

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA
CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCO-MAXILO-FACIAL**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE UM CAMPO MAGNÉTICO
PERMANENTE NA CICATRIZAÇÃO ÓSSEA EM FÊMURES DE RATOS**

por

Lucienne Miranda Ulbrich

**Dissertação apresentada como parte dos requisitos obrigatórios
para obtenção do título de MESTRE em CLÍNICA ODONTOLÓGICA / CIRURGIA
E TRAUMATOLOGIA BUCOMAXILOFACIAL.**

**Profa. Dra. Edela Puricelli
Orientadora**

Porto Alegre, setembro de 2003

À Prof.^a Dr.^a Edela Puricelli,

"As pessoas que vencem neste mundo são as que procuram as circunstâncias de que precisam e, quando não as encontram, as criam." (Bernard Shaw)

Pela dedicação incomparável à minha formação pessoal e profissional,

pela orientação presente em todas as etapas da realização deste trabalho,

pela idéia original,

dedico este trabalho.

A **Deus**, pela dádiva da vida, do amor e por me guiar até a realização deste sonho;

Aos meus pais, **Ionne e Paulo**, pelo exemplo de muito amor incondicional, abnegação e profissionalismo. Vocês foram a pedra fundamental para que eu chegasse até aqui;

Ao meu irmão, **Fernando**, pela amizade especial e pelas consultorias técnicas nas áreas de matemática e física;

Aos meus avós maternos, **Elza e Miranda**, por significarem na minha vida muito mais do que palavras podem expressar;

Ao meu tio, **Ivan Miranda**, pelo exemplo de amor, desprendimento, cuidado e muita amizade em todos os momentos;

Aos meus avós paternos, **Maria da Luz e Henrique**, pelo carinho demonstrado a cada passo do caminho;

Ao meu tio **Emílio Ulbrich**, pela preciosa ajuda na redação do texto em inglês;

Ao meu tio **Henrique Ulbrich e família**, por terem sido, mesmo de longe, amigos em todas as horas;

Ao **Flávio**, por traduzir o verdadeiro significado de amor e companheirismo;

À **Mári Estela Kenner**, pela tradução diária de amizade incondicional nestes dois anos de intenso convívio;

À **Profa. Dra. Deise Ponzoni**, por ter sido mestre, amiga e incentivadora durante todos os momentos da realização deste curso;

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa do Coordenador **Prof. Pantelis Varvaki Rados**, por acreditar na formação docente da Odontologia;

Aos colegas do **Instituto Puricelli e Associados**, nas pessoas de **Isabel Pucci, João Júlio da Cunha Filho, Carlos Cardoso, Carlos Baraldi, Gustavo Martins e Marcel Fasolo**, pela amizade e por me ensinarem a trabalhar em equipe;

Ao **Prof. Paulo Pureur**, pela ajuda na confecção dos cálculos do trabalho;

Aos colegas do Programa de Capacitação **Mauro Leite, Tatiana Hennigen, Maurício Pereira, Nardier Borges Dutra, Tatiana Agostini, Bianca de Oliveira e Adriana Corsetti** pela ajuda na realização da parte experimental deste trabalho;

Aos funcionários da UFRGS, em especial ao **Sr. Lopes** e à **Sra. Vera Vieira**, pela dedicação e amizade constantes;

Aos colegas de trabalho do **Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, por terem proporcionado um excelente ambiente de trabalho e estudo;

Aos colegas da **turma do mestrado**, pelos bons momentos de convívio;

Ao **Dr. Lionel Leitzke, Ivone Leitzke, Mirelle, Thomas e Klaus** pela acolhida nesta cidade;

À **Isabel Lauxen**, pelo trabalho na preparação das lâminas;

Às bibliotecárias **Norma Beatriz Loureiro Ataíde e Eloísa Futuro Pfitscher**, pela inestimável ajuda na correção das referências bibliográficas;

Aos funcionários do Biotério da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial à **Sra. Geni Fernandes da Silva** e ao **Sr. Ernani Carmona** pela presteza e dedicação no cuidado com os animais;

Meus sinceros agradecimentos

***“Instruir-te-ei e te ensinarei o
caminho que deves seguir,
e, sob as minhas vistas,
te darei conselho.”***

Daví

RESUMO

Proposição: estudar a qualidade da cicatrização óssea sob efeito de um campo magnético permanente, sepultado, *in vivo*. **Materiais e Método:** foi criado um modelo metálico composto de duas arruelas de aço inoxidável, fixadas, cada uma, à estrutura óssea, através de parafusos de titânio comercialmente puro. Neste estudo experimental, randomizado, com grupos testes e controle, foram selecionados 24 ratos da raça *Rattus norvegicus albinus*, cepa *Wistar*, divididos em cinco grupos, sendo quatro testes e um controle. Cada animal foi submetido à cirurgia para a fixação de um par de dispositivos metálicos no fêmur esquerdo, tangenciando uma cavidade cirurgicamente criada. Nos grupos testes as arruelas foram posicionadas de modo que exercessem forças de atração mútua. Os animais foram sacrificados aos 15, 30, 45 e 60 dias pós-operatórios. As peças foram submetidas à avaliação histológica. **Resultados:** entre os grupos de 15 e 30 dias, a cicatrização dos grupos testes mostrou-se acelerada em relação aos controles. Aos 45 dias, ambos os grupos revelaram resultados pouco divergentes entre si. Aos 60 dias, houve marcada neoformação óssea no grupo teste, propondo um efeito de estimulação magnética continuada durante todo o período experimental. **Conclusão:** a liga de aço inoxidável imantada, sepultada, *in vivo*, foi capaz de estimular e acelerar o processo de cicatrização óssea.

ABSTRACT

Proposition: To study the quality of bone healing under the effect of a permanent magnetic field, buried, *in vivo*. **Materials and Method:** it was created a metallic model made up of two stainless steel washers, each one attached to the bone structure by means of a commercially pure titanium screw. In this randomized experimental study with test groups and control, twenty four rats were selected, divided into five groups, from which four were test and one was control. Each animal was submitted to surgery aiming at fastening a pair of metallic devices on the left femur lightly touching a surgically created hollow. In the test groups, the washers were set in order to apply mutual attraction forces. The animals were sacrificed after fifteen, thirty, forty-five and sixty days following the operation. The pieces were submitted to histological evaluation. **Results:** among the fifteen and thirty-day groups, the test groups showed up more accelerated healing in relation to control groups. After forty-five days, both groups presented little dissimilar results between them. After sixty days, there was marked bone neoformation in the test group, proposing a continuing magnetic stimulation effect throughout the experimental period. **Conclusion:** the magnetic stainless steel alloy, buried, *in vivo*, was able to stimulate and accelerate the bone healing process.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Dispositivos metálicos utilizados no experimento: parafusos de titânio e arruelas de aço inoxidável. Na arruela da direita a marcação (←), por ranhura, identifica o pólo sul. 49
- Figura 2** Protótipo inicial montado para a medição da intensidade do campo magnético. Observa-se a eliminação de duas corticais. O modelo foi modificado para possibilitar a aplicação do sensor. Observam-se as porções distal (D) e proximal (P) do fêmur. 49
- Figura 3** Face medial da diáfise do fêmur esquerdo, após divulsão dos tecidos e descolamento do periósteo. Observam-se as porções distal (D) e proximal (P) do fêmur..... 52
- Figura 4** Posicionamento da trefina para a confecção da cavidade cirúrgica. Observam-se as porções distal (D) e proximal (P) do fêmur..... 52
- Figura 5** Aspecto da cavidade cirúrgica, no centro da face medial, mantendo a integridade dos bordos ósseos. Observam-se as porções distal (D) e proximal (P) do fêmur. 53
- Figura 6** Posicionamento da broca guia para a confecção dos orifícios dos parafusos. Observam-se as porções distal (D) e proximal (P) do fêmur. 53
- Figura 7** Aspecto da diáfise medial do fêmur, apresentando a cavidade cirúrgica e os dois orifícios dos parafusos, com sangramento efetivo, e colocados, respectivamente, por distal (D) e proximal (P) do fêmur. 54
- Figura 8** Posicionamento do primeiro parafuso, com sua respectiva arruela, à esquerda da cavidade cirúrgica, ou seja, na porção distal (D) do fêmur. 54
- Figura 9** Posicionamento dos parafusos e suas respectivas arruelas, tangenciando os limites da cavidade cirúrgica. Entre as arruelas e sobre a cavidade cirurgicamente obtida, registra-se a distância de 1,3 mm que corresponde à área de atuação do campo magnético. 56

Figura 10	Sutura a pontos isolados dos planos profundos.....	56
Figura 11	Sutura a pontos isolados da pele.....	57
Figura 12	Grupo controle 15 dias: cavidade cirúrgica (CC) preenchida por medula (MO) e início da formação do trabeculado ósseo (TO) (HE 40X).....	62
Figura 13	Grupo controle 15 dias: cavidade cirúrgica (CC) em maior aumento. Nota-se intensa atividade osteoblástica e início da organização da cortical medial (CM) (HE100X).....	62
Figura 14	Grupo controle 15 dias: aspecto da cavidade cirúrgica (CC) com grande riqueza celular, permeada por trabéculas ósseas. Destaca-se a presença de células multinucleadas (→) (HE 200x).	63
Figura 15	Grupo controle 15 dias: loja do parafuso (LP) delimitada por osso cortical (OC) na superfície e medular (MO) em profundidade (HE 40X).....	63
Figura 16	Grupo teste 15 dias: cavidade cirúrgica (CC) com intensa formação de trabeculado ósseo (TO) em direção ascendente. Observa-se o perfil que margeia a loja da arruela (A) (HE 40x).	65
Figura 17	Grupo teste 15 dias: maior aumento da área da cavidade cirúrgica (CC). Nota-se a formação de trabéculas ósseas (TO) entremeadas de espaços medulares (EM). Observam-se áreas de neoformação (→) e possíveis lacunas de reabsorção (←) (HE 100x).	65
Figura 18	Grupo teste 15 dias: áreas de neoformação (→) e reabsorção (←) ósseas; disposição das lamelas ósseas neoformadas (HE 200x).	66
Figura 19	Grupo teste 15 dias: loja do parafuso (LP) completamente revestida por tecido ósseo neoformado (O) (HE 40X).	66

- Figura 20** Grupo controle 30 dias: aspecto do trabeculado ósseo (TO) e espaços medulares (EM). Nota-se o início da formação de vasos sanguíneos (→) e células adiposas (CA) (HE 40x)..... 68
- Figura 21** Grupo controle 30 dias: aspecto da cortical medial (CM) da cavidade cirúrgica levemente convexa. Presença de reação inflamatória (RI) a corpo estranho junto ao espaço de localização das arruelas não imantadas (HE 100x). 68
- Figura 22** Grupo controle 30 dias: aspecto da medula óssea hemopoiética (MO), com organização de vasos sanguíneos (←) e degeneração gordurosa (→) (HE 100x)..... 69
- Figura 23** Grupo controle 30 dias: loja do parafuso (LP) completamente circundada por tecido ósseo neoformado (TO) (HE 40x). 69
- Figura 24** Grupo teste 30 dias: cicatrização do tecido ósseo (O) ascendente a partir do endóstio da cortical da cavidade cirúrgica. Presença de exacerbada reação fibrosa a corpo estranho (RI) (HE 40x). 71
- Figura 25** Grupo teste 30 dias: neoformação óssea retangular (O) localizada abaixo da arruela imantada, com a loja do parafuso (LP) à direita. Exacerbada reação inflamatória a corpo estranho (RI) envolvendo a área de localização da arruela imantada (AI) e invadindo a cavidade cirúrgica (HE 40x). 71
- Figura 26** Grupo teste 30 dias: maior aumento da neoformação óssea retangular (O) localizada abaixo da arruela imantada. Nota-se a presença de osteócitos (↘) e lamelas ósseas dispostas horizontalmente (HE 100x)..... 72
- Figura 27** Grupo teste 30 dias: loja do parafuso (LP) revestida por espessa camada de osso compacto (O) (HE 40x). 72
- Figura 28** Grupo controle 45 dias: cavidade cirúrgica (CC) com tecido ósseo maduro, vasos sanguíneos e áreas de remodelação interna. Nota-se a presença de cápsula fibrosa (CF) na parte superior do corte (HE 40x). 74

- Figura 29** Grupo controle 45 dias: composição de fotos da cápsula fibrosa (CF) de tecido conjuntivo correspondente à área de localização da arruela não imantada. Pelo efeito de aproximação, não se identifica a loja do parafuso (HE 40x). 74
- Figura 30** Grupo controle 45 dias: aspecto do tecido ósseo na área cortical cicatrizada. Nota-se a presença de lamelas ósseas dispostas de forma entrelaçada dirigidas para o interior da cavidade cirúrgica (HE 100x). 75
- Figura 31** Grupo controle 45 dias: loja do parafuso (LP) com delgada camada de tecido inflamatório reacional (RI).(HE 40x). 75
- Figura 32** Grupo teste 45 dias: cavidade cirúrgica (CC) com tecido ósseo maduro, presença de vasos sanguíneos e áreas de remodelação interna. Nota-se um padrão semelhante entre a área cicatrizada e o tecido ósseo circundante (O) impedindo delinear o limite da osteotomia. À direita da figura localiza-se a loja do parafuso (LP). O osso lamelar horizontal representa a localização da arruela imantada (AI) (HE 40x). 77
- Figura 33** Grupo teste 45 dias: aspecto da cavidade cirúrgica, mostrando trabéculas ósseas (TO) e espaços medulares (EM) em maior aumento com padrões compatíveis com a normalidade tecidual (HE 100x). 77
- Figura 34** Grupo teste 45 dias: aspecto da medula hemopoiética com degeneração gordurosa (→) e fragmento de osso trabecular (O) Notam-se áreas de reabsorção óssea (✓) compatíveis com a fase de remodelação (HE 100x). 78
- Figura 35** Grupo teste 45 dias: aspecto da loja do parafuso (LP). Chama a atenção a pouca presença de tecido conjuntivo fibroso no espaço (HE 40x). 78
- Figura 36** Grupo controle 60 dias: cortical medial da cavidade cirúrgica associada à reação fibrosa (RI) a corpo estranho. Nota-se tecido ósseo maduro (O) na cavidade cirúrgica, com poucos espaços medulares (EM) (HE 40x). 80
- Figura 37** Grupo controle 60 dias: aspecto da loja do parafuso (LP) (HE 40x). 80

- Figura 38** Grupo teste 60 dias: composição de fotos da seqüência da cavidade cirúrgica (CC) e suas corticais distal e proximal. Margem cicatricial (MC) com projeções da neoformação óssea, além dos limites externos da cortical, delineando o perfil dos componentes metálicos imantados (AI) deste modelo (HE 40x). 82
- Figura 39** Grupo teste 60 dias: loja do parafuso (LP). Notam-se extensões de tendências sinuosas, mas horizontalizadas a partir da loja do parafuso (HE100x). 83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A:..... ampère

BMP: . proteína morfogenética óssea

C:..... coulomb

°C: grau Celsius

cm: centímetro

CO₂:..... dióxido de carbono

Fe: ferro

g: grama

G: gauss

H:..... hidrogênio

HA: hidroxiapatita

kg: quilograma

kV: quilovolt

mA: miliampère

mg: miligrama

ml: mililitro

mm: ... milímetro

mT: miliTesla

mV: milivolt

NBR: norma brasileira

Oe: oersted

OH:..... hidroxila

SI: sistema internacional de unidades

T: tesla

TGF β : . fator de transformação do crescimento

β : beta

μm : micrometro

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	13
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Fisiologia do tecido ósseo	19
2.2 Histologia do tecido ósseo	21
2.3 Cicatrização óssea após fraturas	23
2.4 Cicatrização óssea experimental	25
2.5 Propriedades físicas do aço-carbono	37
2.6 Propriedades eletromagnéticas da matéria	40
3. PROPOSIÇÃO	45
4. MATERIAIS E MÉTODO	46
4.1 Dispositivos metálicos	46
4.2 Cálculo do campo magnético	47
4.3 Seleção da amostra	48
4.4 Procedimentos cirúrgicos	50
4.5 Estudo Radiográfico	58
4.6 Estudo Histológico	58
4.7 Considerações Éticas	59
5. RESULTADOS	60

5.1 Grupo controle 15 dias	60
5.2 Grupo teste 15 dias	64
5.3 Grupo controle 30 dias	67
5.4 Grupo teste 30 dias	70
5.5 Grupo controle 45 dias	73
5.6 Grupo teste 45 dias	76
5.7 Grupo controle 60 dias	79
5.8 Grupo teste 60 dias	81
6. DISCUSSÃO	84
7. CONCLUSÕES	91
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
9. ANEXOS	
9.1 Projeto gráfico dos dispositivos metálicos	95
9.2 Parecer do comitê de ética em pesquisas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul	96

1. INTRODUÇÃO

A cirurgia bucomaxilofacial, dentre as suas várias áreas de investigação experimental, busca estimular o reparo ósseo, após intervenções cirúrgicas, com o uso de variados tipos de biomateriais. As principais estratégias de pesquisa para reduzir insucessos clínicos objetivam melhorar as características dos biomateriais e estimular o reparo ósseo endógeno. Isto se faz através de uma cuidadosa avaliação dos dois processos por modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*, antes de qualquer aplicação clínica.

Além do avanço na área dos biomateriais, o reparo ósseo endógeno espontâneo pode ser estimulado com tratamentos associados a procedimentos cirúrgicos padronizados, contribuindo, assim, para acelerar a cicatrização óssea.

Atualmente, os campos eletromagnéticos são distribuídos no meio ambiente e seus efeitos estão aumentando, devido ao progressivo desenvolvimento de equipamentos elétricos. Os efeitos terapêuticos destes também têm sido estudados. Através de pesquisas observa-se a ação destes campos interferindo em diversas funções celulares (ISHISAKA, 2000).

Os trabalhos publicados relatam pesquisas de campos eletromagnéticos intermitentes no tratamento de uma variedade de condições na área de traumatologia e ortopedia. Dentre elas, podem ser citadas as pseudoartroses pós-fraturas, integração de enxertos ósseos, osteoporose, osteonecrose e áreas osteotomizadas (OISHI, ONESTI, 2000).

Entretanto, poucos estudos examinaram os efeitos da estimulação através de campos eletromagnéticos em fraturas recentes (GRACE, REVELL, BROOKES, 1998). Esta modalidade terapêutica está largamente relacionada com a promoção de reparo tecidual. Possíveis mecanismos de ação de campos eletromagnéticos intermitentes para estimular a osteogênese incluem a promoção de vascularização, produção de colágeno, proliferação e diferenciação de células osteogênicas. A arquitetura molecular da matriz extracelular é um ponto crítico para o funcionamento dos tecidos conjuntivos. Do mesmo modo, para um reparo bem sucedido, deve haver apropriada síntese e organização de matriz extracelular (AARON, WANG, CIOMBOR, 1993; MATSUMOTO et al, 2000).

Este trabalho experimental objetiva contribuir para o entendimento dos processos de respostas do tecido ósseo. O estímulo celular é provocado por campos magnéticos permanentes, sepultados, *in vivo*, e mantidos durante todo o período experimental. A busca por informações e experiências já realizadas por outros autores não revela, dentro do nosso alcance, trabalhos desta ordem.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FISIOLOGIA DO TECIDO ÓSSEO

O osso é um tecido conjuntivo mineralizado e especializado. Seu peso consiste em 33% de matriz orgânica, divididos em colágeno tipo I e proteínas não-colagenosas. Entre elas estão a osteonectina, osteocalcina, proteína morfogenética óssea, proteoglicanas ósseas e sialoproteína óssea. A matriz é permeada por cristais de hidroxiapatita, que perfazem os 67% remanescentes de osso. Além de suas funções esqueléticas de suporte, proteção e locomoção, o osso constitui um reservatório importante de minerais, principalmente o cálcio. Este é controlado, sistemicamente, por fatores hormonais e, localmente, por forças mecânicas, fatores de crescimento e citocinas (WHITSON, 2001).

O tecido ósseo apresenta uma extraordinária capacidade de crescimento, remodelação interna contínua e regeneração durante toda a vida pós-fetal. É o único tecido presente nos vertebrados que sofre diferenciação, regeneração e remodelação após uma injúria. Quanto dessa capacidade pode ser atribuída a osteocondução, pela proliferação de células osteoprogenitoras pré-diferenciadas, e quanto pode ser atribuída à indução de células mesenquimais a se diferenciarem, têm sido questões desafiadoras há muito tempo. Uma suposição básica é a de que a regeneração ocorra pela combinação desses dois processos (URIST, 1983).

A renovação óssea, ou seja, a substituição de matriz óssea velha por nova, é uma atividade óssea que ocorre durante toda a vida do osso. Em crianças que se encontram em rápido crescimento essa taxa varia de 30-100% ao ano. Quando a maturidade é alcançada esse processo não cessa, embora ocorra mais lentamente. A taxa de renovação do osso cortical passa a ser de aproximadamente 5% ao ano, ao passo que o osso trabecular e a superfície do endóstio do osso cortical podem

chegar a 15% ao ano. O osso lamelar trabecular ou esponjoso também se renova. Porém, ainda é pouco compreendido o que exatamente induz a esse mecanismo de renovação (WHITSON, 2001).

Durante uma deformação óssea, os osteoblastos e osteócitos também parecem responder a pequenas correntes piezoelétricas, aumentando ou diminuindo a formação de osso local. Dessa forma, a reabsorção osteoclástica contribui para o remodelamento ósseo em resposta ao crescimento ou modificação das tensões mecânicas sobre o esqueleto (BURKITT, YOUNG, HEATH, 1994).

Syftestad, Urist (1982), referiram que o envelhecimento do tecido esquelético geralmente reflete o declínio generalizado das funções e do mecanismo homeostático dos vários sistemas orgânicos. Esses autores realizaram um estudo para quantificar as manifestações sistêmicas do envelhecimento na formação óssea, bem como os efeitos do mesmo na atividade de BMP que induz a formação de novo osso.

Nos enxertos ósseos, os resultados mostraram que tanto a idade do doador quanto a idade do receptor influenciaram a produção de osso novo. A formação de osso novo foi semelhante entre os doadores e receptores de 3 e 13 meses de idade. O declínio de produção de osso mais acentuado ocorreu entre os animais de 28 meses. Os autores concluíram que o envelhecimento está associado com um declínio do agente indutor ou da atividade morfogenética óssea da própria matriz, o que é um indício específico do envelhecimento tecidual e pode influenciar a redução de massa óssea que normalmente ocorre com a idade (SYFTESTAD, URIST, 1982).

2.2 HISTOLOGIA DO TECIDO ÓSSEO

A partir de sua origem conjuntiva de sustentação, o osso é composto de células e de uma matriz extracelular orgânica contendo a substância fundamental de proteoglicanas e fibras colágenas. O componente fibroso do material extracelular é predominantemente colágeno tipo I. O componente mineral do tecido ósseo consiste principalmente em cálcio e fosfato na forma de cristais de hidroxiapatita, conjugados com uma pequena proporção de carbonato de magnésio, íons sódio e potássio. Também possui afinidade por metais pesados e poluentes ambientais radioativos (BURKITT, YOUNG, HEATH, 1994).

