

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM CLÍNICAS ODONTOLÓGICAS
CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCO-MAXILO-FACIAIS

NARDIER BORGES DUTRA

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA APLICAÇÃO
DE UM CAMPO MAGNÉTICO EM ENXERTOS
ÓSSEOS AUTÓGENOS EM RATOS**

PORTO ALEGRE
2005

NARDIER BORGES DUTRA

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA APLICAÇÃO DE UM
CAMPO MAGNÉTICO EM ENXERTOS ÓSSEOS
AUTÓGENOS EM RATOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos obrigatórios para obtenção do título de Mestre em Clínicas Odontológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Área de Concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais.

Profa. Dra. Deise Ponzoni
Orientadora

Profa. Dra. Edela Puricelli
Co-orientadora

PORTO ALEGRE
2005

À Prof(a). Dr(a). Edela Puricelli:

“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.”

Fernando Pessoa

Pela oportunidade da realização de um sonho;

Pela idealização dessa dissertação;

Pela paixão à Odontologia;

Pela arte da Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais;

Por suas sábias palavras.

À senhora, dedico este trabalho.

À Prof(a). Dra. Deise Ponzoni

Pela orientação nesta dissertação;

Pela simplicidade e profissionalismo;

Pela amizade e dedicação;

Por seus ensinamentos.

Muito Obrigado!

“Tenho em mim todos os sonhos do mundo.”
Fernando Pessoa

Aos meus pais, Vicente e Aurelia, pelo carinho, dedicação e incentivo à formação de seus filhos;

Aos avós, Francisco (*in memorian*) e Maria, e à tia Lourdes (*in memorian*), pelo amparo em todas as etapas de minha vida;

Às manas, Katia e Elisângela, pela união e amizade;

Aos queridos sobrinhos, João Francisco e Pedro Augusto, por sua alegria;

À Patrícia Rendwanski Tonelotto, pelo amor, companheirismo e apoio na realização desse grande sonho;

A Antônio, Ana e Cassio Tonelotto, pela acolhida, convívio e incentivo. À Simone Rendwanski Tonelotto, pela amizade e auxílio na realização das etapas finais deste trabalho;

Aos meus amigos de Farroupilha, por serem exemplos de amizade mesmo à distância;

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e à Faculdade de Odontologia, pela qualidade no ensino;

À Capes, pelo suporte para a realização do mestrado;

Ao Prof. João Batista Burzlaff, pela atenção, disponibilidade e convívio;

Ao Prof. João Julio da Cunha Filho, pelo incentivo à formação profissional;

À Tatiana Wahl Hennigen, Mauro Trein Leite e Adriana Corsetti, meus amigos e colegas do mestrado em CTBMF, pelo trabalho em equipe e pelos momentos de convívio;

Ao Instituto Puricelli e Associados, nas pessoas de Carlos Cardoso, Carlos Baraldi, Mari Estela Kenner, Marcel Fasolo, Gustavo Martins e Isabel Pucci, pelo constante incentivo;

À Lucienne Miranda Ulbrich, pela disposição em auxiliar na dissertação;

Aos funcionários: Seu Lopes, Dona Vera, Marli, Eduardo, Eliane e Lurdes do setor de CTBMF da Faculdade de Odontologia da UFRGS, pela humildade, generosidade e dedicação.

À Jéssica e Henrique, ex-alunos do programa de capacitação em CTBMF, pelo auxílio na parte experimental desse trabalho;

Ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre e seus funcionários, em especial ao Bloco Cirúrgico, Zona 18 e 9º Sul, pela dedicação e auxílio na prestação de serviços;

Ao Biotério da Universidade Federal do Rio Grande do Sul representado pelo Sr. Carmona e Sra. Geni, pelo cuidado com os animais do experimento;

Ao Laboratório de Magnetismo da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, aos Prof. João Schmidt e Paulo Pureur, ao Sr. Ângelo, pela disponibilidade e ensinamentos em física.

Meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Proposição: avaliar a qualidade do reparo de cavidades cirúrgicas com enxertos ósseos sob efeito de um campo magnético permanente, sepultado, *in vivo*. **Materiais e Método:** foi utilizada uma estrutura metálica constituída de duas arruelas de aço inoxidável, fixadas, isoladamente, à estrutura óssea por parafusos de titânio comercialmente puro. Neste estudo experimental, com grupos teste e controle, foram selecionados 30 *Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Wistar*, divididos em seis grupos: três testes e três controles. Os animais foram submetidos à cirurgia acessando-se o fêmur direito para criação de uma cavidade cirúrgica e fixação de um par de dispositivos metálicos, tangenciando as margens dessa cavidade. Em seguida, o osso removido da cavidade cirúrgica foi reimplantado de modo a simular um enxerto ósseo autógeno. Nos grupos-teste, as arruelas encontravam-se imantadas, evento que diferiu nos grupos-controle. Os animais foram mortos aos 15, 45 e 60 dias pós-operatórios. As peças foram submetidas à avaliação histológica. **Resultados:** comparando os grupos-teste e controle durante os períodos experimentais de 15, 45 e 60 dias, houve favorecimento no processo de integração do enxerto ósseo. As formações ósseas, nas proximidades das regiões das arruelas e dos enxertos ósseos autógenos, nos grupos teste aos 45 e 60 dias pós-operatórios, demonstram a ação permanente do campo magnético. **Conclusões:** a liga de aço inoxidável imantada, sepultada, *in vivo*, foi capaz de favorecer o processo de integração do enxerto ósseo. Em todos os tempos experimentais, foi predominante o estímulo da neoformação óssea, no grupo teste quando comparado ao controle.

Palavras-chave: 1. Enxertos ósseos 2. Campo magnético 3. Reparo ósseo 4. Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais

ABSTRACT

Purpose: to study the quality of surgical cavities healing with bone grafts under the effect of a permanent magnetic field, buried, *in vivo*. **Materials and Method:** a metallic model was used made up of two stainless steel washers, each one attached to the bone structure by means of a commercially pure titanium screw. Thirty rats – *Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Wistar* – were selected, divided into six groups, from which three were tested and three were controlled. The animals were submitted to surgery reaching the right femur to create a bone cavity and to fix a pair of metallic devices on it, lightly touching a surgically created bone cavity. In the next step, the bone removed from the cavity was reimplanted simulating an autogenous bone graft. In the test groups, the washers were magnetized which differed from the control groups. The animals were sacrificed after fifteen, forty-five and sixty days following the operation. The pieces were submitted to histological evaluation. **Results:** comparing test and control groups, during the experimental periods, the test groups showed a better integration of the bone graft. The bone neoformations around the washers regions and of the autogenous bone grafts after forty-five and sixty days in the test groups showed a permanent magnetic stimulation effect. **Conclusions:** the magnetic stainless steel alloy, buried, *in vivo*, was able to alter the integration of the bone graft. In all the experimental periods the bone neoformation stimulus was predominant in the test groups, when compared to the control groups.

Key words: 1. Bone grafts 2. Magnetic field 3. Bone healing 4. Oral and Maxillofacial Surgery.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Parafusos de titânio comercialmente puro e arruelas de aço inoxidável	38
Figura 2 - Protótipo montado para a medição da intensidade do campo magnético. Observa-se sensor tipo Hall posicionado no espaço entre as arruelas	40
Figura 3 - Aspecto do fêmur direito do rato após divulsão tecidual	44
Figura 4 - Posicionamento da placa-guia no fêmur direito do rato	44
Figura 5 - Aspecto do fêmur direito do rato após a realização das perfurações	45
Figura 6 - Posicionamento dos parafusos de titânio e das arruelas de aço inoxidável	47
Figura 7 - Posicionamento dos parafusos de titânio, das arruelas de aço inoxidável. Observa-se a presença do enxerto no espaço entre as arruelas	47
Figura 8 - Grupo Controle 15 dias: cavidade cirúrgica (CC) apresentando neoformação óssea e enxerto ósseo (EO) em posição vertical. Limites da cavidade cirúrgica bem demarcados na cortical óssea (HE 40x)	51
Figura 9 - Grupo Controle 15 dias: estrutura óssea proliferativa conectando a margem óssea cortical com o enxerto ósseo (EO) (HE 400x)	51
Figura 10 - Grupo Controle 15 dias: nota-se nas corticais a delimitação da loja (LP) provocada pela intrusão do parafuso (HE 40x)	52
Figura 11 - Grupo Controle 15 dias: neoformação óssea caracterizada por estrutura esponjosa ou trabecular, com tecido medular hematopoiético, junto à anatomia criada pela rosca do parafuso (HE 400x)	52

