells?

Abstract

*The main objective of this research is to study the role of mast cells in the process of wound healing considering its presence in the creation of an assessment criteria and interpretation of biocompatibility in tissue response. The experiment had been managed in forty *Rattus norvegicus albinus* divided randomly into four groups (1,2,3 and 4) for evaluation in 24 hours, one, two, and three weeks, respectively. Each animal had been provided for the experiment groups (dorsocephalic region) and a biocompatible membrane had been inserted in the subcutaneous connective tissue and sham control (dorsocaudal region) where the connective tissue had been only manipulated. The results asserted that in the experiment groups, the amount of mast cells in the tissue had been lower than in the respective sham groups, however the comparison with the amount of these cells have not shown any statistic relevance. The statistic values found for $p=0,05\%$, using the "t" test by Student, comparing each experimental group with its respective sham, had been of: group 1 ($p=0,218$), group 2 ($p=0,421$), group 3 ($p=0,116$) and group 4 ($p=0,668$). In a nutshell, not very statistically significant. The values between the 24-hour sham group and the experimental three-week group had been of $p=0,014$ and the comparison between the experimental 24-hour group and the three-week sham group had been of $p=0,001$. The conclusion is that the presence of mast cells in adjacent areas of the membrane proposes a non-rejective response. However, new researchs must be done in order to clarify the viability of inserting those cells in secondary biocompatibility tests*

Keywords: *biocompatibility; mast cells; eggshell membrane*

REFERÊNCIAS

ANDERSON, J.M. Biological responses to materials. *Annu. Rev. Mater. Res.*, Palo Alto, v.31, p.81-110, 2001.

BATISTA, A.C.; RODINI, C.O.; LARA, V.S. Quantification of mast cell in different stages of human periodontal disease. *Oral Dis.*, Copenhagen, v.11, n.5, p.249-254, 2005.

COLEMAN, J.W. Nitric oxide: a regulator of mast cell activation and mast cell-mediated inflammation. *Clin. Exp. Immunol.*, Oxford, v.129, n.1, p.4-10, 2002.

DE MORA, F.; PUIGDEMONT, A.; TORRES, R. The role of mast cells in atopy: what can we learn from canine models? A thorough review of the biology of mast cells in canine

- and human systems. *Br. J. Dermatol.*, Oxford, v.155, n.6, p.1109-1123, 2006.
- EGOZI, E.I. et al. Mast cells modulate the inflammatory but not the proliferative response in healing wounds. *Wound Repair Regen.*, Malden, v.11, n.1, p.46-54, 2003.
- KITAWAKI, T. et al. IgE- activated mast cells in combination with pro-inflammatory factors induce Th2- promoting dendritic cells. *Int. Immunol.*, Oxford, v.18, n.17, p.1789-1799, 2006.
- MALBEC, O.; DAERON, M. The mast cell IgG receptors and their roles in tissue inflammation. *Immunol. Rev.*, Copenhagen, v.217, n.1, p.206-221, 2007.
- MOLEA, G. et al. Comparative study on biocompatibility and absorption times of three absorbable monofilament suture materials (Polidyoxanone, 25, Glycomer 631). *Br. J. Plastic Surg.*, Edinburgh, v.53, p.137-141, 2000.
- NOLI, C.; MIOLO, A. The mast cell in wound healing. *Vet. Dermatol.*, Oxford, v.12, n.6, p.303-313, 2001.
- OLIVEIRA, M.Q. *Estudo da biocompatibilidade da membrana fibrosa da casca do ovo para fins de enxerto*. 2006. 192f. Tese (Doutorado)-Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.
- REZZANI, R. et al. Mast cells and the inflammatory response to different implanted biomaterials. *Arch. Histol. Cytol.*, Niigata, v.67, n.3, p.211-217, 2004.
- SALAMON, P. et al. Human mast cells release Interleukin-8 and induce neutrophil chemotaxis on contact with activated T cells. *Allergy*, Copenhagen, v.60, n.10, p.1316-1319, 2005.
- SAYED, B.A.; BROWN, M.A. Mast cells as modulators of T-cell responses. *Immunol. Rev.*, Copenhagen, v.217, n.1, p.56-64, 2007.
- STANFORD, J.W. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *Int. Dent. J.*, London, v.30, n.2, p.141-188, 1980.
- STEINSVOLL, S.; HELGELAND, K.; SCHENCK, K. Mast cells: a role in periodontal diseases? *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.31, n.6, p.413-419, 2004.

Recebido em / Received: 30/01/2008
 Aceito em / Accepted: 20/03/2008