As células encontradas no osso são de três tipos: osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, sendo os dois primeiros tipos derivados de células mesenquimais denominadas células osteoprogenitoras. O osteoblasto é responsável pela síntese e secreção do osteóide, componente orgânico da matriz extracelular, que rapidamente sofre o processo de mineralização. Quando é aprisionado dentro do tecido ósseo, como osteócitos, torna-se responsável pela manutenção da matriz. O osteoclasto é uma célula multinucleada, provavelmente derivada do sistema macrófago-monócito. Ela está ativamente envolvida nos processos fisiológicos ou patológicos de reabsorção, participando, assim, do remodelamento contínuo do osso (BURKITT, YOUNG, HEATH, 1994; WHITSON, 2001).

O tecido ósseo apresenta duas formas estruturais principais: osso entrelaçado e osso lamelar. O osso entrelaçado é uma forma imatura caracterizada por organização irregular das fibras colágenas. Durante o desenvolvimento ósseo, esta é a primeira forma de osso produzida; a seguir, é remodelado para formar osso lamelar, cuja estrutura constitui a maior parte do esqueleto maduro. O osso lamelar é composto por sucessivas camadas que, na forma de massa sólida, compõem o osso

compacto. Quando disposto arquitetonicamente de forma aberta, é descrito como osso esponjoso (BURKITT, YOUNG, HEATH, 1994).

Nos ossos longos, o osso compacto forma as densas paredes da diáfise e o osso esponjoso ocupa parte da grande cavidade medular central. Este consiste em uma rede de placas finas e irregulares, denominadas trabéculas, separadas por espaços intercomunicantes. Nestes espaços, abrigam-se a medula óssea vermelha, nos ossos jovens, e a amarela, nos maduros (BOURNE, 1956; BURKITT, YOUNG, HEATH, 1994).

A superfície externa é revestida por uma lâmina fibrosa densa, o perióstio, no qual estão inseridos músculos, tendões e ligamentos. Quando está ativo, consiste em células osteoblásticas dispostas em duas a três camadas na superfície do osso em desenvolvimento, protegidas por uma delgada camada de tecido conjuntivo frouxo, imaturo. O perióstio é rico em vasos sanguíneos de tecidos adjacentes. Ele desempenha um importante papel no reparo ósseo e sua ausência pode levar a um retardo ou falha de cicatrização (BURKITT, YOUNG, HEATH, 1994).

As superfícies internas do osso, incluindo as trabéculas de osso esponjoso, são revestidas pelo endóstio, na forma de uma delicada lâmina. O perióstio e o endóstio contêm células da série osteogênica que também são responsáveis pelo crescimento, reparo ósseo e remodelamento contínuo. Durante o crescimento e reparação óssea, as células osteoprogenitoras diferenciam-se em osteoblastos, responsáveis pela deposição de lamelas concêntricas de osso cortical, determinando o crescimento por aposição (BURKITT, YOUNG, HEATH, 1994).

2.3 CICATRIZAÇÃO ÓSSEA APÓS FRATURAS

Durante anos têm sido estudados diferentes meios para estimular a cicatrização óssea após fraturas. Estas variações envolvem enxertos ósseos, materiais cerâmicos (hidroxiapatita, fosfato-tricálcico), substâncias bioquímicas (fatores de crescimento e proteína morfogenética óssea) e estimulações elétricas e ultra-sônicas (WHITSON, 2001).

Brighton (apud CHRISTIAN, 1986), afirmou que a cicatrização de uma fratura pode, na verdade, não ser absolutamente um processo de consolidação, mas, ao invés, um processo de regeneração óssea. Consolidação significa tornar novamente inteiro ou sólido; significa curar. A consolidação sempre deixa uma cicatriz na pele ou órgão interno produzido por tecido conjuntivo novo, que substitui o tecido lesado. Regeneração, por outro lado, significa formar-se novamente, tomar novamente uma forma.

Na regeneração, o tecido lesado se auto-substitui, não havendo a formação de uma cicatriz. Assim, após uma fratura óssea, quando cessam os processos reparativos, forma-se um novo osso no local original da fratura, não havendo mais evidência da lesão anterior (FEINBERG, STEINBERG, HELMAN, 1997).

Para os autores Burkitt, Young, Heath (1994), o processo cicatricial de fratura óssea exemplifica o processo de reparo. Forma-se uma ponte, ainda flexível na área da fratura, que é conhecida como o calo provisório. Este é então fortalecido por deposição de sais de cálcio dentro da matriz cartilaginosa. Ao mesmo tempo, as células osteoprogenitoras no endóstio e perióstio são ativadas e depositam uma rede de osso entrelaçado no interior e ao redor do calo provisório, que se transforma em calo ósseo propriamente dito. A união óssea se completa quando as superfícies

das fraturas são unidas por osso entrelaçado. Sob a influência de tensões funcionais, o calo ósseo é lentamente remodelado para formar osso lamelar maduro.

Desde que Hunter (apud CHRISTIAN, 1996) demonstrou que o osso é um tecido dinâmico, envolvido no equilíbrio entre deposição e reabsorção óssea, os mecanismos do reparo ósseo têm sido estudados. O autor descreveu os seguintes estágios fisiológicos do reparo ósseo:

1. inflamação;
2. calo mole;
3. calo duro;
4. remodelação.

O estágio de inflamação segue-se à fratura. Tem duração clínica de um a três dias, e é evidenciado por dor, tumefação e calor. Células inflamatórias migram para o local da fratura, acompanhadas por crescimento vascular local e proliferação celular. Esse estágio persiste até o aparecimento de elementos cartilagosos.

O estágio de calo mole corresponde, clinicamente, à união dos segmentos ósseos por tecido fibroso ou cartilaginoso. Histologicamente, é caracterizado por crescimento local de capilares, voltado para o calo da fratura, e pelo aparecimento de condroblastos.

No estágio de calo duro, a união fibrocartilaginosa é substituída pela união fibro-óssea. Clinicamente isto ocorre entre três e quatro meses após a injúria.

O último estágio, o de remodelação, inicia-se com a união clínica e radiográfica do osso e termina com a restauração do seu aspecto inicial e do canal medular. Histologicamente, o tecido fibroso é substituído por osso lamelar, processo que pode variar de meses a anos para se completar.

Brighton (apud CHRISTIAN, 1998) acrescentou a estes estágios a impacção e a indução. Por impacção, entende-se o intervalo desde a primeira aplicação de força ao osso até que a energia da força tenha se dissipado completamente, resultando na absorção da energia e fratura. Para o mesmo autor, a indução começa durante os estágios de impacção e inflamação, acreditando-se que envolva a formação de indutores e de fatores humorais que direcionam a regeneração óssea.

Lane, Danis (apud CHRISTIAN, 1996); Feinberg, Steinberg, Helman (1997) descreveram um tipo diferente de reparo de fraturas, em que não havia formação de calo, e a denominaram de “cicatrização em primeira intenção”. Esse processo foi também chamado de consolidação óssea primária ou consolidação óssea direta. Esta forma ocorre em fraturas anatomicamente reduzidas, estáveis e fixadas, com bom suprimento sanguíneo e sem cominuição.

2.4 CICATRIZAÇÃO ÓSSEA EXPERIMENTAL

Urist (1965) trabalhou com a teoria da indução de neoformação óssea no interior de um enxerto de matriz óssea acelular, desvitalizada e descalcificada em ácido clorídrico. Este tipo de modelo experimental induz a produção de novo osso em quantidade proporcional ao volume inserido. Seus resultados levantam a hipótese de osteogênese pós-fetal por auto-indução. Amostras de osso descalcificado foram implantadas em músculos de animais e em defeitos ósseos produzidos em animais e em seres humanos.

O resultado em animais revelou a matriz óssea descalcificada, invadida por vasos sanguíneos neoformados e rapidamente reabsorvida. Em seguida, novo osso foi depositado por células osteoprogenitoras em proliferação. O tempo do processo durou de poucas semanas a alguns meses. Os resultados em seres humanos

mostraram um grupo de células mesenquimais invadindo o material enxertado, induzindo um grupo de células jovens de tecido conjuntivo, associadas a novos capilares, a se diferenciarem em células osteoprogenitoras e, em seguida, em osteoblastos (URIST, 1965).

Nesse sentido, o autor concluiu que substâncias não-específicas ou produtos de degradação de matriz morta atraíram os histiócitos circulantes a migrarem para o interior do enxerto e iniciarem o processo de neoformação óssea por auto-indução (URIST, 1965).

Veeck (1994) analisou o comportamento do osso e medula hemopoética em relação a implantes de titânio e hidroxiapatita em fêmures de rato. Para o estudo, foram utilizados 30 animais, divididos em 5 grupos. Os animais receberam implantes de placa de titânio comercialmente puro e grânulos de hidroxiapatita, de modo que aquele ficasse em contato com o osso cortical e com o osso medular. Os sacrifícios das cobaias ocorreram aos 7, 21, 45, 60 e 90 dias pós-operatórios. Os fêmures foram removidos por desarticulação, fixados, radiografados e preparados para análise histológica. Os resultados mostraram um comportamento biocompatível do titânio e da hidroxiapatita. Esta, por sua vez, se apresentou um material inabsorvível e osteocondutor.

Aaron, Ciombor (1993), publicaram um artigo de revisão bibliográfica discutindo os efeitos terapêuticos de campos eletromagnéticos na estimulação do reparo de tecidos conjuntivos, assim como o papel da matriz óssea extracelular na adaptação, remodelação, reconstituição e reparo destes tecidos. A homeostase da matriz e o reparo de defeitos ósseos são regulados por agentes químicos e físicos.

A proposta de utilização de campos elétricos partiu de observações sobre a deformação óssea. Quando o tecido ósseo é submetido a cargas mecânicas, o

resultado é uma deformação acompanhada por um sinal elétrico. A origem do sinal elétrico pode estar relacionada à deformação da estrutura cristalina da matriz extracelular, conhecida como efeito piezoelétrico (AARON, CIOMBOR, 1993).

A aplicação terapêutica de campos eletromagnéticos tem como objetivo melhorar o reparo esquelético. Entre as situações clínicas nas quais se busca o reparo ósseo com essa modalidade terapêutica estão as pseudoartroses pós-fraturas, integração de enxertos ósseos, fraturas recentes e áreas osteotomizadas. Também citam-se alterações sistêmicas localmente situadas como osteoporose e osteonecrose (AARON, CIOMBOR, 1993)

Para os mesmos autores, o reparo ósseo, quando exposto a campos elétricos, acusam um aumento do metabolismo e da proliferação celular em culturas. Em relação ao reparo de pseudoartroses de fraturas, os autores referenciados na revisão verificaram um aumento na porcentagem de consolidação em comparação a situações semelhantes que não foram tratadas com estimulação elétrica. Fraturas recentes e osteotomias tratadas com estimulação elétrica em modelos animais obtiveram uma cicatrização mais rápida, mecanicamente mais estável e com maior densidade radiográfica do osso neoformado. Outras situações que apresentaram melhora no reparo ósseo após o uso de campos elétricos incluíram a incorporação de enxertos ósseos e a osteoindução por enxertos de matriz óssea descalcificada (AARON, CIOMBOR, 1993).

Grace, Revell, Brookes (1998), estudaram o efeito de um campo eletromagnético intermitente na cicatrização imediata de fraturas, em fêmures de ratos. O pico de campo magnético correspondeu a aproximadamente 12 G. Os animais foram submetidos a 2 horas de aplicação diária, sete dias por semana. Os animais do grupo controle foram posicionados de igual modo, porém, a corrente

elétrica permaneceu desligada. Os sacrifícios ocorreram em 1, 2, 4 e 8 semanas pós-operatórias. Os resultados foram avaliados através de observação macroscópica da área do defeito ósseo, preparações histológicas e microangiografia.

Após uma semana de pós-operatório, os animais do grupo teste apresentaram maior proliferação celular junto ao defeito ósseo, com início da osteogênese e maior diferenciação de tecido mesenquimal em tecido conjuntivo denso vascularizado. Após duas semanas, no grupo teste, o coágulo de fibrina foi reabsorvido por macrófagos, resultando em matriz com células mesenquimais primitivas; houve aumento significativo da formação vascular. Na periferia do defeito observou-se a formação acentuada de trabéculas ósseas. Nesta semana, ilhas isoladas de tecido cartilaginoso foram observadas em ambos os grupos, principalmente na superfície. No grupo controle houve o início da osteogênese (GRACE, REVELL, BROOKES, 1998).

Após quatro semanas, o grupo controle apresentou-se com a superfície preenchida por cartilagem hialina e formação de trabéculas ósseas nas regiões mais profundas do defeito. Os animais do grupo teste mostraram-se com acelerada cicatrização. A superfície continha cartilagem hialina organizada. Trabéculas ósseas ocupavam grande parte da área do defeito. Em alguns animais do grupo teste houve neoformação excessiva de cartilagem, tanto na superfície, quanto nas áreas mais profundas do defeito. Essa formação excessiva de cartilagem não foi observada no grupo controle (GRACE, REVELL, BROOKES, 1998).

Após oito semanas, o trabeculado ósseo do grupo controle apresentava-se esparso e fino, quando comparado ao grupo teste, no qual o trabeculado mostrou-se normal. Placas remanescentes de cartilagem permaneceram em alguns animais dos

dois grupos, todavia, foi uma característica mais prevalente no grupo teste, retardando o processo de neoformação óssea na área desejada (GRACE, REVELL, BROOKES, 1998).

Os autores concluíram que um campo magnético intermitente produz um estímulo importante na fase de proliferação celular e de processo inflamatório, entretanto, a exposição prolongada a esse campo retarda a cicatrização óssea por estimular a produção de maior quantidade de cartilagem (GRACE, REVELL, BROOKES, 1998).

Bodamyali et al (1998), relataram que um campo magnético intermitente é empregado com sucesso no tratamento de uma variedade de condições ortopédicas, particularmente nos casos de pseudoartroses pós fraturas. Este estudo avaliou os efeitos desse campo magnético na osteogênese *in vitro* pela formação de um nódulo ósseo. A presença do campo magnético induziu um aumento significativo no número e no tamanho dos nódulos ósseos formados. Os autores concluíram que um campo magnético intermitente tem efeito osteogênico *in vitro* sobre a neoformação óssea.

Nagai et al (2000), em um estudo com 45 ratos, observaram o efeito da combinação de BMP, colágeno tipo I e um composto magnético de samário-cobalto (1800 G) em enxertos subcutâneos. Os animais, com idades de 4 semanas, 10 meses e 18 meses, receberam implantes com os materiais para teste e um enxerto livre de BMP, para controle. Os sacrifícios ocorreram aos 7, 14, e 21 dias pós-operatórios. Os resultados mostraram, aos 7 dias pós-operatórios, que nenhum grupo apresentou formação de cartilagem e osso. Aos 14 dias, houve formação inicial de tecido ósseo nos grupos de 4 semanas e 10 meses. Aos 21 dias, houve formação óssea em todos os grupos, porém a quantidade e a qualidade do osso

neoformado foi decrescente à medida que a idade dos animais aumentou. Nos implantes imantados, aos 21 dias pós-operatórios, ocorreu maior formação de osso, em comparação aos outros grupos. Os autores concluíram que um campo magnético permanente estimula a osteogênese *in vivo*.

Matsumoto et al (2000), realizaram um estudo para avaliar se um campo eletromagnético pulsátil melhora a formação de osso ao redor de implantes de superfície rugosa em fêmures de coelhos. Para tal, foram usados 45 animais e implantes de liga de titânio com superfície jateada de óxido anódico. A estimulação eletromagnética foi iniciada no primeiro dia pós-operatório.

Para análise dos efeitos da intensidade do campo eletromagnético, da duração diária da aplicação e da duração do tratamento sobre a formação óssea, a estimulação foi realizada nas intensidades de 0,2mT, 0,3mT e 0,8mT por 4 e 8 horas diárias durante 1, 2 e 4 semanas. Os coelhos foram sacrificados em 1, 2 e 4 semanas pós-operatórias (MATSUMOTO et al, 2000).

Os resultados da avaliação da intensidade do campo eletromagnético foram mais pronunciados nos grupos de 0,2mT e 0,3mT. Na estimulação diária de 4 ou 8 horas, observou-se maior área de neoformação óssea no grupo de 8 horas. Os resultados da avaliação da duração do tratamento mostraram que após 4 semanas houve maior formação de osso ao redor da circunferência dos implantes, porém, nas margens superiores da cavidade os melhores resultados apareceram após 2 semanas de tratamento (MATSUMOTO et al, 2000).

Na avaliação histológica, a junção entre o osso original e o neoformado mostrou-se visível. Este apresentou grande número de osteócitos, com deposição paralela à superfície do implante. Após 2 semanas, o osso trabecular mostrou-se espesso e com maior superfície de contato nos fêmures tratados com a estimulação

eletromagnética a 0,2mT e 0,3mT por 8 horas diárias. Após 4 semanas, houve a formação de uma camada espessa de osso trabecular nos grupos de 0,2mT e controles, com resultados similares entre os grupos (MATSUMOTO et al, 2000).

A formação óssea ao redor da circunferência dos implantes dos grupos tratados a 0,2mT, 0,3mT e 0,8mT foi significativamente maior que nos coelhos controles sacrificados 2 semanas após a implantação. Entretanto, não houve diferença entre os grupos de 0,2mT e 0,3mT. Entre os grupos testes, a área de neoformação óssea do grupo de 2 semanas de tratamento foi significativamente maior do que a do grupo de 1 semana. A quantidade de osso formada não diferiu significativamente entre os grupo de 2 e 4 semanas. A área de neoformação óssea nos 3 grupos foi significativamente maior que nos grupos controles (MATSUMOTO et al, 2000).

Os autores concluíram que a estimulação através de um campo eletromagnético pulsátil estimula a formação óssea ao redor de implantes de titânio, de superfície rugosa, em fêmures de coelhos (MATSUMOTO et al, 2000).

Ishisaka et al (2000), estudaram os efeitos de campos magnéticos fracos em várias funções biológicas de células. Entre elas: funções mitocondriais, transdução de neutrófilos sinal-dependente, crescimento celular e transformação de células HL-60, apoptose induzida por peróxido de hidrogênio e expressão de genes apoptóticos em células HL-60. Os resultados mostraram que um campo magnético fraco tem poucos efeitos sobre várias funções biológicas celulares. Não houve efeitos da aplicação de um campo magnético fraco:

- na fosforilação oxidativa de mitocôndrias isoladas no fígado de ratos;
- na mudança estímulo-dependente da concentração intracelular de cálcio em neutrófilos;

- na indução de apoptose das células HL-60 por peróxido de hidrogênio;
- no crescimento e diferenciação celulares.

A peroxidação lipídica da membrana biológica induzida por ferro aumentou, quando exposta a um campo magnético forte (magneto ferrítico 600-2000G). Os autores também estudaram os efeitos de um campo magnético forte e estático (600-2000 G) em funções celulares, através do uso de magnetos ferríticos permanentes. Porém, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Assim, concluem que os campos magnéticos aplicados não tiveram efeitos significativos sobre as funções celulares testadas. Também sugerem que esses resultados sejam devidos à falta de equipamentos necessários para avaliar os processos celulares (ISHISAKA et al, 2000).

Oishi, Onesti (2000), revisaram a literatura sobre estimulação elétrica em enxertos ósseos para fusão de vértebras em humanos. Várias evidências suportam o conceito de que energia elétrica influencia sistemas biológicos. Sua aplicação em tecido ósseo sugere uma possível eletrosensibilidade deste.

Em relação aos campos eletromagnéticos, o resultado da aplicação destes em tecidos vivos tem sido demonstrado através da identificação de respostas celulares que corrigem ou modificam processos fisiológicos ou patológicos. Uma das hipóteses formadas para o mecanismo de ação da estimulação elétrica ou eletromagnética com o tecido, foi a de que ocorra uma interação direta entre o campo e a célula-alvo (OISHI, ONESTI, 2000).

O seu uso no tratamento de fraturas ósseas recentes e de pseudoartroses sugere a hipótese de que o osso é capaz de gerar um potencial elétrico endógeno ao ser submetido a estresse mecânico. Desta forma, forças mecânicas podem ser interpretadas pelo tecido ósseo como potenciais elétricos que redirecionariam a

remodelação tecidual. No osso normal podem ser observados potenciais elétricos, que aumentam, por exemplo, em resposta a fraturas, com elevada eletronegatividade no sítio da mesma. À medida que o processo de cicatrização avança, os potenciais elétricos aumentados gradualmente retornam aos níveis normais (OISHI, ONESTI, 2000).

Segundo Oishi, Onesti (2000), muitos pesquisadores sustentam a hipótese de que na estimulação através de campos eletromagnéticos pulsáteis, o campo elétrico, e não o campo magnético, é o responsável por influenciar a cicatrização óssea.

Fini et al (2002), investigaram o uso de campos eletromagnéticos pulsáteis como terapia adicional na estimulação do reparo ósseo após a colocação de implante de hidroxiapatita no osso medular de coelhos.

O grupo teste recebeu estimulação eletromagnética por 6 horas diárias, durante 3 semanas consecutivas; o grupo controle foi submetido ao mesmo procedimento, porém, com a corrente desligada. Após esse período, 3 animais de cada grupo foram sacrificados. Os outros animais foram mantidos mais 3 semanas sem estimulação e foram sacrificados após 6 semanas pós-operatórias. O campo eletromagnético criado apresentava intensidade de 1,6mT. Foram realizadas análises histomorfométricas e avaliações quantitativas e qualitativas do osso neoformado através de medidas de microdureza. Estas foram realizadas no osso medular localizado ao redor do implante, nas distâncias de 200 μ m, 500 μ m, 1000 μ m e 2000 μ m (FINI et al, 2000).

Os resultados da análise histomorfométrica mostraram uma melhor osteointegração dos implantes de HA com o uso de estimulação eletromagnética pulsátil após 3 semanas, porém, sem diferença estatisticamente significativa em relação aos animais sacrificados após 6 semanas. No grupo teste de 3 semanas

pós-operatórias houve formação de osso medular na área adjacente ao implante, em íntimo contato com a superfície deste. No grupo controle, a neoformação de osso, porém, não foi observada em todas as regiões da superfície do implante. A análise da microdureza após 3 semanas mostrou aumento estatisticamente significativo desta medida no grupo teste em relação ao grupo controle, nas distâncias de 200 μ m e 500 μ m. A área distante 2000 μ m sofreu alterações (FINI et al, 2000)

Os autores concluem que o uso deste campo eletromagnético estimulou os processos de neoformação, mineralização, maturação e osteointegração de osso medular na superfície dos implantes de HA (FINI et al, 2000).