- Figura 12** - Grupo Teste 15 dias: cavidade cirúrgica (CC) com formação óssea esponjosa contornando parcialmente o enxerto ósseo (EO) autógeno. Este apresenta-se na posição vertical, mostrando a estabilidade do mesmo (HE 40x) 54
- Figura 13** - Grupo Teste 15 dias: ponte óssea (PO) conectando o enxerto ósseo (EO) com a área de cicatrização. Observa-se grande quantidade celular osteoblástica evoluindo do osso fixo para o enxerto. Registra-se, ainda, contorno lamelar em continuidade com estrutura óssea neoformada no enxerto (HE 400x) 54
- Figura 14** - Grupo Teste 15 dias: loja do parafuso (LP) bem delimitada e contornada por tecido ósseo neoformado. No tecido medular, pode-se observar a anatomia da superfície rosqueada do parafuso, levemente determinada pela presença de pequenas formações corticais (HE40x) 55
- Figura 15** - Grupo Controle 45 dias: composição vertical de fotos da seqüência da cavidade cirúrgica (CC) e as lojas dos parafusos (LP). Observam-se delimitadas as lojas receptoras dos parafusos e a cavidade cirúrgica, interposta a ambos. Destacada presença de vasos sanguíneos em bifurcação evoluindo para a área de cicatrização, com invasão do enxerto ósseo (EO). Nota-se um nivelamento na continuidade da cortical com leve extrusão na área enxertada (HE 40x) 57
- Figura 16** - Grupo Teste 45 dias: composição vertical de fotos da seqüência da cavidade cirúrgica (CC) e as lojas dos parafusos (LP). Observa-se enxerto ósseo (EO) autógeno contribuindo para o vedamento cortical da ferida cirúrgica. Este apresenta marcado delineamento vertical, comprovando sua posição original. Crescimento exofídico de estrutura óssea sobreposta à cavidade cirúrgica, delimitando o espaço entre as arruelas imantadas (AR) (HE 40x) 59

Figura 17 - Grupo Teste 45 dias: imagem reflete possível corte marginal da peça. Verifica-se grande presença de osso cortical (OC) entremeado, pobremente, por espaços medulares. O crescimento ósseo centrífugo atraído pelo campo magnético, apresenta a estrutura cortical bem delimitada, marcando perfeitamente os limites do espaço magnetizado. Observa-se, ainda, o trajeto vascular partindo da estrutura óssea femural em direção à área neoformada. Pode-se observar o perióstio envolvendo hermeticamente a peça. Nas lojas que correspondem à presença das arruelas, é possível identificar delgada cápsula de tecido conjuntivo fibroso (HE 40x) 60

Figura 18 - Grupo Controle 60 dias: composição vertical de fotos da seqüência da cavidade cirúrgica (CC) e as lojas dos parafusos (LP). A continuidade da estrutura vertical indica a área central cicatrizada entre os espaços correspondentes às lojas dos parafusos. Nota-se atividade osteoclástica, a partir da medula, reorganizando o conduto medular (HE 40x) 62

Figura 19 - Grupo Teste 60 dias: composição vertical de fotos da seqüência da cavidade cirúrgica (CC) e as lojas dos parafusos (LP). Observa-se maturidade medular nas diferentes áreas com atividade osteoclástica, na cortical original sepultada no novo espaço ósseo (HE 40x) 64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores dos campos magnéticos de dez amostras de fêmures de rato.....	42
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AISI: American Iron and Steel Institute