Aaron, Wang, Ciombor (2002), estudaram a aplicação de um campo eletromagnético na expressão de fatores de crescimento e proteínas morfogenéticas ósseas com o objetivo de estimular o reparo dos tecidos esqueléticos de sustentação. Segundo os autores, membros das famílias do TGF β e da BMP são responsáveis por regular o desenvolvimento cartilaginoso e ósseo. Eles são expressados durante a condrogênese, no processo normal de desenvolvimento esquelético, e re-expressados nas placas epifisárias de crescimento e no reparo de fraturas. A re-expressão desses genes embrionários na vida pós-fetal sugeriu uma estratégia terapêutica de introdução desses fatores de crescimento na reparação óssea e na estimulação da proliferação ou diferenciação de células osteoprogenitoras. Baseados em observações da literatura os autores formularam a hipótese de que a estimulação da síntese de fatores de crescimento pode ser um mecanismo intermediário pelo qual agentes físicos exercem efeitos biológicos na morfogênese tecidual.

Para o estudo foram utilizados ratos de 28 a 35 dias de idade, que receberam implantes subcutâneos de matriz na musculatura torácica. A estimulação

eletromagnética, com pico de 16 G, durante 8 horas diárias, foi iniciada no 1º dia pós-operatório. O grupo controle não recebeu estimulação. Os animais foram sacrificados aos 2, 4, 6, 8 e 10 dias pós-operatórios, período que compreende os estágios de proliferação mesenquimal e condrogênese. O material ósseo foi submetido a análises bioquímicas, histológicas e imunohistoquímicas (AARON, WANG, CIOMBOR, 2002).

Dentre os resultados observados, a condrogênese foi notadamente estimulada, apresentando maior número de condrócitos, no grupo teste, em comparação ao grupo controle. A aplicação eletromagnética também estimulou a síntese precoce e aumentada de colágeno tipo II, proteoglicanas e maior quantidade de matriz cartilaginosa (AARON, WANG, CIOMBOR, 2002).

Os autores concluíram que o aumento observado na condrogênese com a estimulação eletromagnética foi decorrente da aceleração e do aumento quantitativo na diferenciação de condrócitos, bem como da aceleração da síntese e maturação de matriz extracelular (AARON, WANG, CIOMBOR, 2002).

Ciombor et al (2002), realizaram um estudo no qual matriz óssea desmineralizada foi enxertada no tecido subcutâneo da musculatura torácica de ratos. Os animais foram submetidos à exposição eletromagnética de 16 G, por 8 horas diárias, começando no dia seguinte ao enxerto; o grupo controle não sofreu exposição eletromagnética. Os animais foram sacrificados aos 6 e 8 dias pós-operatórios, durante o período máximo de condrogênese. As peças foram analisadas através de análises histológicas e imunohistoquímicas.

Os resultados mostraram, no grupo teste, um aumento da área de cartilagem dentro do enxerto e do número de condrócitos. Também se observou o dobro da expressão de genes de colágeno tipo II nos dias 6 e 8, e maturação aumentada da

matriz extracelular. Ainda no grupo teste foi observada maior produção de matriz extracelular cartilaginosa e áreas de calcificação dois dias antes do que no grupo controle. Os autores concluíram que a exposição a um campo eletromagnético de configurações específicas pode regular a diferenciação de células mesenquimais em condrócitos, e subsequente síntese e maturação de matriz extracelular, em um modelo que recapitula a biologia celular da ossificação endocondral (CIOMBOR et al, 2002).

Inoue et al (2002), estudaram os efeitos de campos eletromagnéticos pulsáteis nas fases tardias da cicatrização de fraturas, usando um modelo de atraso de cicatrização em tíbias de cães. A hipótese postulada foi a de que o campo eletromagnético pulsátil aplicado durante a fase de remodelação óssea promoveria efeitos positivos na maturação do calo, melhorando, assim, a cicatrização final da osteotomia, em termos de qualidade óssea e efetividade funcional.

Para o estudo foram usados 12 cães, submetidos a osteotomias unilaterais e transversais da tíbia com 2 mm de largura. Foi utilizada fixação externa rígida com o objetivo de criar um modelo de atraso cicatricial. A estimulação eletromagnética, entre 0 e 2 G, foi aplicada por 1 hora diária, da 4^o a 8^o semana pós-operatória, quando os animais foram sacrificados (INOUE et al, 2002).

Os resultados da avaliação histológica mostraram que a área de neoformação óssea e a taxa de deposição mineral foram significativamente maior no grupo teste. A formação de cartilagem ocorreu em menos de 1% da área total, em ambos os grupos. Neste trabalho, a estimulação eletromagnética foi capaz de aumentar a neoformação óssea quando aplicada na fase tardia da cicatrização. O presente estudo também validou os benefícios dos sinais eletromagnéticos de baixa energia em um modelo animal maior (INOUE et al, 2002).

Fredericks et al (2003), realizaram um estudo para avaliar se a exposição a um campo eletromagnético pulsátil poderia encurtar o tempo de cicatrização de osso neoformado em modelo de osteodistração em tíbia de coelho. Foram usados 72 coelhos, submetidos a osteotomias transversais de 1 mm nas tíbias esquerdas e fixação externa. As ativações de 0,25 mm foram realizadas duas vezes ao dia, por 21 dias, totalizando 10,5 mm. O grupo teste recebeu exposição de uma hora diária a um campo eletromagnético pulsátil de baixa amplitude e baixa frequência. O estímulo aplicado foi um campo magnético pulsátil tempo-dependente. As tíbias foram testadas com relação a resistência à deformação mecânica após 9, 16 e 23 dias pós-distração. Os ossos do grupo teste foram significativamente mais resistentes do que os controles nos três tempos do experimento. Aos 16 dias, o grupo teste adquiriu resistência biomecânica equivalente a um osso hígido, e, aos 23 dias, resistência maior que a de um osso hígido. O grupo controle não atingiu os valores normais após 23 dias. Os autores concluíram que exposições diárias e curtas a um campo eletromagnético pulsátil aceleraram a consolidação do osso neoformado após osteodistração.

2.5 PROPRIEDADES FÍSICAS DO AÇO-CARBONO

Segundo Chiaverini (1982), a corrosão é uma forma de atividade eletroquímica e pode ser considerada como um ataque gradual e contínuo ao metal por parte do meio circunvizinho, que pode ser químico, líquido ou gasoso. Como resultado de reações químicas entre os metais e elementos não-metálicos contidos nesses meios, tem-se uma mudança gradual em um composto ou em vários compostos químicos, que são geralmente óxidos ou sais. A velocidade do ataque e sua extensão dependem não só da natureza do meio circunvizinho, como

igualmente do tipo do metal ou da liga sofrendo a ação corrosiva. Quando um metal não corrói, admite-se uma reação química entre ele e o meio que o circunda. Esta se caracteriza pela formação de uma fina camada aderida à superfície metálica e mantida por forças atômicas.

A teoria mais simples e aceita para explicar a corrosão do ferro é a eletrolítica. Este, por estar acima do hidrogênio na tabela dos potenciais eletroquímicos, pode deslocar os átomos de hidrogênio da água. Tal se dá pelo envio de íons ferro (Fe^{++}) em solução, deslocando os íons de hidrogênio (H^+). Logo, a camada de água circundando o objeto de ferro contém íons Fe^{++} e íons $2(\text{OH}^-)$, ou seja, $\text{Fe}(\text{OH})_2$ dissociado em considerável concentração. Se o oxigênio do ar for admitido nesta camada, por difusão através da água, forma-se $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Este é menos solúvel que o $\text{Fe}(\text{OH})_2$, e precipita de acordo com a reação:



como um depósito marrom, conhecido como ferrugem. Dentre os meios corrosivos mais comuns estão a atmosfera, o solo, a água doce e a água salgada (Chiaverini, 1982).

A proteção contra a corrosão é feita criando-se sobre a superfície do metal uma película que separa o metal-base do meio corrosivo. Essa película protetora pode ser criada artificialmente, mediante depósito intencional de outra substância – metálica ou galvânica. A proteção ocorre pela produção espontânea da película superficial, através da formação de um composto químico, mantido sobre a superfície metálica por forças atômicas. Este composto resulta da reação de certos elementos de liga introduzidos no metal com o meio circunvizinho. Chama-se passividade a propriedade típica de certos metais e ligas metálicas que permanecem inalterados no meio circunvizinho. O cromo é o elemento básico mais importante

para conferir passividade ao aço quando usado em concentrações acima de **12%** (Chiaverini, 1982).

A classificação mais simples e mais usada do aço inoxidável é baseada na microestrutura que se apresenta à temperatura ambiente. Nessas condições, são considerados os três grupos seguintes:

- Aço Inoxidável Martensítico;
- Aço Inoxidável Ferrítico;
- Aço Inoxidável Austenítico.

Os grupos I e II são essencialmente ligas de ferro e cromo; o grupo III compreende as ligas de ferro-cromo-níquel. O carbono desempenha um papel importante para localizar um aço de alto cromo na classe martensítica ou ferrítica.

Os aços inoxidáveis martensíticos caracterizam-se por serem aços-cromo, contendo cromo entre 11,5% e 18%. Apresentam boas propriedades mecânicas e resistência à corrosão relativamente elevada; dureza satisfatória aliada a razoável ductilidade. Como características mais importantes citamos:

- são compostos ferro-magnéticos;
- podem ser facilmente trabalhados, tanto a quente como a frio, sobretudo quando o teor de carbono for baixo;
- apresentam boa resistência à corrosão quando expostos aos principais meios corrosivos;
- normalmente não são suscetíveis à precipitação de carbonetos nos contornos dos grãos;
- o níquel melhora a sua resistência à corrosão;
- a têmpera melhora a resistência à corrosão, pois contribui para evitar a possibilidade de precipitação de carbonetos.

O aço 420 é usado para cutelaria, assentos de válvulas, molas temperadas, instrumental cirúrgico e odontológico, entre outros.

Os biomateriais são também aspectos de suma importância nas pesquisas sobre o tecido ósseo. Lemons, Natiella (1986), revisaram a literatura sobre biomateriais, buscando o histórico de suas respectivas propriedades físicas, químicas, mecânicas, elétricas, e seus usos. Em sua publicação, os autores discutiram sobre a biocompatibilidade de diversos materiais. Em relação aos metais, concluem que estes devem ser quimicamente e mecanicamente neutros no momento da implantação, evitando maiores interações teciduais. Os metais devem garantir mínima degradação biológica durante seu uso *in vivo*. Permitem esterilização, desde que cuidados sejam tomados no sentido de se evitar a contaminação pelo vapor das autoclaves, resíduos provenientes de esterilizações químicas ou impurezas dos locais de armazenamento. Entre os biomateriais, a liga mais suscetível à corrosão biológica é a liga de aço inoxidável, se a superfície for alterada e a camada protetora de óxido for removida. As ligas metálicas não devem ser carregadas eletricamente, especialmente quando diferentes ligas são usadas ao mesmo tempo.

2.6 PROPRIEDADES ELETROMAGNÉTICAS DA MATÉRIA

Halliday, Resnick (1994), citam os conceitos básicos do eletromagnetismo. O primeiro princípio referido versa sobre cargas elétricas. Por definição, cargas elétricas são objetos pontuais isolados dos quais possam emergir linhas de campo elétrico. Há dois tipos de carga que, por convenção, são denominadas de positiva e negativa.

O efeito Hall indica que, nos metais, são as cargas negativas que se movem. Os elétrons de condução são os elétrons das camadas exteriores, que não permanecem ligados individualmente aos respectivos átomos. Eles ficam livres e deslocam aleatoriamente sobre a rígida estrutura cristalina formada pelos íons carregados positivamente. São elétrons móveis. As cargas positivas são imóveis.

A unidade de medida de carga elétrica no SI é o C. Um C é a quantidade de carga que atravessa uma secção transversal de um fio elétrico, durante o período de um segundo, quando o fio é percorrido por uma corrente de um Ampère. Uma corrente elétrica é um fluxo de cargas elétricas. No SI a unidade de medida de corrente é o A.

A grande maioria dos objetos que nos cercam é eletricamente neutra. Isso se deve ao fato de que os objetos são dotados de grande quantidade de cargas positivas e negativas que se equilibram. Somente quando esse equilíbrio elétrico é ligeiramente interrompido torna-se possível avaliar os efeitos de uma carga positiva ou negativa não compensada. Cargas com sinais opostos se atraem, e cargas de mesmo sinal se repelem. Corpos carregados exercem força uns sobre os outros. O processo de atrito entre dois corpos transfere uma pequena quantidade de carga de um corpo para outro, alterando levemente a neutralidade de ambos.

A Lei de Conservação da Carga postula que o ato de friccionar dois objetos não cria cargas, mas apenas as transfere de um corpo para outro, perturbando a neutralidade elétrica de ambos. Por exemplo, ao atritar-se uma barra de vidro com seda, uma carga positiva aparece na barra e uma carga negativa de mesmo módulo aparece na seda.

Os materiais são divididos em condutores e isolantes. Como exemplos de condutores têm-se os metais, o corpo humano, a Terra e a água. Entre os isolantes,

têm-se o vidro, o plástico, a água destilada e o quartzo fundido. Nos condutores, as cargas elétricas podem mover-se livremente através do material, ao contrário do que ocorre nos isolantes.

O segundo princípio é o campo elétrico. A Lei de Coulomb diz que duas cargas pontuais exercem forças uma sobre a outra. Um campo elétrico representado pelo vetor “E” é a razão entre uma força eletrostática “F” e uma carga elétrica “q”. Por exemplo, se um corpo de prova, possuindo uma carga elétrica positiva “q”, estiver em um ponto próximo a uma barra carregada, uma força eletrostática “F” atuará sobre ele. Diz-se, então, que existe um campo elétrico nesse ponto, representado da seguinte maneira:

$$E = F/q$$

Atualmente interpreta-se o campo elétrico como um agente intermediário entre as cargas. Assim uma carga “q1” cria um campo elétrico à sua volta e esse campo atua sobre a carga “q2”, na forma de uma força “F2”. Também se pode dizer que “q1” está imersa em um campo elétrico produzido por “q2” e, por esta razão, experimenta a força “F1”. Os campos elétricos criados por “q1” e “q2” são diferentes, mas as forças que agem nas duas cargas têm o mesmo módulo e formam um par ação-reação, isto é: $F_2 = -F_1$.

No estudo de eletrostática representa-se a relação entre o campo elétrico “E” e a carga elétrica “q” por:

$$\text{carga elétrica} \leftrightarrow E \leftrightarrow \text{carga elétrica}$$

Isto é, cargas elétricas criam um campo elétrico, e este, por sua vez, exerce uma força elétrica sobre qualquer outra carga colocada nele.

A simetria sugere que se estabeleça uma relação similar para o magnetismo:

$$\text{“carga magnética”} \leftrightarrow B \leftrightarrow \text{“carga magnética”}$$

No exemplo, tem-se B como campo magnético. Entretanto, não existem cargas magnéticas. Estudos mostram que um campo magnético vem de cargas elétricas em movimento. A fórmula acima refere-se, então, a:

carga elétrica em movimento $\leftrightarrow B \leftrightarrow$ carga elétrica em movimento

ou

corrente $\leftrightarrow B \leftrightarrow$ corrente.

As equações indicam que:

1. uma carga em movimento ou uma corrente cria um campo magnético;
2. se colocarmos uma carga elétrica em movimento ou um fio transportando uma corrente num campo magnético, uma força magnética agirá sobre eles.

Assim, os elétrons produzem magnetismo através de cargas elétricas em movimento, ou seja, elétrons fluindo no vácuo ou no interior de um fio condutor.

Para se entender a física de um ímã permanente é preciso aprofundar o estudo na área de Física Quântica. Entretanto, a ciência do eletromagnetismo introduz definições básicas e alguns conceitos.

Um ímã permanente é constituído por elétrons que giram sobre si mesmos e circulam nos átomos de ferro que constituem o ímã. O ímã possui dois pólos, um positivo e um negativo. Convencionalmente, chamam-se os pólos de norte e sul. O pólo norte é aquele do qual as linhas de campo magnético emergem do ímã para o espaço circunjacente; estas linhas de campo penetram novamente no ímã pelo pólo sul. Este conceito foi introduzido por Michael Faraday (1791–1867) (apud HALLIDAY, RESNICK, 1994). Ele imaginou o espaço em torno de um corpo de prova carregado sendo preenchido por linhas de força de configurações tridimensionais. Postulou que o campo se torna mais fraco à medida que se afasta do centro, pois as linhas de força tornam-se progressivamente mais afastadas umas

das outras. As linhas de força sempre se originam em cargas positivas e terminam em cargas negativas.

Todas as tentativas para isolar os pólos de um ímã falharam. Quando um ímã é quebrado, resultam dois ímãs, menores, cada um com um pólo norte e um pólo sul. Assim, a estrutura mais simples que existe na Natureza é o dipolo magnético. Não existem monopolos magnéticos, isto é, estruturas magnéticas semelhantes a cargas elétricas isoladas. O dipolo magnético fundamental – o único responsável pelas propriedades magnéticas da matéria – está associado ao elétron. Quando os pólos de cargas opostas estão voltados um para o outro há atração entre os ímãs. Se ocorrer a inversão de um dos pólos ocorrerá repulsão entre eles.

Com relação ao titânio, este apresenta propriedades paramagnéticas mínimas, ou seja, tem pouca capacidade de se imantar quando exposto a um campo eletromagnético externo (KITTEL, 1976).

3. PROPOSIÇÃO

Este trabalho tem por objetivo estudar a cicatrização óssea sob efeito de um campo magnético permanente, sepultado *in vivo*. Para tal, serão avaliadas:

- As condições de aplicabilidade e a ação de uma liga de aço inoxidável imantada;
- A neoformação óssea, cortical e medular, em comparação com o grupo controle, nos diferentes tempos do experimento, através de qualificação histológica;
- A presença de infiltrado inflamatório e reação a corpo estranho em cada etapa do experimento.

4. MATERIAIS E MÉTODO

Foi realizado um estudo experimental, *in vivo*, randomizado, com grupos teste e controle .

4.1 Dispositivos Metálicos¹

Os dispositivos metálicos utilizados foram constituídos de arruelas de aço inoxidável e parafusos de titânio comercialmente puro. As arruelas apresentaram uma marcação por ranhura, identificando o pólo sul (Figura 1).

A composição química das arruelas, segundo a norma AISI 420, foi a seguinte:

– Ferro: balanço	– Manganês: 1,00%
– Cromo: 12,00 – 14,00%	– Fósforo: 0,040%
– Carbono: 0,17-0,25%	– Enxofre: 0,030%
– Silício: 1,00%	

A composição dos parafusos, conforme a norma NBR ISO 5832-2, correspondeu a:

– Titânio: balanço	– Ferro: 0,30%
– Nitrogênio: 0,03%	– Oxigênio: 0,25%
– Hidrogênio: 0,0125%	– Carbono: 0,1%

Cada parafuso apresentou as seguintes dimensões: 1,0 mm de diâmetro por 0,5 mm de passo por 2,0 mm de comprimento de parte ativa. Cada arruela mediu 3,0 mm no diâmetro externo por 1,5 mm no diâmetro interno por 0,5 mm de espessura

¹ PROMM, Comércio de Implantes Cirúrgicos Ltda., Porto Alegre, RS, Brasil.

(Anexo 1). Essas arruelas foram imantadas na fabricação e mantidas sobre um ímã permanente circular de dimensões 60 mm x 12 mm x 5 mm durante a esterilização e, inclusive, no trans-cirúrgico.

4.2 Cálculo do Campo Magnético

Os cálculos foram realizados no Laboratório de Eletromagnetismo do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Para esse cálculo, as arruelas e os parafusos de titânio foram montados em um protótipo com osso de fêmur obtido de um *Rattus norvegicus albinus*. Neste, observa-se a eliminação de duas corticais, objetivando a aplicação do sensor (Figura 2). A distância entre eles foi de 1,3 mm. Foram usados um sensor do tipo HALL, um voltímetro e um amperímetro de 1 mA. A medida da calibração do sensor é uma constante de cada aparelho e, nesse estudo, representou 9,944 Oe/mV.

O primeiro valor medido, chamado do valor de fundo, correspondeu ao campo magnético do laboratório da UFRGS, ou seja, ao valor do voltímetro com o sensor em ar ambiente. A medida foi de -0,60 mV.

O procedimento seguinte consistiu em realizar a medição do campo magnético entre as arruelas. Seguiu-se, então, o cálculo dos valores efetivos, correspondentes às polaridades positiva e negativa do sensor.

Primeiro, realizou-se a medida correspondente à polaridade positiva do sensor, resultando em 4,08 mV. A determinação do valor efetivo resultou da diferença entre o valor medido e o valor de fundo. Por resultar essa medida da polaridade positiva do sensor, somaram-se as medidas para este cálculo:

$$4,08 + 0,60 = 4,68 \text{ mV}$$

Em seguida, obteve-se a medida da polaridade negativa do sensor, correspondente a $-4,2$ mV. Como foi medido com a polaridade negativa do sensor, subtraiu-se $-0,60$ do valor medido e obteve-se $-3,60$ mV da seguinte maneira:

$$-4,2 + 0,6 = -3,60\text{mV}$$

O valor final do campo magnético obedeceu à regra:

Campo medido = valor efetivo x calibração do sensor.

Após as operações de multiplicação, tem-se:

Campo da polaridade positiva: $4,68$ mV x $9,944$ Oe/mV = $46,53$ Oe.

Campo da polaridade negativa: $3,60$ mV x $9,944$ Oe/mV = $35,79$ Oe.

Com a média aritmética das duas medidas acima obteve-se o **valor médio do campo magnético igual a $41,16$ Oe, que representa o campo magnético entre as arruelas**. Esse valor pode, também, ser expresso em outras duas unidades: $41,16$ G ou $41,16 \cdot 10^{-4}$ T. À medida que o foco se distanciou da região do campo magnético, em direção ao interior do osso, houve a diminuição gradativa do mesmo.

4.3 Seleção da Amostra

Foram selecionados 24 ratos machos, albinos, de seis meses de idade, com peso médio de 450g, da raça *Rattus norvegicus albinus*, Cepa Wistar. A composição dos grupos foi feita de forma randomizada. Os ratos foram sorteados para a formação de quatro grupos testes de cinco animais cada, e um grupo controle de quatro animais.

Os animais foram mortos na seguinte seqüência pós-operatória: Grupo I, com 15 dias; Grupo II, com 30 dias; Grupo III, com 45 dias e Grupo IV, com 60 dias. No grupo controle, em cada data referente aos grupos teste, um animal foi sacrificado.

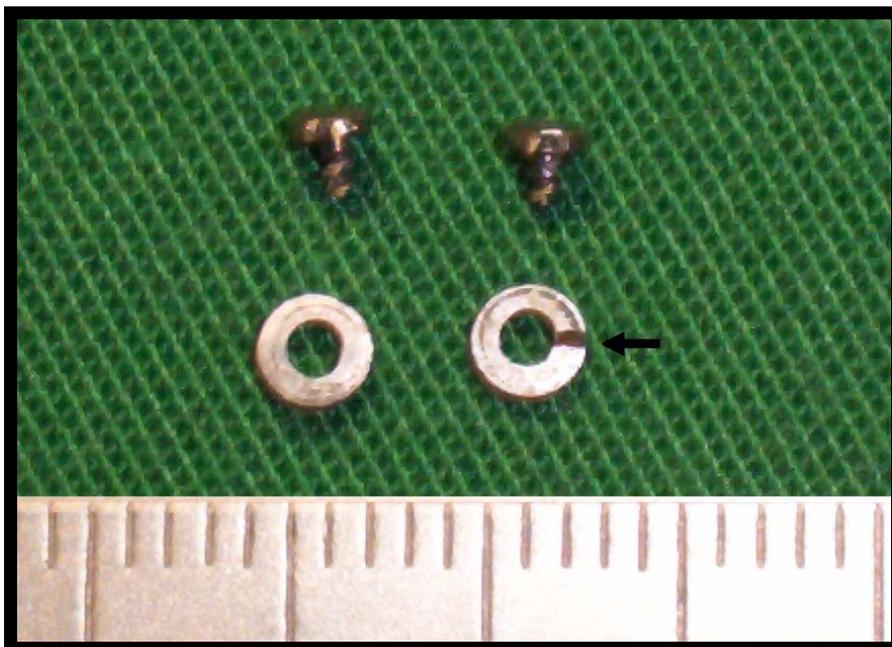


FIGURA 1 Implantes utilizados no experimento: parafusos de titânio e arruelas de aço inoxidável. Na arruela da direita a marcação (←), por ranhura, identifica o pólo sul.



FIGURA 2 Protótipo inicial montado para a medição da intensidade do campo magnético. Observa-se a eliminação de duas corticais. O modelo foi modificado para possibilitar a aplicação do sensor. Observam-se as porções distal (D) e proximal (P) do fêmur.

O experimento foi realizado no Laboratório de Pesquisa da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os animais foram adquiridos e mantidos, durante o período experimental, no Biotério do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

4.4 Procedimentos Cirúrgicos

As cirurgias foram realizadas em 5 dias, na seguinte seqüência: grupo IV, grupo III, grupo II, grupo I e grupo controle.

O instrumental utilizado foi esterilizado em autoclave² a 132°C por quatro minutos. As arruelas imantadas e os parafusos foram esterilizados a plasma de peróxido de hidrogênio³ a 50°C por 80 minutos. Para as cirurgias do grupo controle todo o instrumental foi trocado com o objetivo de evitar a imantação do mesmo.

O cirurgião e os auxiliares paramentaram-se com avental cirúrgico, luvas cirúrgicas estéreis, máscara, óculos de proteção, gorro e propés.

A anestesia foi realizada através de injeção intraperitoneal, na dosagem de 25 mg/Kg de peso corporal, com tiopental sódico⁴, na face interna da coxa direita de cada animal. Realizou-se a tricotomia na região do membro posterior esquerdo. Após, o animal foi posicionado em decúbito lateral direito para a antissepsia do campo operatório com iodoform aquoso a 2%. Seguiu-se o isolamento da região com campos cirúrgicos estéreis.

A área cirúrgica, sobre o fêmur esquerdo, recebeu infiltração local de 1,8 ml de prilocaína⁵ a 3% e com felipressina. Uma incisão linear na pele, com 4cm de

² AMSCO Autoclave à vácuo. AMSCO Latin América Inc., Division of America Esterilizer Co., USA.

³ STERRAD 100S, Advanced Division Sterilization Products, Johnson & Johnson, USA.

⁴ Thiopentax, Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda., Itapira, São Paulo, Brasil.

⁵ Citanest 3% com Octapressin, AstraZeneca do Brasil Ltda., Cotia, São Paulo, Brasil.

comprimento, foi realizada com bisturi montado com lâmina 15. Através de divulsões por planos, envolvendo pele e músculos, atingiu-se o periósteo. Fez-se a incisão e o descolamento deste, deixando-se a face medial da diáfise do fêmur esquerdo exposta (Figura 3). Com o auxílio de afastadores, mantidos pelo assistente, os tecidos moles foram retraídos, permitindo a exposição e visibilidade do campo cirúrgico.

Uma cavidade central na face medial da diáfise do fêmur foi realizada com trefina⁶ de 2 mm de diâmetro na parte ativa, adaptada à peça-de-mão de um motor⁷ de baixa rotação (Figura 4). Com esta ostectomia, retirou-se a cortical medial e mais 2 mm de medula em profundidade, sem atingir a cortical do lado oposto (Figura 5). Durante a atividade da trefina o osso foi irrigado com água destilada para evitar o superaquecimento. Conjugou-se, a este ato, a aspiração simultânea dos líquidos e resíduos teciduais.

Em seguida, com broca guia⁸, foram realizadas duas perfurações, uma proximal e outra distal à cavidade cirúrgica, distantes 1 mm do bordo ostectomizado (Figuras 6 e 7). Cada orifício recebeu um parafuso de titânio conforme especificação acima. Entre cada parafuso e a cortical óssea foi fixada uma arruela (Figura 8). Estabeleceu-se, entre ambas, um campo magnético de atração, colocando-se, respectivamente, os pólos norte e sul das arruelas distal e proximal para cima. A colocação dos implantes foi feita paralela às bordas do defeito ósseo, previamente criado. Assim, as arruelas distaram aproximadamente 1,3 mm umas das outras (Figura 9). Todos os animais receberam os parafusos de titânio e as arruelas. Entretanto, nos animais do grupo controle, as arruelas não estavam imantadas.

⁶ PROMM, Comércio de Implantes Cirúrgicos Ltda., Porto Alegre, RS, Brasil.

⁷ Dentec, São Paulo, SP, Brasil.

⁸ PROMM, Comércio de Implantes Cirúrgicos Ltda., Porto Alegre, RS, Brasil.

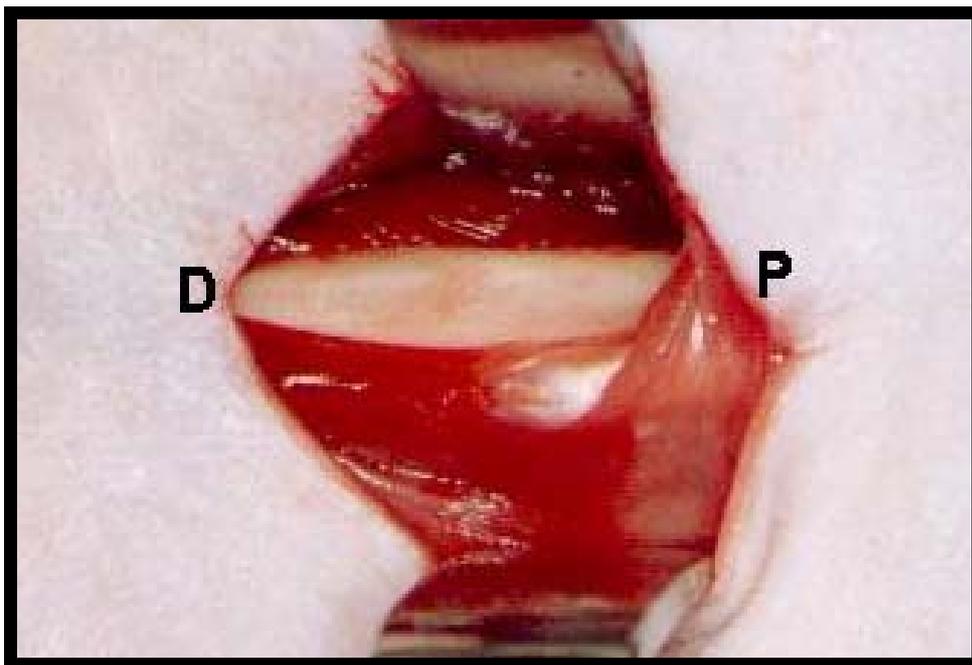


FIGURA 3 Face medial da diáfise do fêmur esquerdo, após divulsão dos tecidos e descolamento do periósteo. Observam-se as porções distal (D) e proximal (P) do fêmur.

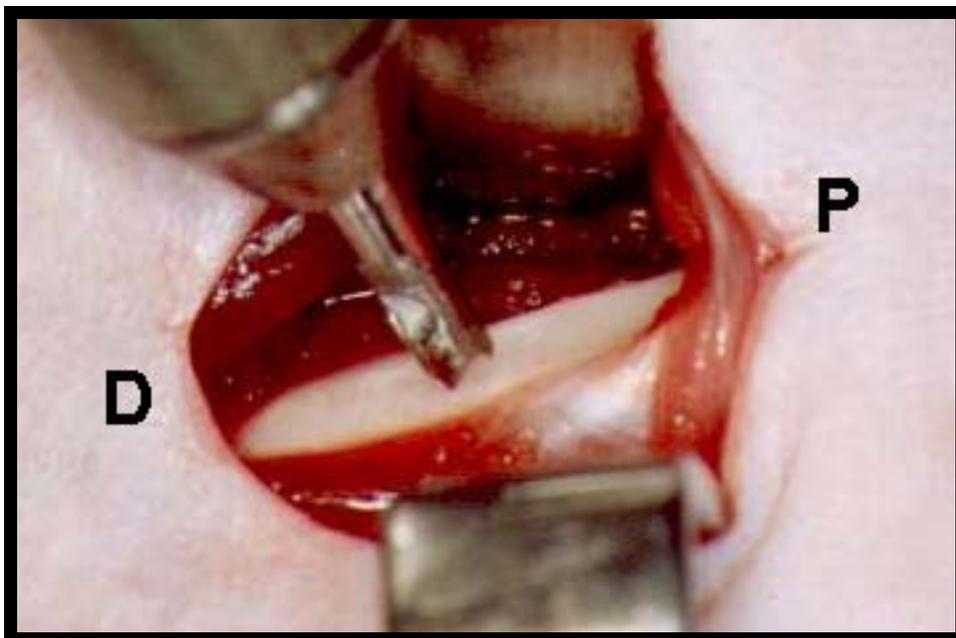


FIGURA 4 Posicionamento da trefina para a confecção da cavidade cirúrgica. Observam-se as porções distal (D) e proximal (P) do fêmur.

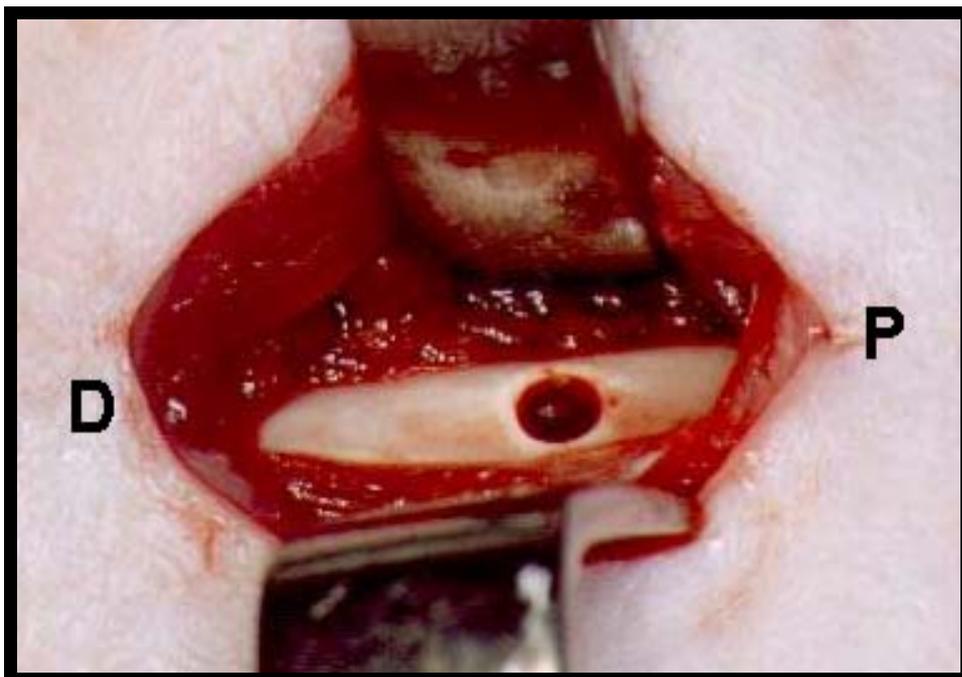


FIGURA 5 Aspecto da cavidade cirúrgica, no centro da face medial, mantendo a integridade dos bordos ósseos. Observam-se as porções distal (D) e proximal (P) do fêmur.

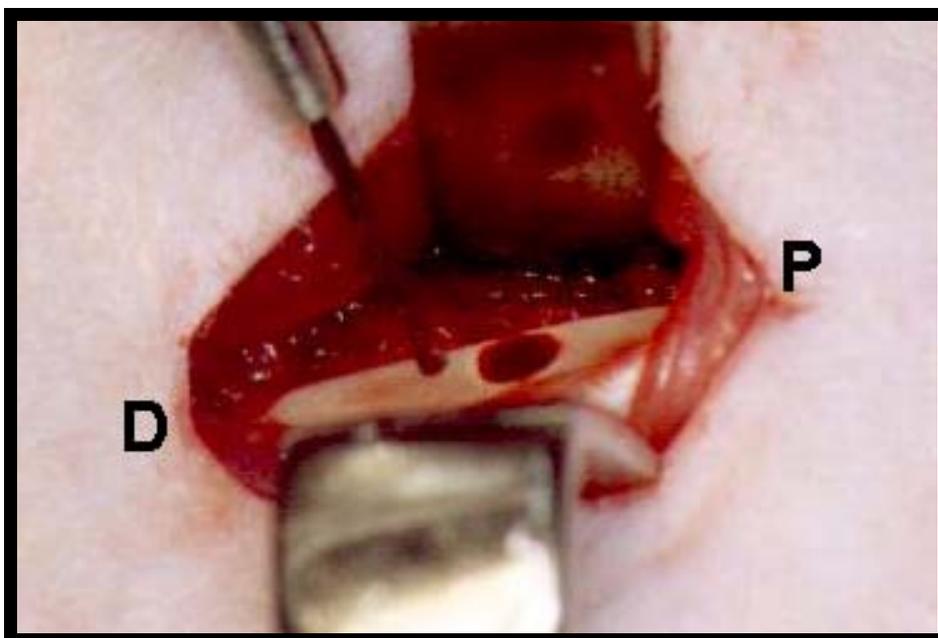


FIGURA 6 Posicionamento da broca guia para a confecção dos orifícios dos parafusos. Observam-se as porções distal (D) e proximal (P) do fêmur.

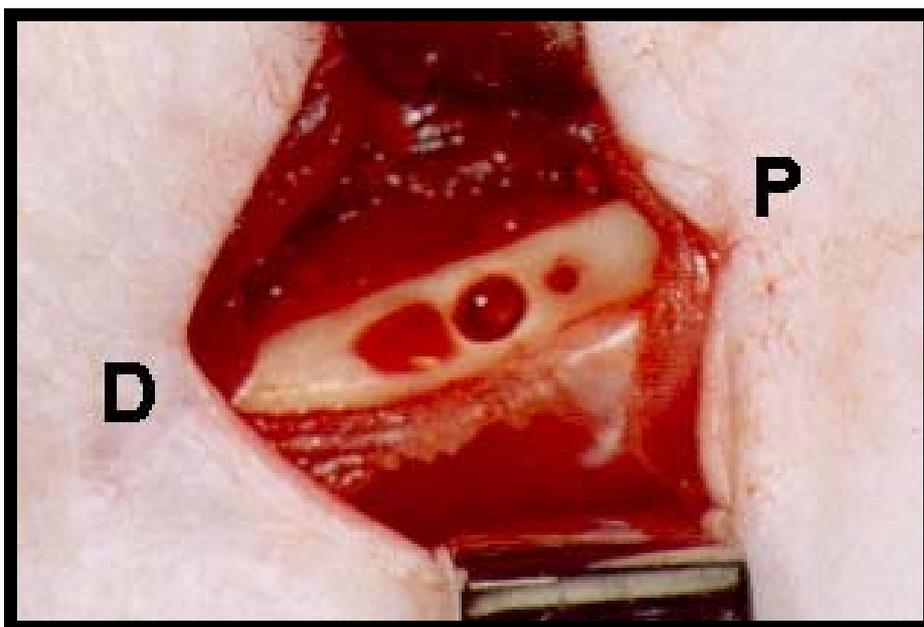


FIGURA 7 Aspecto da diáfise medial do fêmur, apresentando a cavidade cirúrgica e os dois orifícios dos parafusos, com sangramento efetivo, e colocados, respectivamente, por distal (D) e proximal (P) do fêmur.

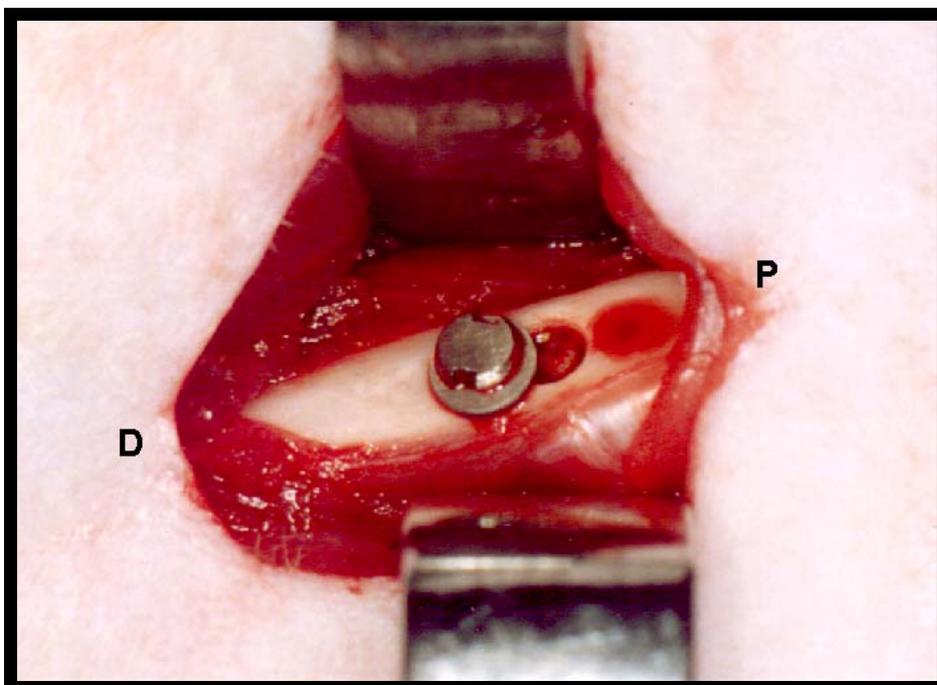


FIGURA 8 Posicionamento do primeiro parafuso, com sua respectiva arruela, à esquerda da cavidade cirúrgica, ou seja, na porção distal (D) do fêmur.

Após a fixação final dos elementos metálicos, a cavidade foi abundantemente irrigada com água destilada e os músculos devidamente reposicionados. As suturas internas, do perióstio e dos músculos foram realizadas, a pontos isolados, com fio de poliglactina⁹ 910 - 4.0 (Figura 10). Na pele, também suturada a pontos isolados, foi utilizado mononylon¹⁰ 5.0 (Figura 11).

Concluída a intervenção cirúrgica, os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno com tampas de aço inoxidável, regularmente higienizadas e com temperatura ambiente de 21 +/- 3 °C. A alimentação dos animais incluiu ração comercial e água *ad libitum*. Como medicação analgésica, nas primeiras 24 horas pós-operatórias, foi usada uma solução de 1000 ml de água com 500 mg de paracetamol. Nos primeiros 15 dias, cada animal foi isolado por gaiola. Após esse período, foram novamente agrupados, permanecendo 5 animais por gaiola até as respectivas datas de sacrifício.

De acordo com o estabelecido, os animais foram sacrificados aos 15, 30, 45 e 60 dias pós-operatórios na câmara de CO₂. Os fêmures foram removidos por desarticulação. Após, procedeu-se a retirada dos tecidos moles envolvendo a diáfise do osso, preservando o perióstio sobre a área do experimento. O armazenamento das peças foi feito em formalina neutra tamponada a 10% por, no mínimo, 24 horas, e cada frasco foi devidamente identificado.

O grupo teste de 30 dias foi perdido no período pós-operatório. Novos animais foram selecionados e submetidos aos procedimentos descritos. Os implantes foram esterilizados e reutilizados.

⁹ Vicryl, Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil.

¹⁰ Mononylon, Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil.

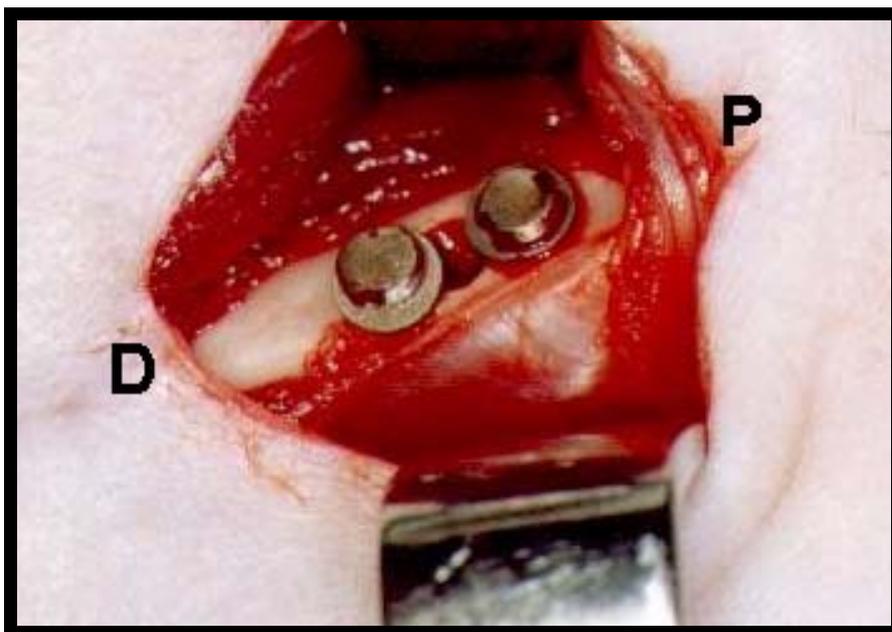


FIGURA 9 Posicionamento dos parafusos e suas respectivas arruelas, tangenciando os limites da cavidade cirúrgica. Entre as arruelas e sobre a cavidade cirurgicamente obtida, registra-se a distância de 1,3 mm que corresponde à área de atuação do campo magnético.



FIGURA 10 Sutura a pontos isolados dos planos profundos.