BMP: proteína morfogenética óssea

cm: centímetro

G: gauss

HE: hematoxilina e eosina

kg: quilograma

mA: miliamper

mg: miligrama

ml: mililitro

mm: milímetro

mT: miliTesla

mV: milivolt

Oe: oersted

µm: micrometro

T: tesla

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1. Tecido Ósseo.....	19
2.2. Reparo Ósseo.....	20
2.3. Enxertos Ósseos.....	24
2.4. Magnetismo e Reparo Ósseo.....	26
2.5. Propriedades Físicas do Aço-Carbono.....	31
2.6. Propriedades Magnéticas da Matéria.....	33
3. PROPOSIÇÃO	35
4. MATERIAIS E MÉTODO.....	36
4.1. Modelo de Estudo.....	36
4.2. Local.....	36
4.3. Amostra.....	36
4.4. Dispositivos Metálicos.....	37
4.5. Aferição do Campo Magnético.....	39
4.6. Delineamento Experimental.....	42
4.7. Estudo Histológico.....	48
4.8. Considerações Éticas.....	49
5. RESULTADOS.	50
5.1 Grupo Controle 15 dias	50
5.2 Grupo Teste 15 dias.....	53
5.3 Grupo Controle 45 dias.....	56
5.4 Grupo Teste 45 dias.....	58
5.5 Grupo Controle 60 dias.....	61
5.6 Grupo Teste 60 dias.....	63
6. DISCUSSÃO.....	65
7. CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS.....	71
ANEXOS	76

ANEXOS A - Projeto gráfico das arruelas e parafusos.....	76
ANEXOS B - Projeto gráfico da placa-guia.....	77
ANEXOS C - Código Estadual de Proteção aos animais.....	78
ANEXOS D - Resolução Normativa 04/97 da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA.....	80
ANEXOS E - Parecer do comitê de ética em pesquisa da UFRGS	82

1 INTRODUÇÃO

Os enxertos ósseos são amplamente utilizados em procedimentos reconstrutivos buco-maxilo-faciais. Atuando em conjunto com os enxertos ósseos, destacam-se ainda, os biomateriais, os fatores de crescimento e os mecanismos de estimulação endógena dos tecidos.

A aplicação de campos eletromagnéticos é um dos mecanismos pesquisados para promover a estimulação endógena dos tecidos. Atualmente, os campos eletromagnéticos estão distribuídos no meio ambiente e têm seus efeitos aumentados, devido ao progressivo desenvolvimento de equipamentos elétricos. Os efeitos sobre os sistemas biológicos têm sido intensamente investigados no nível tecidual, celular e molecular (YAN; TOMIDA; IKADA, 1998).

Os campos eletromagnéticos vêm sendo aplicados em diversas situações: no reparo de fraturas ósseas com pseudoartrose, integração de enxertos ósseos, osteoporose e osteonecrose (AARON; CIOMBOR, 1993). Há evidências que campos eletromagnéticos favorecem o reparo de fraturas ósseas com retardo de cicatrização ou pseudoartroses (LINOVITZ et al, 2002).

Entretanto, poucos trabalhos avaliaram o reparo ósseo associado aos enxertos ósseos autógenos após a aplicação de campos gerados por substâncias magnéticas. As implicações clínicas da interferência no processo de integração dos enxertos ósseos através da estimulação do leito receptor e do enxerto ósseo, através do emprego de campos magnéticos podem representar um grande avanço na área da Saúde, especialmente na Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais, na Implantodontia e na Ortopedia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TECIDO ÓSSEO

Ten Cate (2001) descreveu o osso como um tecido conjuntivo especializado mineralizado, composto por 33% de matriz orgânica e 67% de matriz mineral. A parte orgânica é composta por 28% de colágeno tipo I e 5% por proteínas não colagenosas, tais como osteonectina, osteocalcina, proteína morfogenética óssea (BMP), proteoglicanas ósseas e sialoproteína óssea. A matriz é permeada por cristais de hidroxiapatita - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - que perfazem os 67% remanescentes. Três tipos celulares são reconhecidos: os osteoblastos, responsáveis pela formação de matriz óssea; os osteócitos, os quais juntamente com osteoblastos inativos, mantêm essa matriz; e os osteoclastos, que reabsorvem a mesma.