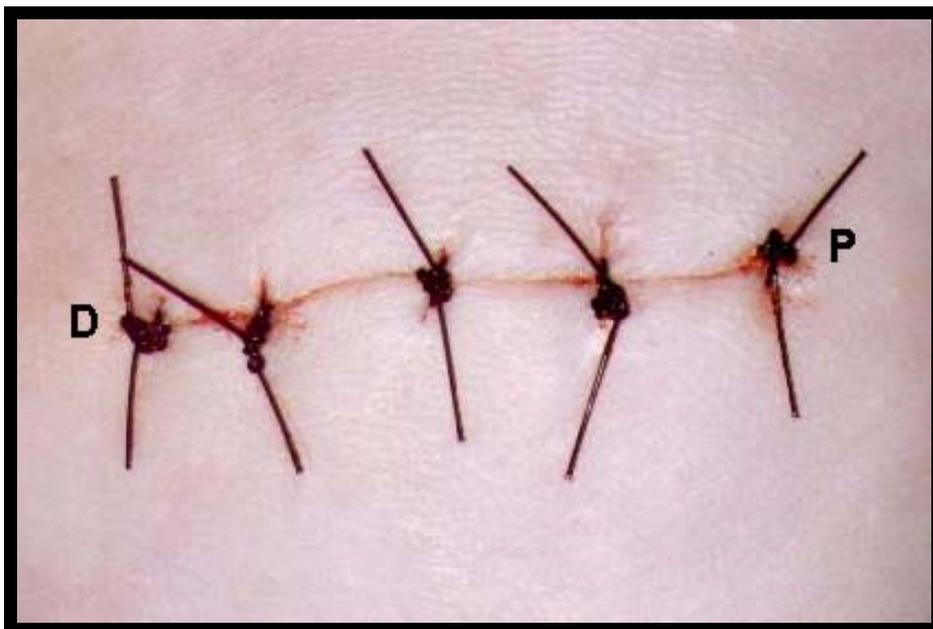


FIGURA 11 Sutura a pontos isolados da pele.

4.5 Estudo Radiográfico

Esta etapa foi realizada para a verificação do posicionamento dos implantes. As peças foram radiografadas e processadas no mesmo dia. Para tal, usou-se filme periapical¹¹ número 2, tempo de exposição de 0,4 s e distância foco-filme de 40 cm, em aparelho de raios X¹² com regime elétrico de 50 kV e 10 mA.

Cada fêmur foi posicionado sobre o filme com a articulação coxo-femoral para o lado direito do operador, simulando a posição de decúbito lateral direito usada na cirurgia.

A peça foi estabilizada com cera¹³ na articulação coxo-femoral, fazendo com que os implantes ficassem perpendiculares em relação ao feixe principal de radiação. Após a exposição, os filmes foram processados pelo método automático.

4.6 Estudo Histológico

O preparo das peças foi realizado no Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Após sua fixação, as peças foram colocadas em substância descalcificadora, ácido nítrico a 5%, por tempo médio de 48 horas. A etapa seguinte consistiu na retirada dos implantes com incisões lineares sobre o periósteo, sem dano aparente. As arruelas correspondentes aos grupos teste foram atraídas pela pinça, também de aço, o que sugere a imantação das mesmas até o final do experimento.

As peças foram cortadas no sentido do seu longo eixo, com lâmina de bisturi número 15, de modo que a incisão envolvesse os três orifícios correspondentes à cavidade central e às perfurações dos parafusos.

¹¹ Kodak, DF-58, USA.

¹² Dabi Atlante, Spectro II, Brasil

¹³ Cera utilidade – Artigos Odontológicos Clássico Ltda., São Paulo, SP.

Na seqüência, cada metade de fêmur foi submetida ao processamento para a inclusão em parafina. Este se constituiu na imersão dos fragmentos em álcool etílico 96% - um banho, durante duas horas; álcool etílico 100% - quatro banhos, sendo de duas em duas horas cada um; xilol – três banhos de 90 minutos cada. Após, foi feita a imersão em parafina histológica a 65 °C, compreendendo um banho de duas horas e outro de três horas. Os blocos de parafina foram submetidos a cortes longitudinais em micrótomo¹⁴, ao longo eixo do fêmur, de 4 µm de espessura, perfazendo um total de 24 cortes por peça. Os cortes foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina e submetidos à análise microscópica.

Os preparos histológicos foram examinados ao microscópico óptico¹⁵ para avaliação, tanto na cavidade cirúrgica, quanto nas lojas dos parafusos, da qualidade do osso neoformado, presença de infiltrado inflamatório e reação a corpo estranho. Como última etapa foi feita a descrição histológica das lâminas. Estas foram avaliadas pela autora após calibração da mesma pela orientadora do trabalho.

4.7 Considerações Éticas

Este estudo seguiu as normas de utilização de animais em projetos de pesquisa, conforme Resolução Normativa 04/97 da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA, e conforme parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Anexo 2).

¹⁴ Micrótomo Leica 2155

¹⁵ Model Lambda LQT 2, ATTO Instruments Co., Hong Kong, China.

5. RESULTADOS

A descrição dos resultados encontrados segue a seguinte seqüência: grupo controle e grupo teste para cada período experimental. Dentro de cada grupo a descrição foi dividida em cavidade cirúrgica e lojas dos parafusos. A avaliação foi realizada quanto à qualidade do osso neoformado, presença de infiltrado inflamatório e reação a corpo estranho.

5.1 Grupo controle 15 dias

Cavidade Cirúrgica: a partir do endósteo, junto às corticais ostectomizadas, encontra-se proliferação de tecido ósseo trabeculado. Na superfície externa, seu sentido predominantemente horizontal e plano mantém a continuidade e forma dos níveis corticais remanescentes. Também é visível a proliferação trabecular em direção centrípeta à cavidade cirúrgica (Figura 12). Podem-se observar variações entre osso com baixa eosinofilia, ricamente celular, caracterizando osso imaturo e figuras trabeculares lamelares em grau mais avançado de maturação óssea. Observa-se ainda a interrupção da continuidade cortical ostectomizada com a organizada formação trabecular endóstea centrípeta (Figura 13).

Os espaços medulares mostram presença de tecido conjuntivo com grande riqueza celular, além de marcante atividade osteoblástica junto às trabéculas neoformadas, evidenciando a posição de osso organizado e riqueza celular (Figura 14).

Lojas dos parafusos: caracterizam-se por espaços vazios bem delimitados reproduzindo a forma rosqueada do parafuso metálico. No nível do orifício cortical,

verifica-se intensa formação óssea trabecular. A face interna da mesma loja, próxima a cavidade cirúrgica, revela formação cortical horizontalmente organizada, mais compacta, com menores e menos freqüentes lacunas hematopoiéticas. Os espaços medulares mantêm a limitação física correspondente à loja da rosca. O tecido hematopoiético presente e abundante mantêm características da riqueza celular (Figura 15).

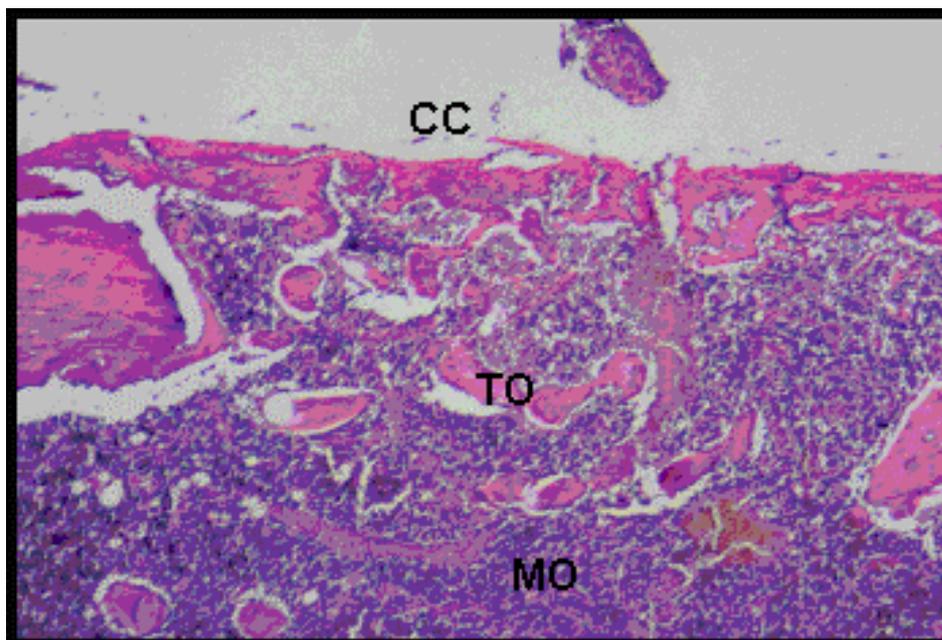


FIGURA 12 Grupo controle 15 dias: cavidade cirúrgica (CC) preenchida por medula (MO) e início da formação do trabeculado ósseo (TO) (HE 40X).

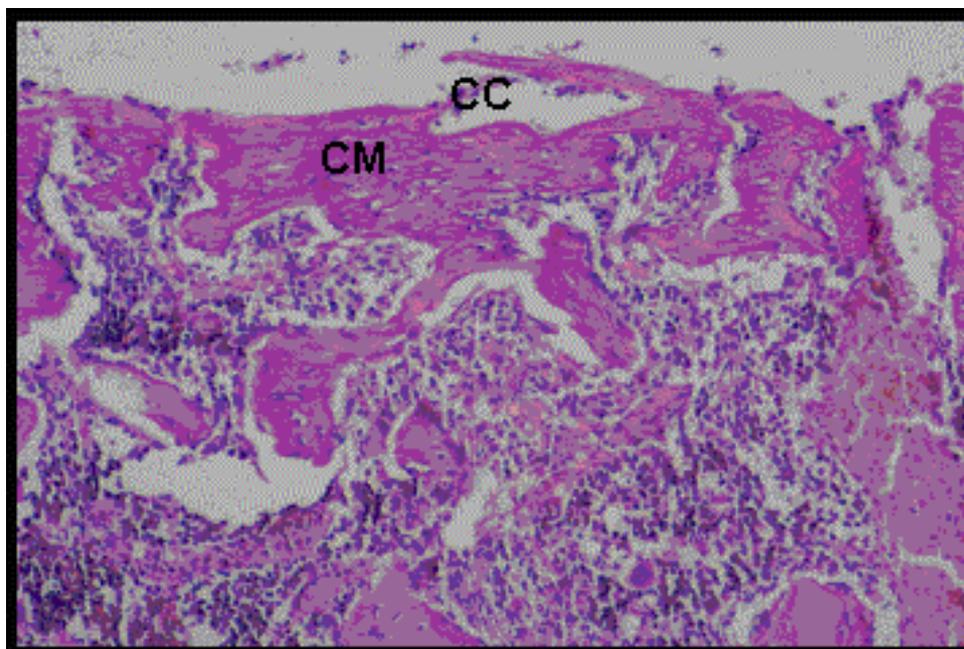


FIGURA 13 Grupo controle 15 dias: cavidade cirúrgica (CC) em maior aumento. Nota-se intensa atividade osteoblástica e início da organização da cortical medial (CM) (HE100X).

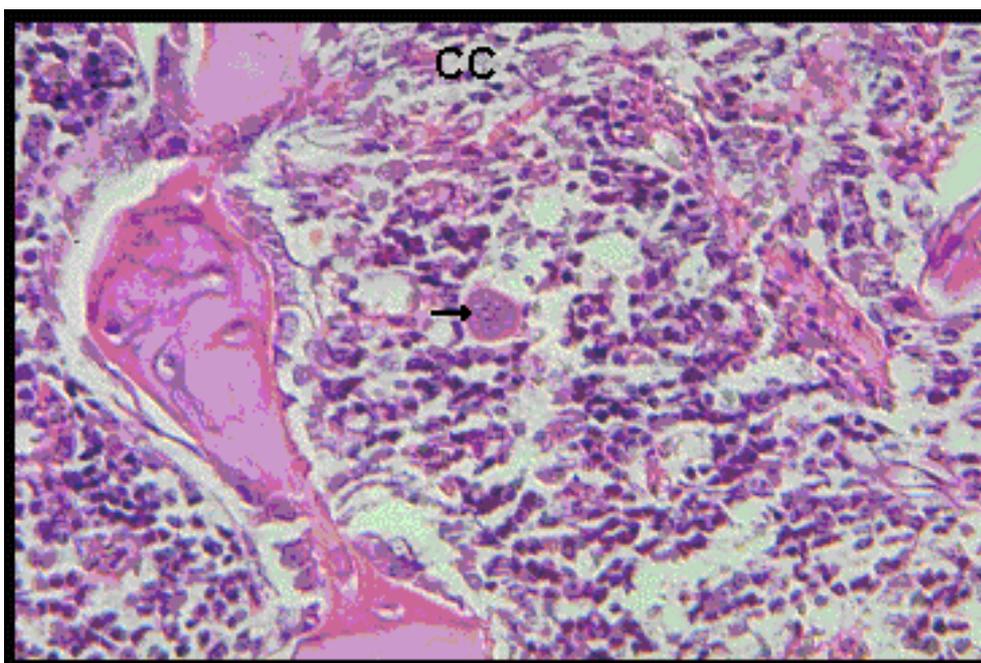


FIGURA 14 Grupo controle 15 dias: aspecto da cavidade cirúrgica (CC) em cicatrização, com a presença de células multinucleadas (→) (HE 200x).

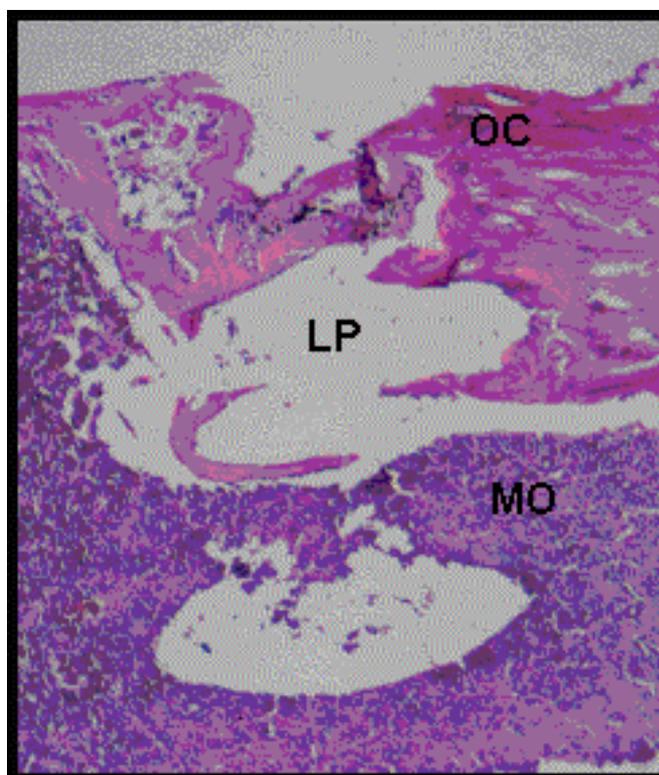


FIGURA 15 Grupo controle 15 dias: loja do parafuso (LP) delimitada por osso cortical (OC) na superfície e medular (MO) em profundidade (HE 40X).

5.2 Grupo teste 15 dias

Cavidade Cirúrgica: junto às corticais marginais, evoluindo do endóstio, observa-se exuberante formação trabecular com direção centrípeta. Seus limites externos configuram uma cortical com tendência à continuidade; porém, formatados pela convexidade, fogem do limite externo horizontal em que se encontram as corticais remanescentes. Chama a atenção uma formação óssea regular que margeia a loja da arruela imantada (Figura 16).

Espaços medulares invadidos por numerosas formações de osso trabecular, tendendo a um crescimento vertical mais abundante e maduro junto às paredes ósseas da cavidade. Marcada atividade celular, com tecido hemopoiético exuberante. Este encontra-se partimentado em pequenos espaços revestidos pela rede trabecular (Figura 17).

Registre-se ainda maior concentração de osso maduro nas bordas da ferida nas áreas vizinhas às arruelas imantadas. Visíveis áreas de osso maduro e imaturo e grande atividade osteoblástica (Figura 18).

Lojas dos parafusos: identifica-se processo de remodelação com invaginação de tecido conjuntivo fibroso na interface mais externa entre osso e parafuso. Junto ao orifício cortical observa-se simetria na formação óssea cortical e presença de osso lamelar. Os espaços vazios, representando a forma rosqueada do parafuso metálico, estão totalmente circunscritos por osso maduro.

Nos espaços medulares, pela profundidade da loja, mantêm-se uma limitação física óssea com a mesma. Pode-se observar ainda extensões das trabéculas para o interior da medula e tecido hematopoiético abundante mantendo as características da riqueza celular (Figura 19).

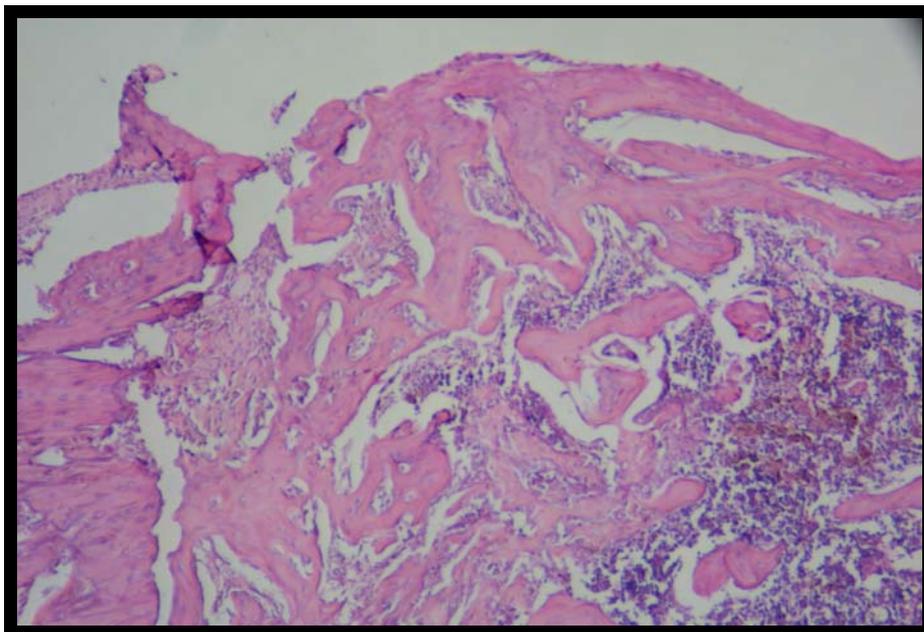


FIGURA 16 Grupo teste 15 dias: cavidade cirúrgica (CC) com intensa formação de trabeculado ósseo (TO) em direção ascendente (HE 40x).

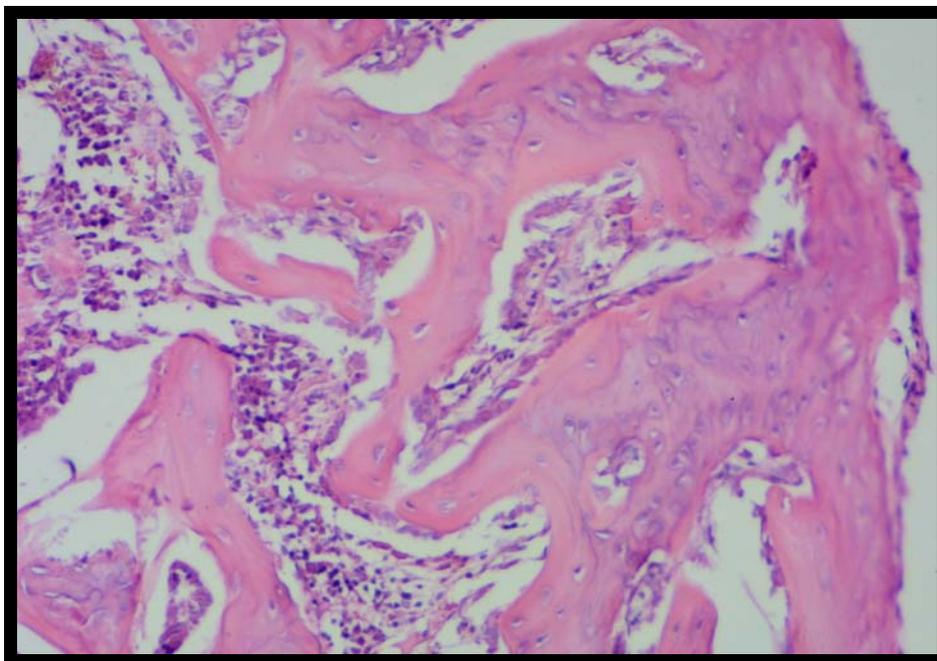


FIGURA 17 Grupo teste 15 dias: maior aumento da área da cavidade cirúrgica (CC). Nota-se a formação de trabéculas ósseas (TO) entremeadas de espaços medulares (EM). Observam-se áreas de neoformação (FO) e reabsorção (RO) (HE 100x).

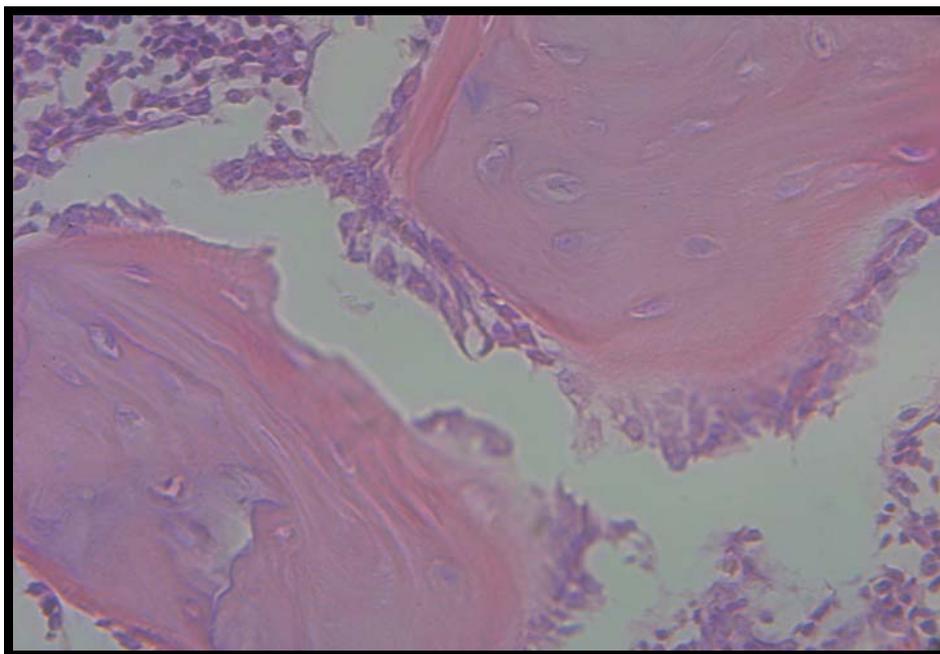


FIGURA 18 Grupo teste 15 dias: áreas de neoformação (FO) e reabsorção (RO) ósseas; disposição das lamelas ósseas neoformadas (HE 200x).