Uma vez iniciada a produção da matriz, originam-se vesículas, denominadas de vesículas da matriz, as quais possuem em sua membrana lipídios que atraem o cálcio e a enzima fosfatase alcalina tornando possível a formação dos cristais de hidroxiapatita. As vesículas rompem-se e os cristais se arranjam ao longo das fibras colágenas, envoltos por uma camada de água denominada capa de hidratação, que facilita a troca com o líquido intersticial (TEN CATE, 2001).

Ross, Reith, Romrell (1993) citaram ainda, a presença de células de revestimento ósseo, também conhecidas como células osteoprogenitoras, que se localizam nas superfícies ósseas internas. Essas células permanecem em estado latente, quando estimuladas, diferenciam-se e produzem tecido ósseo.

Ross, Reith, Romrell (1993) classificaram o tecido ósseo em compacto (ou denso) e esponjoso (ou trabeculado). A superfície do osso compacto é condensada, enquanto que a do osso esponjoso tem a aparência porosa. No osso esponjoso, existem trabéculas de tecido mineralizado que podem conter medula óssea em seu interior.

A superfície óssea externa é revestida por uma lâmina fibrosa densa, o periósteo, no qual estão inseridos músculos, tendões e ligamentos. Na superfície do tecido ósseo em desenvolvimento, são encontradas células osteoblásticas dispostas em duas ou três camadas, protegidas por uma delgada camada de tecido conjuntivo frouxo imaturo. O periósteo é rico em vasos sanguíneos e desempenha um importante papel no reparo ósseo. Sua ausência pode levar a falha ou retardo no processo cicatricial (BURKITT; YOUNG; HEATH, 1994).

O tecido ósseo apresenta uma extraordinária capacidade de crescimento, remodelação interna contínua e regeneração durante toda a vida pós-fetal. Não é possível precisar se essa capacidade se deve à osteocondução, pela proliferação de células osteoprogenitoras pré-diferenciadas, ou se através da estimulação da diferenciação de células mesenquimais. Acredita-se que o reparo ocorra pela combinação desses dois processos (URIST; DELANDE; FINERMAN, 1983).

2.2 REPARO ÓSSEO

O reparo tecidual ocorre através da associação de dois processos distintos: a regeneração e a cicatrização. A regeneração é o processo de reparo que leva à substituição do tecido lesado por células parenquimais do mesmo tipo daquelas perdidas, restituindo a estrutura e a fisiologia do tecido, podendo não deixar qualquer seqüela da lesão inicial. A cicatrização representa a substituição do tecido lesado por um tecido conjuntivo de natureza

fibroblástica. Este tipo de reparo pode resolver o problema de perda de substância e restaurar a continuidade do tecido, porém as células parenquimais altamente especializadas estarão irremediavelmente perdidas, sendo substituídas por células morfológicamente diferentes. A predominância durante o reparo de um ou outro evento depende da capacidade proliferativa das células do tecido afetado, da extensão da lesão e da capacidade de remodelação do estroma conjuntivo que preenche a lesão (SIQUEIRA JÚNIOR; DANTAS, 2000).

Segundo Hupp (1996), os eventos que ocorrem durante a cicatrização normal de feridas de tecidos moles também ocorrem durante a reparação de um osso lesado. Esses eventos têm sido divididos em três estágios básicos: inflamatório, fibroblástico e remodelador. O estágio inflamatório inicia-se no momento em que ocorre a lesão tecidual e compreende duas fases, a vascular e a celular. A fase vascular caracteriza-se pela vasoconstrição inicial dos vasos lesados, o que reduz o fluxo sanguíneo promovendo coagulação. Após, substâncias como histamina e prostaglandinas, sintetizadas pelas células brancas do sangue, promovem vasodilatação e abrem pequenas fenestrações entre as células endoepiteliais, o que permite extravazamento de plasma. A fibrina proveniente do exsudato plasmático deposita-se sobre o agregado plaquetário permitindo o bloqueio da perda de sangue pelo vaso.