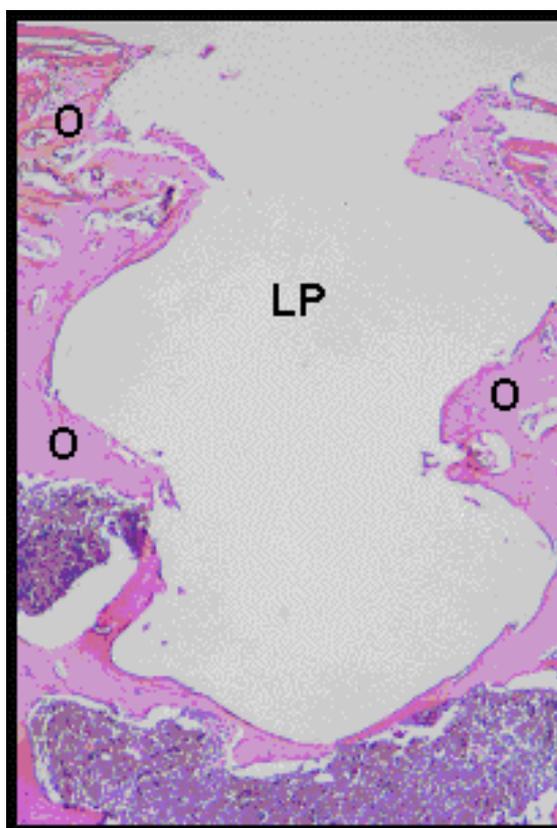


FIGURA 19 Grupo teste 15 dias: loja do parafuso (LP) completamente revestida por tecido ósseo neoformado (O) (HE 40X).

5.3 Grupo controle 30 dias

Cavidade cirúrgica: grande atividade de neoformação e maturação junto a trabéculas ósseas corticais. A forma em mosaico expressa crescimento em diferentes níveis, mas estendendo-se predominantemente para o interior da ferida. A superfície óssea externa completa sua maturação, agora de forma levemente convexa (Figura 20). Presença de tecido conjuntivo em ambos os extremos corticais limitantes da cavidade cirúrgica. Este pode caracterizar a formação de cápsula fibrosa como reação a corpo estranho, advindo das arruelas metálicas (Figura 21).

Medula óssea, entremeada na trama trabecular, apresenta graus de degeneração gordurosa. Apresenta, também, presença de vasos sanguíneos neoformados e tecido hematopoiético compartilhado nos espaços medulares (Figura 22).

Lojas dos parafusos: mantém-se a expressão do espaço vazio, correspondente à anterior presença do parafuso rosqueado. A partir do orifício na cortical, observa-se marcado contorno ósseo, que, originado do endóstio, formou-se em torno da rosca do parafuso. Em profundidade na cavidade, pode-se observar exuberante formação óssea trabecular dando forma de continuidade entre a cortical invaginada nesta direção. Os espaços medulares seguem o processo normal de maturação e organização. Junto ao perfil ósseo das roscas pode-se observar presença de tecido hematopoiético compatível com a normalidade. Chama a atenção presença de fina camada de tecido conjuntivo fibroso delimitando o espaço das arruelas (Figura 23).

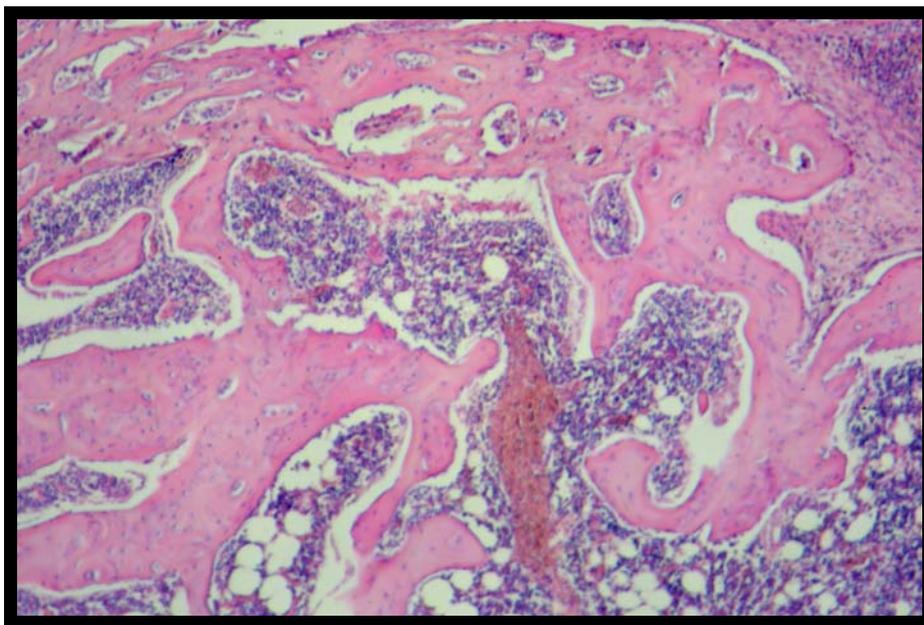


FIGURA 20 Grupo controle 30 dias: aspecto do trabeculado ósseo (TO) e espaços medulares (EP). Nota-se o início da formação de vasos sanguíneos (→) (HE 40x).

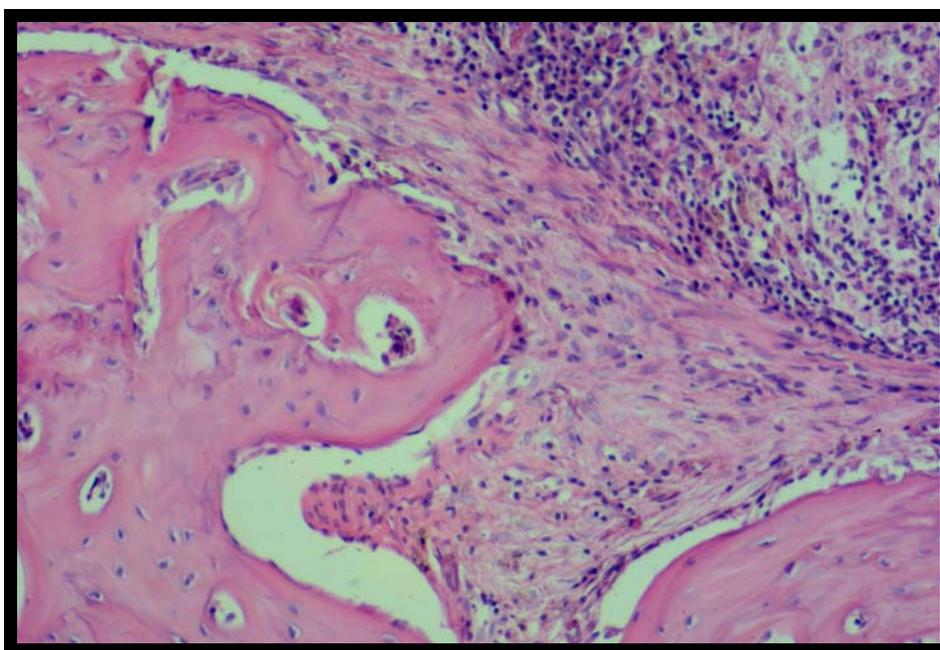


FIGURA 21 Grupo controle 30 dias: aspecto da cortical medial (CM) da cavidade cirúrgica e presença de reação inflamatória (RI) a corpo estranho (HE 100x).

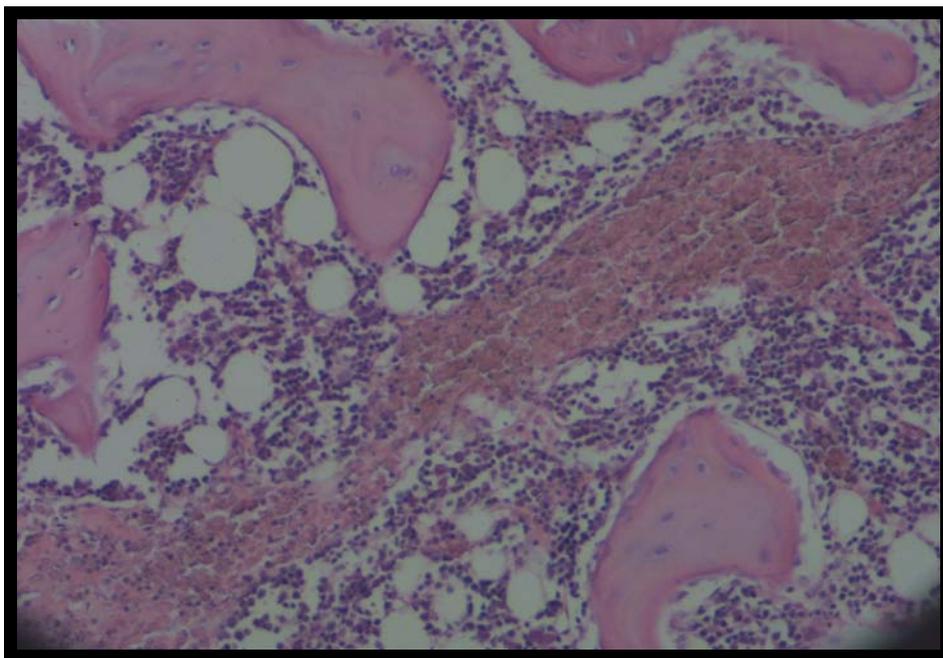


FIGURA 22 Grupo controle 30 dias: aspecto da medula óssea hemopoiética (MO), com organização de vasos sanguíneos (←) e degeneração gordurosa (→) (HE 100x).

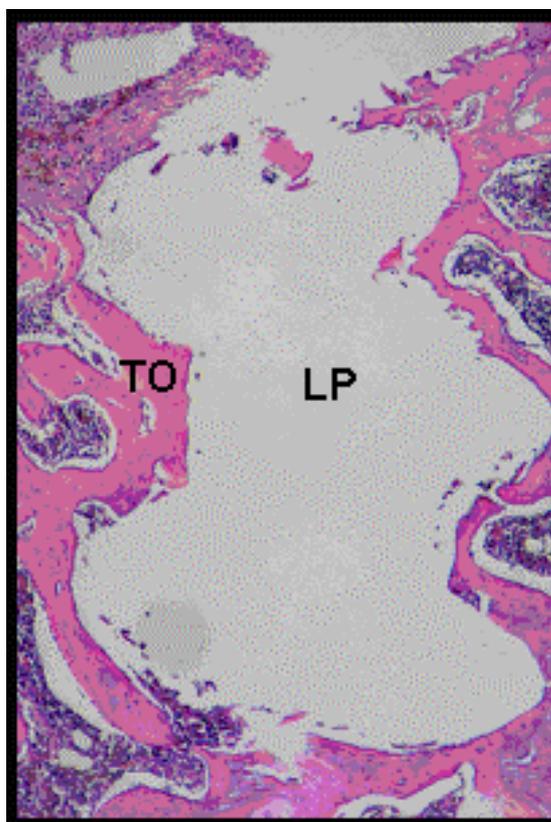


FIGURA 23 Grupo controle 30 dias: loja do parafuso (LP) completamente circundada por tecido ósseo neoformado (TO) (HE 40x).

5.4 Grupo teste 30 dias

Cavidade Cirúrgica: evidencia-se um processo cicatricial com marcada formação óssea, praticamente compactada. Proveniente do endóstio da cortical oposta ao lado ostectomizado observa-se formação de osso dirigido verticalmente ao centro da ferida. Chama a atenção as formações dos espaços medulares visivelmente verticalizados, também dirigidos para a superfície externa da ferida cirúrgica. Nos espaços medulares há extensas paliçadas de osso revelando diferentes fases de maturação óssea. Tecido hematopoiético presente e rico na sua estrutura celular (Figura 24). Sob o local das arruelas imantadas, nota-se uma formação retangular bem delimitada de osso organizado. As lamelas dispostas horizontalmente em alto índice de regularidade e paralelismo. O tecido acha-se totalmente circunscrito por exuberante reação inflamatória fibrosa proveniente da cápsula (Figura 25). Como consequência, observam-se baías de reabsorções, com osteoclastos, tendendo a alterar o contorno ósseo externo (Figura 26).

Loja do parafuso: o espaço correspondente à forma rosqueada do parafuso está totalmente circunscrito por osso maduro. Notam-se extensões das trabéculas ósseas para o interior do espaço medular. Sobre a superfície do osso que reveste esta loja observa-se processo de reabsorção e remodelação. Na superfície externa, na interface entre arruela e osso constata-se presença de tecido conjuntivo fibroso denso (Figura 27).

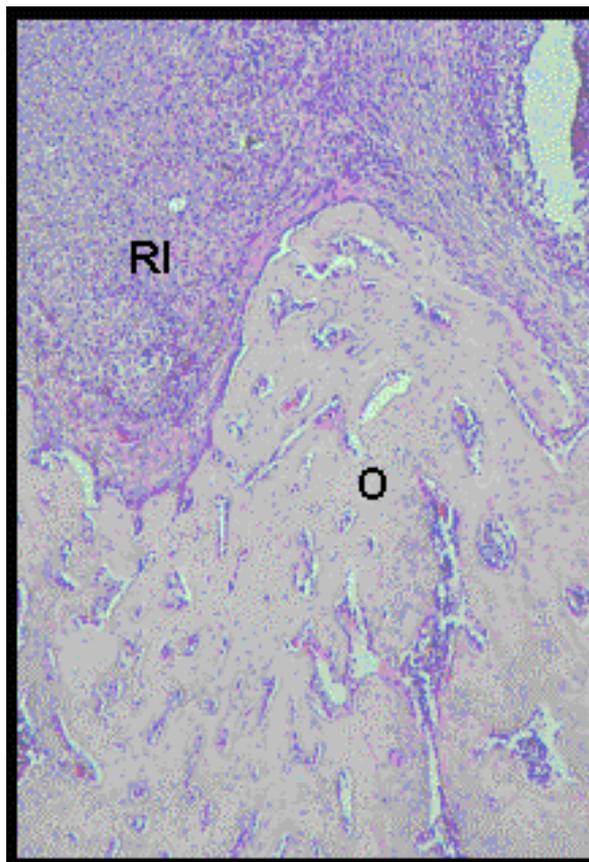


FIGURA 24 Grupo teste 30 dias: cicatrização do tecido ósseo (O) ascendente a partir do endóstio da cortical oposta ao acesso cirúrgico. Presença de exacerbada reação inflamatória a corpo estranho (RI) (HE 40x).



FIGURA 25 Grupo teste 30 dias: neoformação óssea retangular (O) localizada abaixo da arruela imantada, com exacerbada reação inflamatória a corpo estranho (RI) (HE 40x).

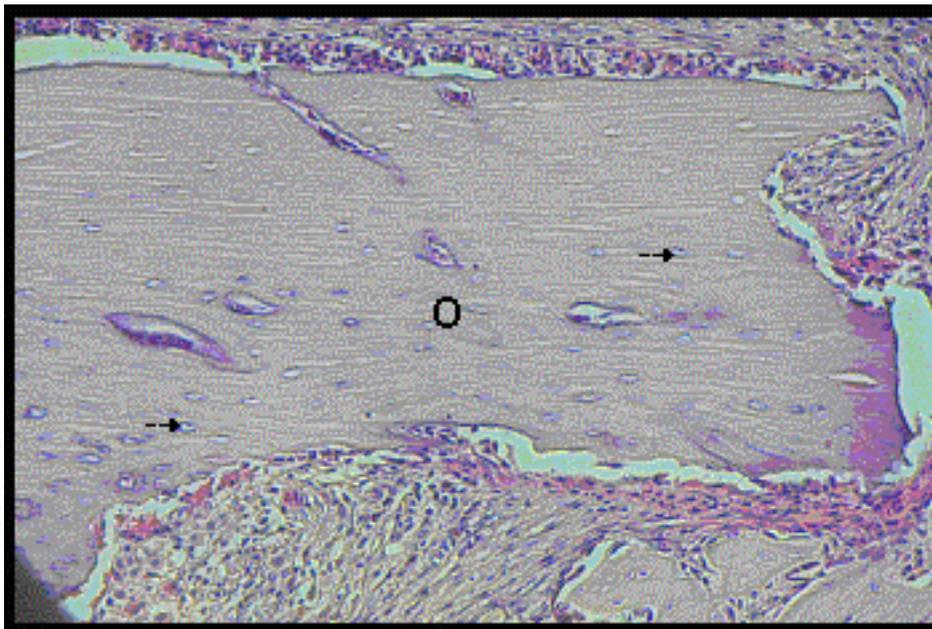


Figura 26 Grupo teste 30 dias: maior aumento da neoformação óssea retangular (O) localizada abaixo da arruela imantada. Nota-se a presença de osteócitos (↘) e lamelas ósseas dispostas horizontalmente (HE 100x).

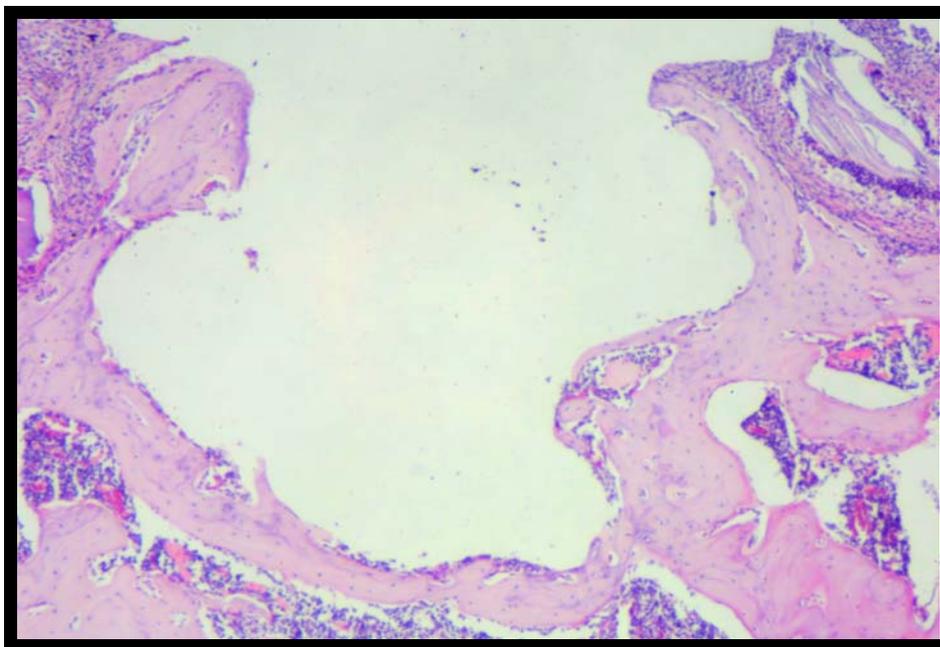


Figura 27 Grupo teste 30 dias: loja do parafuso (LP) revestida por espessa camada de osso compacto (O) (HE 40x).

5.5 Grupo controle 45 dias

Cavidade Cirúrgica: a cortical óssea apresenta pouca atividade na sua superfície externa, permitindo visualizar a deposição lamelar predominante. Mantém sua forma convexa circundada por tecido conjuntivo fibroso (Figura 28). Atividade osteoclástica nas áreas limitadas pelas arruelas metálicas recobertas estas por cápsula fibrosa (Figura 29). Espaço medular invadido pelas trabéculas ósseas exuberantes, resultantes de maciça formação óssea. O tecido hematopoiético presente revela-se no espaço medular com formação vascular (Figura 30).

Loja do parafuso: a maior exuberância óssea, delimitando a rosca do parafuso, reflete-se pela extensão óssea a partir do limite da loja para o interior dos espaços medulares. As infiltrações de tecido conjuntivo fibroso ocupam a interface osso-superfície metálica provocando áreas de reabsorção óssea marginal (Figura 31).

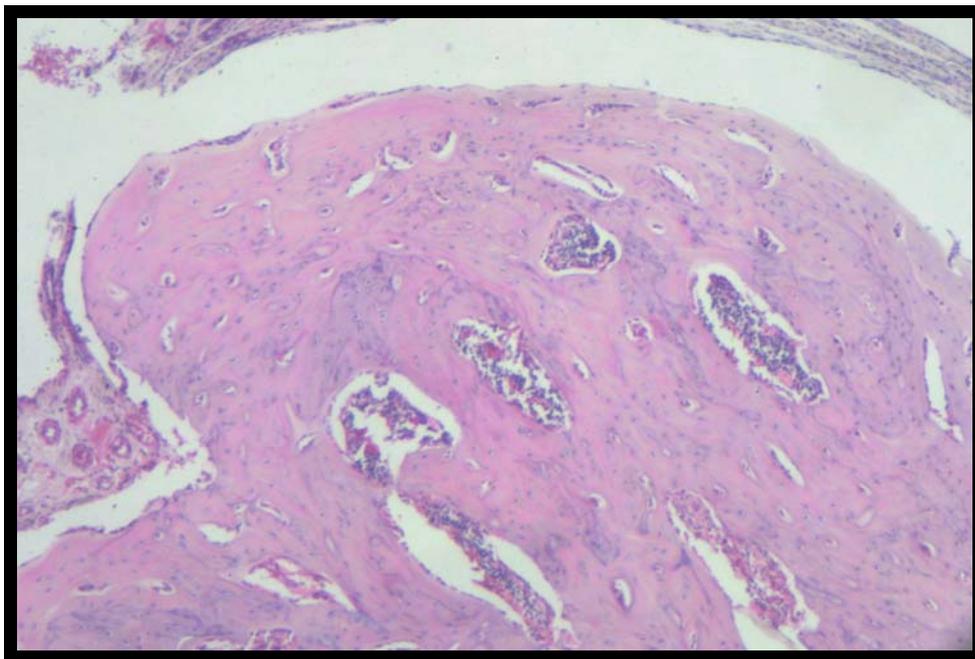


Figura 28 Grupo controle 45 dias: cavidade cirúrgica (CC) com tecido ósseo maduro, vasos sanguíneos e áreas de remodelação interna. Nota-se a presença de cápsula fibrosa (CF) na parte superior do corte (HE 40x).

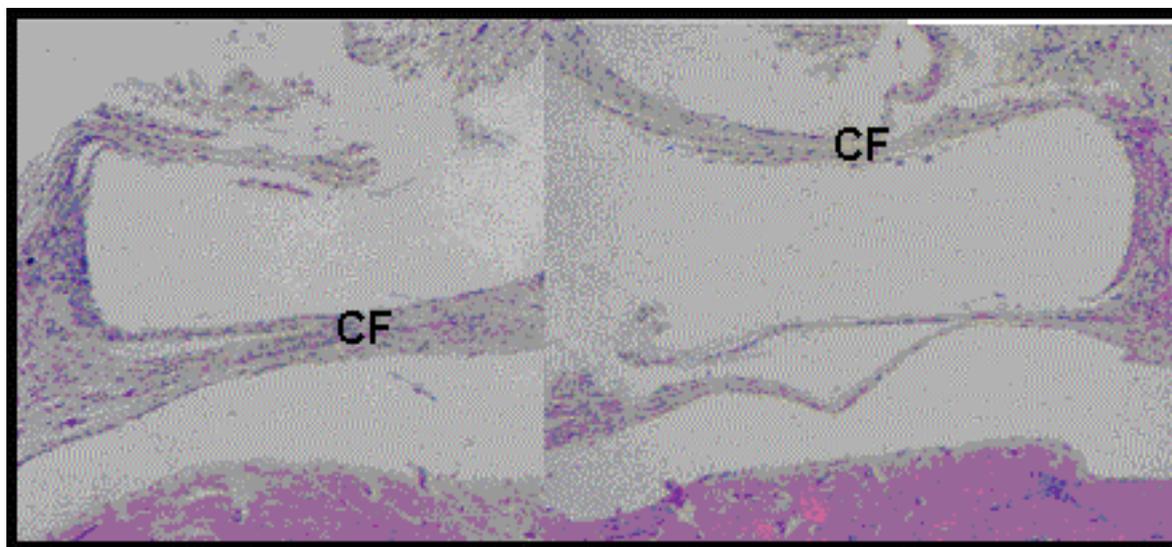


Figura 29 Grupo controle 45 dias: composição de fotos da cápsula fibrosa (CF) de tecido conjuntivo correspondente à área de localização da arruela não imantada (HE 40x).

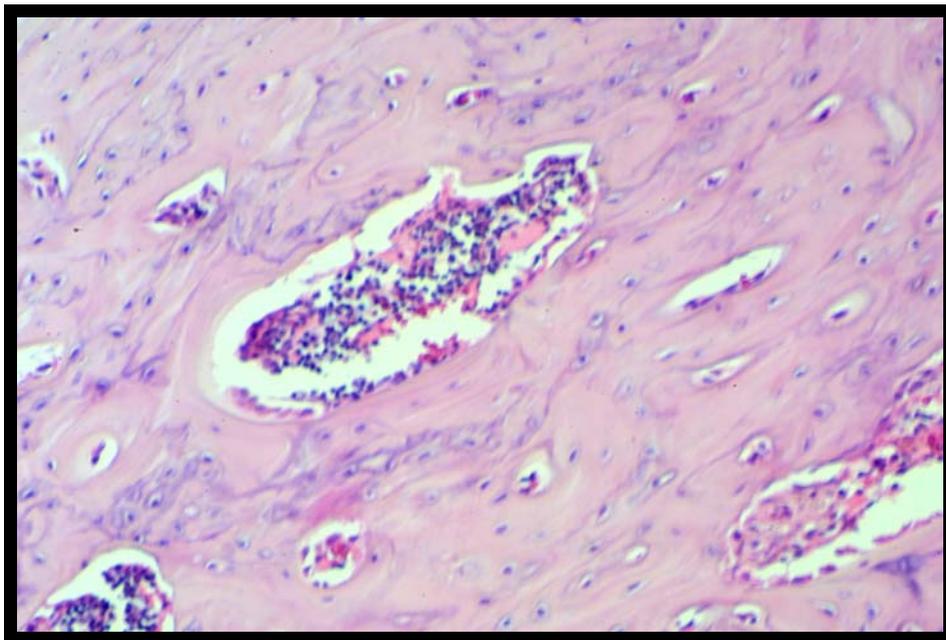


Figura 30 Grupo controle 45 dias: aspecto do tecido ósseo no centro da cavidade cirúrgica. Nota-se a presença de lamelas ósseas dispostas de forma entrelaçada. (HE 100x).

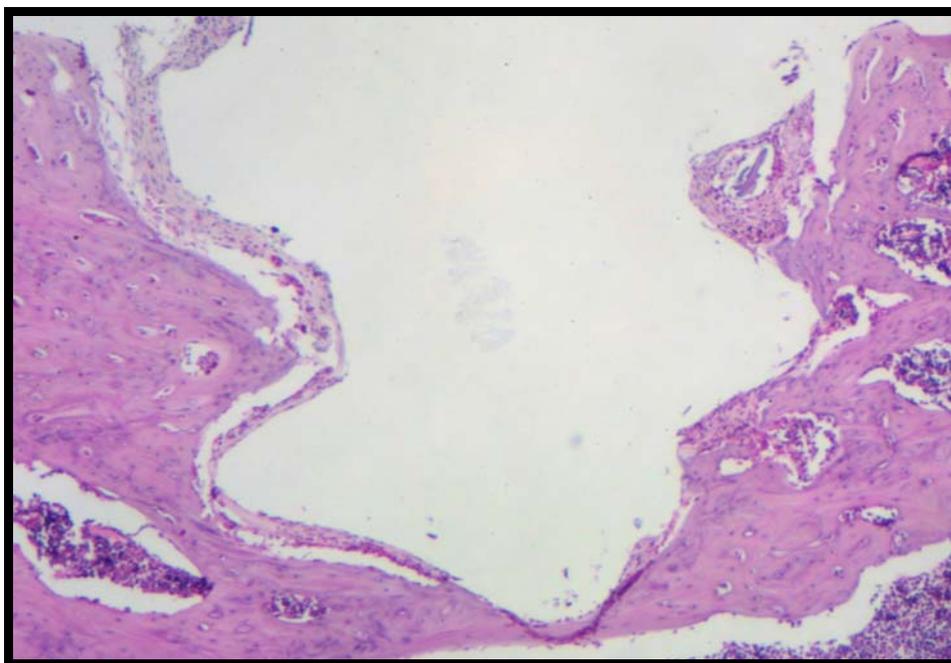


Figura 31 Grupo controle 45 dias: loja do parafuso (LP) com delgada camada de tecido inflamatório reacional (RI) (HE 40x).

5.6 Grupo teste 45 dias

Cavidade Cirúrgica: em toda a estrutura óssea notam-se áreas organizadas de osso trabecular entremeadas de osso medular (Figura 32). Nos espaços medulares observam-se vasos sanguíneos, degeneração gordurosa e pouca atividade osteoblástica. Ao contrário, localiza-se grande atividade osteoclástica, sugerindo a fase de remodelação óssea (Figuras 33 e 34).

Lojas dos parafusos: estas cavidades encontram-se totalmente revestidas por osso compacto, com poucos espaços medulares ao redor. Identificam-se áreas de remodelação óssea, principalmente na superfície externa da cortical perfurada. Nota-se pequena invasão de tecido conjuntivo na interface entre osso e parafuso. Observa-se contorno do parafuso, espaço da arruela e a cavidade cirúrgica. A partir da loja do parafuso não se percebe limite entre corticais marginais e processo cicatricial da ferida. A estrutura de osso normal oferece compatibilidade à cicatrização óssea da ferida (Figura 35).

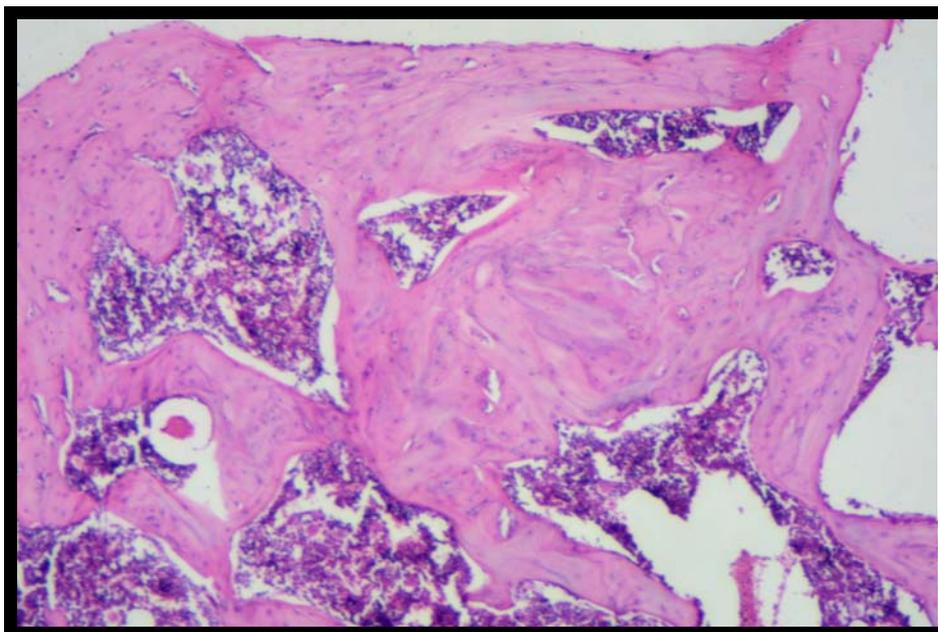


Figura 32 Grupo teste 45 dias: cavidade cirúrgica (CC) com tecido ósseo maduro, presença de vasos sanguíneos e áreas de remodelação interna. Nota-se um padrão semelhante entre a área cicatrizada e o tecido ósseo circundante (O) (HE 40x).

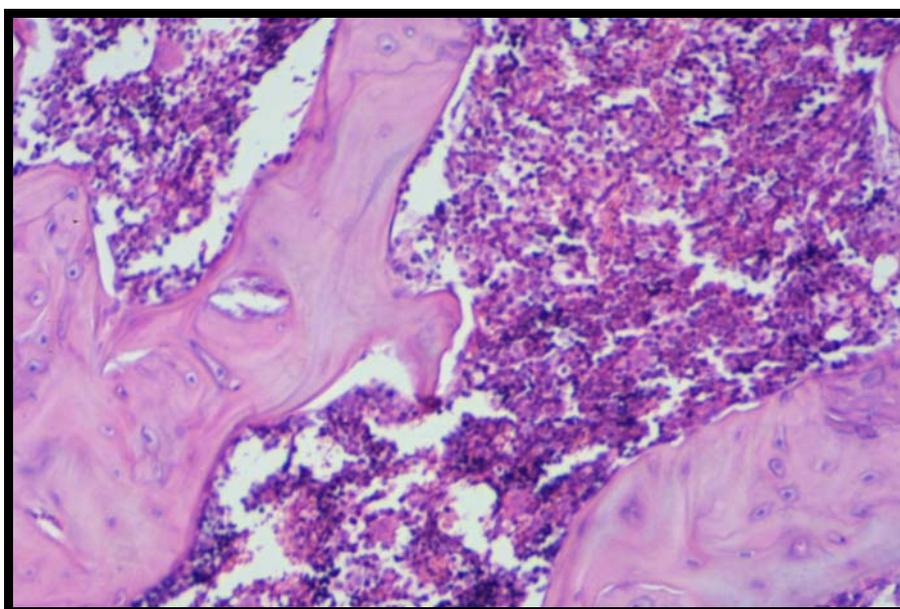


Figura 33 Grupo teste 45 dias: aspecto da cavidade cirúrgica, mostrando trabéculas ósseas (TO) e espaços medulares (EP) em maior aumento (100x).

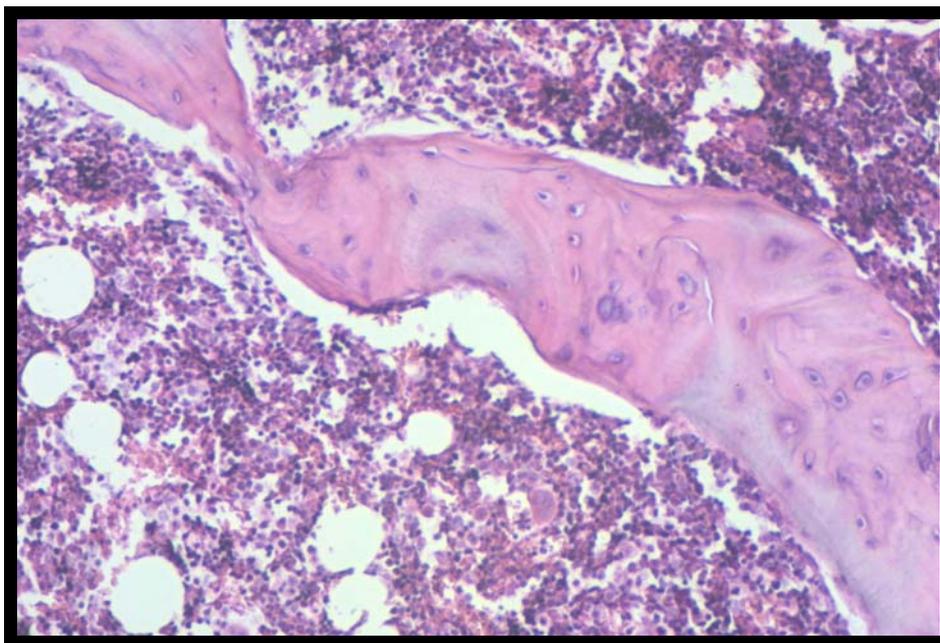


Figura 34 Grupo teste 45 dias: aspecto da medula hemopoiética com degeneração gordurosa (→) e fragmento de osso trabecular (O) Notam-se áreas de reabsorção óssea (RO) (HE 100x).

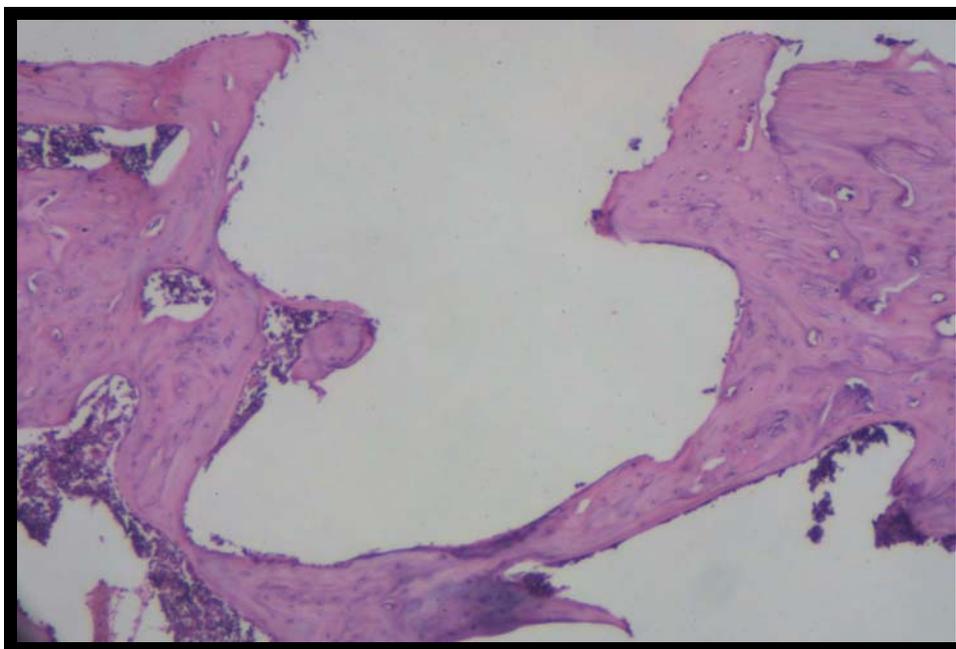


Figura 35 Grupo teste 45 dias: aspecto da loja do parafuso (LP) (HE 40x).

5.7 Grupo controle 60 dias

Cavidade Cirúrgica: o processo de remodelação é ativo na ferida cirúrgica, caracterizando a normalidade nas estruturas ósseas cortical, espaço medular, tecido hemopoiético. Registra-se importante espessamento conjuntivo fibroso com marcada tendência à invaginação entre os limites das paredes ósseas que representam a cicatrização da ferida e a cortical medial. Áreas de ação osteoclástica são visíveis em ambas as superfícies ósseas. Comparativamente, as duas estruturas ósseas apresentam semelhança cicatricial (Figura 36).

Loja do parafuso: mantém-se uma formação óssea compacta configurando o reflexo rosqueado dos parafusos na cortical. Entretanto, a dificuldade na obtenção do material íntegro, após a remoção dos parafusos, impossibilitou a leitura precisa, inviabilizando observações mais completas (FIG 37).

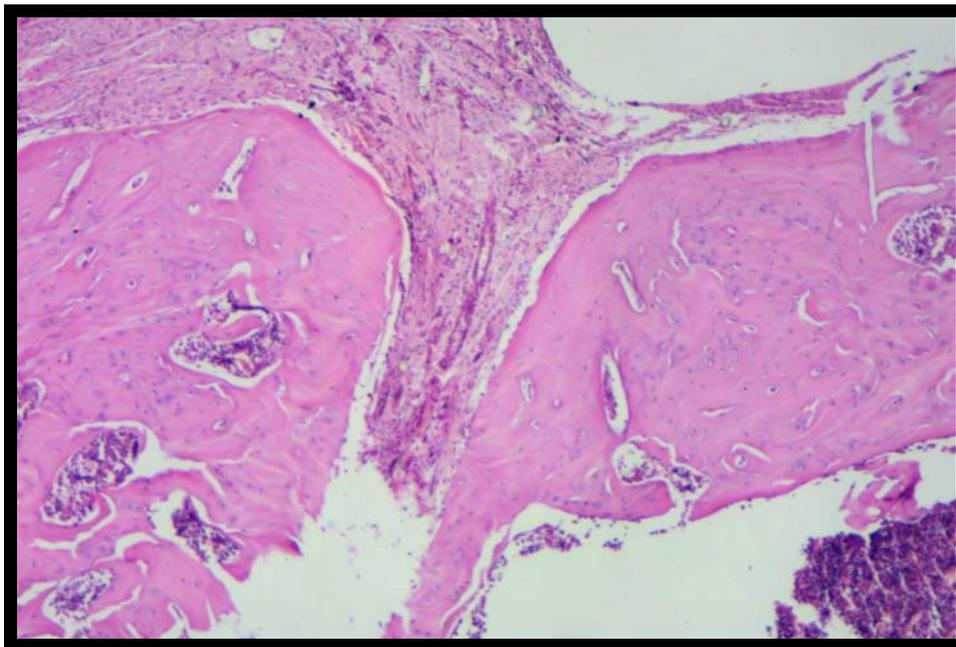


Figura 36 Grupo controle 60 dias: cortical medial da cavidade cirúrgica associada à presença de reação inflamatória (RI) a corpo estranho. Nota-se tecido ósseo maduro (O), com poucos espaços medulares (EP) (HE 40x).

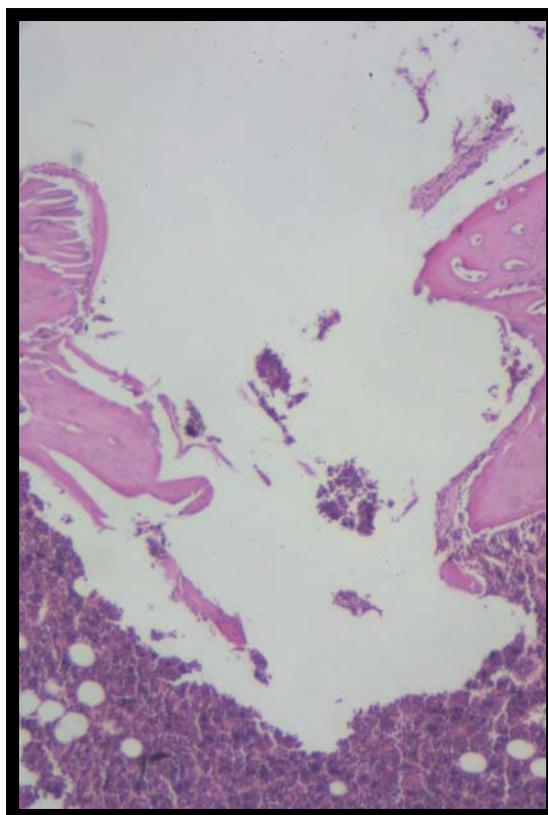


Figura 37 Grupo controle 60 dias: aspecto da loja do parafuso (LP) (HE 40x).

5.8 Grupo teste 60 dias

Cavidade cirúrgica: observa-se crescimento centrífugo, simétrico, bilateral das margens da ferida, reproduzindo, em seus bordos externos, o contorno das arruelas. A formação óssea, extrapolando o nível da cortical, sofre reestruturações com características de normalidade. Na altura do canal medular já não se observam alterações discrepantes entre o osso original e o osso cicatrizado (Figura 38).

Lojas dos parafusos: no osso maduro que reveste a cavidade, encontram-se inúmeras áreas de remodelação, com poucos espaços medulares adjacentes. Delgada estrutura fibrosa contorna a interface entre a rosca do parafuso e o tecido ósseo. A partir das margens da loja nota-se maciça formação óssea (Figura 39).

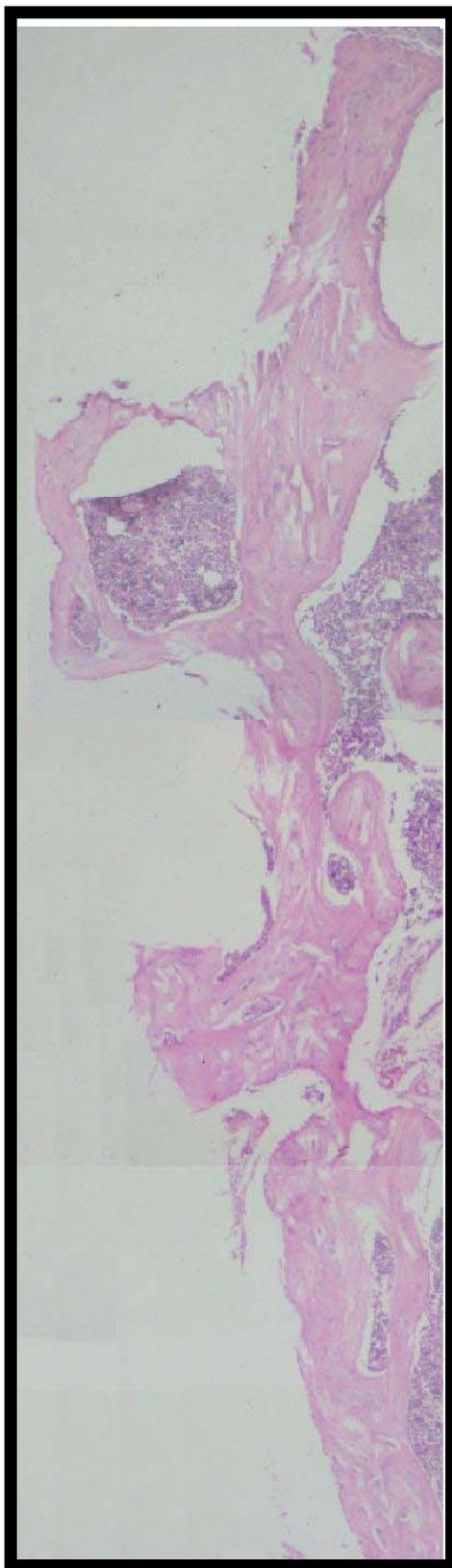


Figura 38 Grupo teste 60 dias: composição de fotos da sequência da cavidade cirúrgica (CC) e sua cortical medial. Observam-se projeções (↓) além do limite externo desta cortical, correspondente à área compreendida entre as arruelas imantadas (A). (HE 40x).

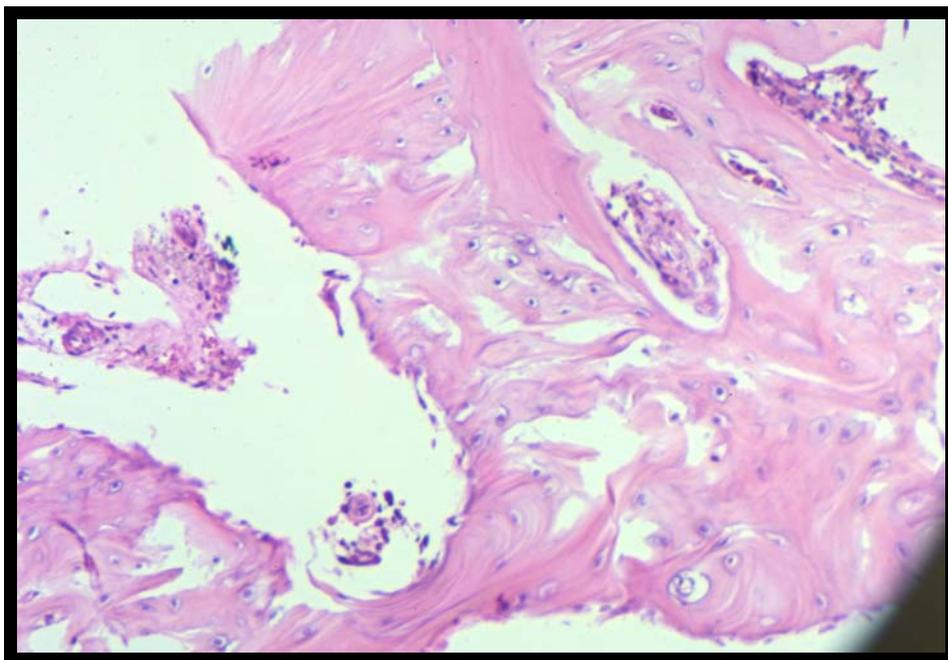


Figura 39 Grupo teste 60 dias: loja do parafuso (LP) (HE100x).

6. DISCUSSÃO

Segundo a literatura consultada para este tipo de experimento, há possibilidades da utilização de diferentes tipos de animais. Assim como Matsumoto et al (2000); Fini et al (2002); Fredericks et al (2003), realizaram suas pesquisas em coelhos, Inoue et al (2002), utilizou cães. Embasados pelas experiências de Grace, Revell, Brookes (1998); Nagai et al (2000); Aaron, Wang, Ciombor (2002); Ciombor et al (2002), foram utilizados ratos para este trabalho experimental. Dentre as razões para o seu uso estão a facilidade de manipulação destes pequenos animais, instalações adequadas para sua manutenção e modelo experimental adaptado para os objetivos propostos.

Para a realização deste trabalho experimental foi criada uma forma de cicatrização óssea em primeira intenção, concordando com as citações de Brighton (apud CHRISTIAN, 1996); Burkitt, Young, Heath (1994); Hunter (apud CHRISTIAN, 1996); Lane, Davis (apud CHRISTIAN, 1996). Esta ocorre em fraturas anatomicamente reduzidas, estáveis e fixadas. A cavidade óssea cirurgicamente criada apresentou apenas uma cortical localmente rompida, permitindo assim, manter as condições indispensáveis da reprodução de um calo ósseo.

A partir de diferentes propostas experimentais como Urist (1965); Veeck (1994); Aaron, Ciombor (1993); Grace, Revell, Brookes (1998); Nagai et al (2000); Matsumoto et al (2000); Fini et al (2000); Aaron, Wang, Ciombor (2002); Ciombor et al (2002); Fredericks et al (2003), buscou-se especificamente resultados experimentais relacionados com a distribuição de cargas polarizadas na área da cicatrização.

A estrutura criada para sepultamento da carga imantada foi composta de parafusos confeccionados em titânio comercialmente puro. A biocompatibilidade deste material já foi demonstrada por Veeck (1994). As arruelas confeccionadas em aço inoxidável não apresentaram proteção contra a corrosão por dificuldades técnicas de sua fabricação. A liga de aço corresponde à classificação citada por Chiaverini (1982). Trata-se de aço inoxidável martensítico, comumente empregado na fabricação de instrumental cirúrgico e odontológico.

O campo magnético formado pela aproximação das duas arruelas, neste estudo, correspondeu a aproximadamente 140 vezes o campo magnético da Terra, representando 42 G. A intensidade de campo usada foi significativamente maior do que a dos estudos relatados por Grace, Revell, Brookes (1998); Matsumoto et al (2000); Fini et al (2002); Aaron, Wang, Ciombor (2002); Ciombor et al (2002). Estes autores usaram, respectivamente, campos eletromagnéticos de 12 G, 2 G, 16 G, 16 G e 16 G. A modificação expressiva desta carga, primeiramente, prende-se à ausência de informações de calibragem de campo magnético utilizados nesta forma de pesquisa. Em segundo lugar, à natural dificuldade na fabricação e definição das intensidades para manter um campo atuante, isolado e sem possibilidades de reativações durante todo o tempo do experimento.

Para Aaron, Ciombor (1993), o interesse do uso de campos eletromagnéticos derivou das descobertas do efeito piezoelétrico, observados nos tecidos ósseos submetidos a cargas mecânicas. A deformação resultante é acompanhada por um sinal elétrico celular.

A proposta de estudos sobre o efeito de campos eletricamente carregados em tecidos vitais, mesmo que numericamente restrita, já demonstra a busca de distintos experimentos, tanto *in vitro*, como *in vivo*. Ishisaka et al (2000), citam o

uso de um magneto ferrítico para a estimulação de células *in vitro*. Entretanto, esses mesmos autores declaram pouco significativos os efeitos magnéticos sobre as funções celulares testadas. Autores como Grace, Revell, Brookes (1998); Matsumoto et al (2000); Fini et al (2002); Aaron, Wang, Ciombor (2002); Ciombor et al (2002); Inoue et al (2002), publicaram trabalhos *in vivo*. As aplicações de campos magnéticos eletricamente ativados foram respectivamente estimulados por 2, 8, 6, 1, 8 e 8 horas diárias. Também o tempo decorrido para essas pesquisas variou de 2 dias a 8 semanas. Este trabalho diferiu significativamente desses estudos por utilizar um campo magnético permanente. Através da utilização de ímãs sepultados buscou-se o estímulo de atração desse campo atuando sobre os tecidos vitais de modo ininterrupto durante todo o período experimental. Essa metodologia diferiu de Grace, Revell, Brookes (1998); Matsumoto et al (2000); Fini et al (2002); Inoue et al (2002); Aaron, Wang, Ciombor (2002); Ciombor et al (2002), que usaram um tempo diário restrito de estimulações eletromagnéticas.

O sepultamento dos ímãs, dispensando o uso de correntes elétricas externamente adaptadas, liberou o uso dessas conexões para ativação. Assim, além de favorecerem a metodologia, respeitando os princípios de bioética e dando conforto ao animal, permitiram maior tempo de experimentação.

Para Halliday e Resnick (1994), um corpo colocado em um campo magnético tem a sua neutralidade elétrica alterada. As observações de Oishi, Onesti (2000), levam a considerar a eletronegatividade celular detectadas em locais de fraturas ósseas, como um alerta da possibilidade de alterações elétricas na ferida local. Assim, compondo as cargas elétricas, extra e intracelulares, mais acentuadas na lesão, pode-se responder às primeiras intenções de atividade elétrica de uma célula viva.

Oishi, Onesti (2000), relatam que campos eletromagnéticos pulsáteis provocam diferentes respostas celulares. Contudo, sustentam a hipótese de que, nesta estimulação, o campo elétrico seria o principal responsável por influenciar a cicatrização óssea. Os resultados deste trabalho propõem uma discordância desta hipótese, uma vez que houve exuberante formação óssea nos grupos submetidos à ação magnética. Inicialmente houve aceleração do processo de cicatrização nos grupos de 15 e 30 dias. Seguindo um provável processo de estímulo celular continuado, registrou-se histologicamente a alteração do perfil cortical nos grupos de 45 e 60 dias.

Nos parafusos de titânio pode-se observar, no grupo controle, um processo de biocompatibilidade com resultados de formação óssea, já descritos por Veeck (1994). Entretanto, no grupo teste, a visível rapidez da reorganização do contorno da rosca chama a atenção da possibilidade da imantação do parafuso. Segundo, Kittel (1976), o titânio apresenta propriedades paramagnéticas mínimas, o que, eventualmente, poderá ser contestado pelos resultados obtidos na experiência *in vivo*.

A neutralidade quanto a compromisso inflamatório ou infeccioso do modelo metálico experimental aqui proposto fez-se claro na observação dos grupos controles. Não foi possível detectar qualquer reação contrária à biocompatibilidade e estabilidade do modelo. Neste estudo, parafusos de titânio comercialmente puro foram associados a ligas de aço inoxidável. Apesar dessa união, no grupo controle, não houve reação que diferisse do que já foi observado por Veeck (1994).

Na cavidade cirurgicamente preparada, do grupo teste, as observações histológicas, em comparação ao grupo controle, destacam resultados que mostram formação trabecular exuberante a partir do endóstio, já aos 15 dias pós-

operatórios. Tais imagens permitem sugerir uma atividade de cicatrização óssea estimulada pela presença do campo magnético. Em relação às áreas das lojas dos parafusos, nos grupos teste, a partir dos 15 dias houve a aceleração do processo de cicatrização.

O grupo teste de 30 dias, além de apresentar uma formação óssea compacta, exprime a resposta visual de uma tendência de crescimento centrípeto. Oferecem imagens marcadamente verticais, tanto das lamelas ósseas, quanto dos espaços medulares. Naturalmente quando comparado ao grupo controle, evidencia-se um processo de cicatrização acelerado. A compactação óssea se reforça visualmente pela presença de cápsula fibrosa espessa, envolvendo a área da loja das arruelas. A presença de processo de reabsorção óssea com infiltrado inflamatório na estrutura fibrosa não inviabiliza a observação deste osso maciço em estado adiantado de maturação. Chama a atenção a proliferação de tecido conjuntivo fibroso e atividade celular inflamatória que poderia corresponder ao já observado por Grace, Revell, Brookes (1998).

Entretanto, o grupo teste de 30 dias foi perdido durante o experimento. Novos animais foram selecionados e submetidos a cirurgia, com o reaproveitamento do material metálico. No exame das lâminas, decorrido o prazo de 30 dias, observou-se exacerbada reação inflamatória associada à presença de cápsula fibrosa. Sugere-se, assim, que a alteração da superfície das arruelas imantadas, somada ao efeito da força magnética, possa ser a causa desta visível proliferação tecidual. Esta última proposição concorda com Lemons, Natiella (1986).

Nos grupos teste e controle, aos 45 dias pós-operatórios, o osso neoformado assemelhou-se ao osso circundante. Estabeleceu-se um processo de

cicatrização em primeira intenção segundo Lane, Danis (apud CHRISTIAN, 1996). Entretanto, no grupo teste, a observação permite concluir maior atividade osteoclástica e remodelação óssea.

Aos 60 dias, no grupo teste, além da marcada configuração externa das arruelas imantadas com osso cortical, houve a formação de projeções ósseas para além dos limites externos da cortical anteriormente ostectomizada. Na imagem histológica, a formatação óssea cortical envolvendo a área de atividade do campo magnético permitiu a formação de osso cortical maciço. Além disso, ofereceu em baixo relevo a configuração do modelo utilizado. A expressão das projeções ósseas além do limite cortical deve representar, somada à configuração em baixo relevo no osso, à ação do campo magnético durante todo o experimento. Mesmo que esses resultados não possam ser comparativamente associados às pesquisas de Grace, Revell, Brookes (1998); Matsumoto et al (2000), por terem aplicado campos eletromagnéticos pulsáteis, deve-se considerar que os autores apresentaram resultados com aceleração de neoformação óssea, com os quais este trabalho concorda.

Nos grupos controles, o processo cicatricial ocorreu dentro de padrões normais já citados por Burkitt, Young, Heath (1994). Nas lojas dos parafusos segue o ciclo já citado por Veeck (1994) com titânio.

Considera-se importante a observação histológica da atividade hematopoiética na medula óssea. O processo de cicatrização depende da habilidade dos tecidos circunvizinhos de repor o suprimento sanguíneo na área injuriada. Urist, Delange, Finermann (1983), atribuíram a formação de cartilagem a uma escassez do suprimento sanguíneo. Já Grace, Revell, Brookes (1998), em seu trabalho, mostraram uma proliferação de cartilagem após a quarta semana. Neste

estudo, não houve prejuízo do aporte sanguíneo para a região, o que possa ter concorrido para a ausência de cartilagem durante todo o processo de cicatrização.

Segundo Aaron, Ciombor (1993), campos eletromagnéticos intermitentes têm mostrado profundos efeitos em tecidos conjuntivos. Neste trabalho esta resposta não foi exacerbada a não ser no grupo de 30 dias, cuja causa deve ainda ser melhor esclarecida.

Segundo Ishisaka (2000), até o momento há dificuldades de avaliação das várias reações celulares possivelmente provocadas por campos magnéticos, com o qual concordamos. Por isso, foi realizada uma proposta inicial de exames histológicos qualitativos do resultado cicatricial.

Mais estudos são necessários para determinar a ação intracorpórea e a intensidade ideal de estimulação magnética sobre o tecido ósseo em cicatrização, visto ser esse trabalho experimental inédito.

7. CONCLUSÕES

Após a realização deste estudo foi possível concluir que:

- A liga de aço inoxidável imantada, empregada neste estudo, é capaz de alterar o processo de cicatrização óssea;
- Os resultados obtidos, comparados os grupos teste e controle, foram favoráveis à aceleração da cicatrização óssea, em primeira intenção, por efeito magnético em todos os grupos estudados;
- A marcada configuração de um esboço ósseo envolvendo as estruturas metálicas no grupo teste, aos 60 dias pós-operatórios, leva a desenvolver a idéia de uma atividade local constante do campo magnético na ferida cirúrgica;
- Com exceção do grupo teste de 30 dias, os demais grupos não apresentaram alterações inflamatórias ou fibrosas a corpo estranho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹⁶

AARON, R.K.; CIOMBOR, D.M. Therapeutic Effects of Electromagnetic Fields in the Stimulation of Connective Tissue Repair. **J. Cell. Biochem.**, New York, v. 52, no. 1, p. 42-46, May 1993.

AARON, R.K.; WANG, S.; CIOMBOR, D.M. Upregulation of Basal TGFbeta1 Levels by EMF Coincident with Chondrogenesis: Implications for Skeletal Repair and Tissue Engineering. **J. Orthop. Res.**, New York, v. 20, no. 2, p. 233-240, Mar. 2002.

BODAMYALI, T. et al. Pulsed Electromagnetic Fields Simultaneously Induce Osteogenesis and Upregulate Transcription. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, San Diego, v. 250, no. 2, p. 458-461, Sept. 1998.

BOURNE, G.H. **The Biochemistry and Physiology of Bone**. New York: Academic Press, 1956. 875 p.

BURKITT, H.G.; YOUNG, B.; HEATH, J.W. **Wheater Histologia Funcional**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 409 p.

CHIAVERINI, V. Aços Resistentes à Corrosão. In: _____. **Aços e Ferros Fundidos**. 5. ed. ampl. aum. São Paulo: Associação Brasileira de Metais, 1982. Cap. 22, p. 322-357.

CHRISTIAN, C.A. General Principles of Fracture Treatment. In: CANALE, S.T.; DAUGHERTY, K.; JONES, L. (Ed.). **Campbell's Operative Orthopaedics**. 9th ed. St. Louis: Mosby, 1996. V. 3, cap. 46, p. 1993-2041.

CIOMBOR, D.M. et al. Low Frequency EMF Regulates Chondrocyte Differentiation and Expression of Matrix Proteins. **J. Orthop. Res.**, New York, v. 20, no. 1, p. 40-50, Jan. 2002.

FEINBERG, S.E.; STEINBERG, B.; HELMAN, J. I. Healing of Traumatic Injuries. In: FONSECA, R.J.; WALKER, R.V. (Ed.). **Oral and Maxillofacial Trauma**. Philadelphia: Saunders, 1991. V. 1, cap. 2, p. 13-57.

FINI, M. et al. The Effect of Pulsed Electromagnetic Fields on the Osteointegration of Hydroxyapatite Implants in Cancellous Bone: A Morphologic and Microstructural In Vivo Study. **J. Orthop. Res.**, New York, v. 20, no. 4, p. 756-763, July 2002.

¹⁶ De acordo com NBR6023: Informação e Documentação – Referências – Elaboração, de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas, e abreviaturas dos títulos dos periódicos segundo Medline.

FREDERICKS, D. et al. Effect of Pulsed Electromagnetic Field Stimulation on Distraction Osteogenesis in the Rabbit Tibial Leg Lengthening Model. **J. Pediatr. Orthop.**, New York, v. 23, no. 4, p. 478-483, July/Aug 2003.

GRACE, K.L.; REVELL, W.J.; BROOKES, M. The Effects of Pulsed Electromagnetism on Fresh Fracture Healing: Osteochondral Repair in the Rat Femoral Groove. **Orthopedics**, Thorofare, NJ, v. 21, no. 3, p. 297-302, Mar. 1998.

HALLIDAY, D. et al. Eletromagnetismo. In: _____. **Fundamentos de Física**. 3. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1994. V. 3, 334 p.

INOUE, N. et al. Effect of Pulsed Electromagnetic Fields (PEMF) on Late-phase Osteotomy Gap Healing in a Canine Tibial Model. **J. Orthop. Res.**, New York, v. 20, no. 5, p. 1106-1114, Sept. 2002.

ISHISAKA, R. et al. Effects of a magnetic field on the various functions of subcellular organelles and cells. **Pathophysiology**, Amsterdam, v. 7, no. 2, p. 149-152, July 2000.

KITTEL, C. Diamagnetism and Paramagnetism. In: _____. **Introduction to Solid State Physics**. 5. ed. John Wiley: New York, 1976. Cap. 14, p. 433-456.

LEMONS, J.; NATIELLA, J. Biomaterials, Biocompatibility, and Peri-Implant Considerations. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 30, no. 1, p. 3-23, Jan. 1986.

MATSUMOTO, H. et al. Pulsed Electromagnetic Fields Promote Bone Formation Around Dental Implants Inserted into the Femur of Rabbits. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 11, no. 4, p. 354-360, Aug. 2000.

NAGAI, N. et al. Age and Magnetic Effects on Ectopic Bone Formation Induced by Purified Bone Morphogenetic Protein. **Pathophysiology**, Amsterdam, v. 7, no. 2, p. 107-114, July 2000.

OISHI, M.; ONESTI, S.T. Electrical Bone Graft Stimulation for Spinal Fusion: A Review. **Neurosurgery**, Hagerstown, MD, v. 47, no. 5, p. 1041-1056, Nov. 2000.

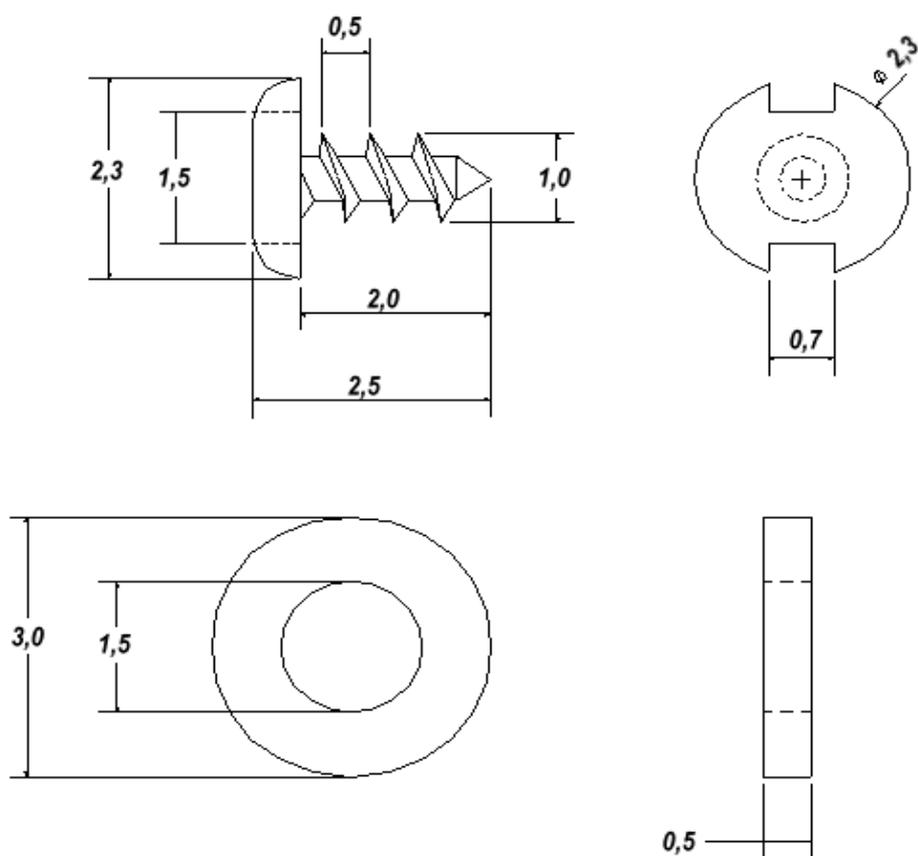
SYFTESTAD, G.T.; URIST, M.R. Bone Aging. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, no. 162, p. 288-297, Jan./Feb. 1982.

URIST, M.R. Bone: Formation by Autoinduction. **Science**, Washington, v. 150, no. 3698, p. 893-899, Nov. 1965.

URIST, M.R.; DELANDE, R.J.; FINERMAN, G.A.M. Bone Cell Differentiation and Growth Factors. **Science**, Washington, v. 220, no. 4598, p. 680-686, May 1983.

VEECK, E.B. **Análise do Comportamento do Osso e Medula Hemopoética em Relação a Implantes de Titânio e Hidroxiapatita**: Estudo Experimental em Fêmur de Rato. 1994. 126 f. **Tese** (Doutorado em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

WHITSON, S.W. Osso. In: TEN CATE, A. R. **Histologia Bucal**: Desenvolvimento, Estrutura e Função. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. Cap. 7, p. 101-122.



PROMM Indústria de Materiais Cirúrgicos Ltda

Medidas em milímetros
Arruela: aço inoxidável ASI 420
Parafuso: Titânio puro