A ativação plaquetária e a formação do coágulo de fibrina determinam o início da fase celular com a invasão do sítio da lesão por mastócitos, células endoteliais, neutrófilos, linfócitos, macrófagos e fibroblastos. Os neutrófilos e macrófagos são as primeiras células a chegar ao sítio da lesão. O papel principal destas células é prevenir a infecção do tecido agredido, bem como eliminar detritos da matriz extracelular e corpos estranhos. As citocinas produzidas por macrófagos e linfócitos provocam o influxo de neutrófilos, bem como a

migração e a proliferação de células endoteliais, fibroblastos e células indiferenciadas que se depositarão no sítio da lesão (SIQUEIRA JÚNIOR; DANTAS, 2000).

No estágio fibroblástico, os fios de fibrina derivados da coagulação sanguínea entrecruzam-se nas feridas formando uma rede sobre a qual os fibroblastos podem iniciar a precipitação de substância fundamental e tropocolágeno. Os fibroblastos induzem células indiferenciadas a iniciarem a produção de tropocolágeno e secretam fibronectina que ajuda na estabilização da fibrina e age como fator quimiotático para fibroblastos. O tropocolágeno depositado pelos fibroblastos sofre entrelaçamento para produzir o colágeno que é produzido, inicialmente, de forma excessiva e aleatória (HUPP, 1996).

Na fase de remodelação, a vascularização decresce e verificamos uma reciclagem na malha de colágeno formada na fase anterior. Durante a remodelação, há mudanças profundas na forma, volume e resistência do tecido de reparo. A remodelação realiza-se com um processo de degradação de matriz intracelular e extracelular, sendo esta última mediada pela ação de metaloproteinases da matriz (SIQUEIRA JUNIOR; DANTAS, 2000).

Em contraste com os tecidos moles, osteoblastos e osteoclastos também estão envolvidos para reconstituir e remodelar o tecido ósseo lesado. Os osteoclastos reabsorvem osso necrótico e promovem remodelação. Os osteoblastos depositam o osteóide que durante o processo de cicatrização chega à calcificação (HUPP, 1996).

Burkitt, Young, Heath (1994) sugeriram o reparo da fratura como modelo de reparo ósseo. Neste modelo, a neoformação óssea é tanto intramembranosa quanto endocondral. Segundo os autores, no local da fratura, forma-se um coágulo sanguíneo que é posteriormente substituído por um tecido colágeno altamente vascular (tecido de granulação). Este tecido torna-se progressivamente mais fibroso. Células mesenquimais diferenciam-se em condroblastos e substituem o tecido de granulação fibroso por cartilagem hialina,

formando um calo provisório que é flexível. Este calo é fortalecido pela deposição de sais de cálcio dentro da matriz cartilaginosa. Células osteoprogenitoras do endóstio e perióstio são ativadas e depositam osso entrelaçado ao redor e dentro do calo provisório que é, então, transformado em calo ósseo. O osso entrelaçado formador do calo ósseo será lentamente remodelado para formar osso lamelar maduro.

O perióstio é uma estrutura importante na formação do calo e cicatrização final da fratura, razão pela qual sua preservação é fundamental. A camada externa ou fibrosa do perióstio é relativamente inerte e é destacada da superfície do osso pela proliferação das células na camada osteogênica ou interna do perióstio. Estas células adquirem características de osteoblastos e começam a neoformar pequena quantidade de osso inicialmente, distante da fratura. A proliferação destas células osteogênicas forma um calo à volta ou sobre a superfície da fratura (SHAFER; HINE; LEVY, 1987).

Os osteoblastos derivam de células indiferenciadas presentes na parede de capilares (pericitos), das células osteogênicas presentes na camada interna do perióstio e do endóstio. Os osteoclastos, por sua vez, são formados pela fusão de monócitos ou de seus precursores hematopoiéticos. A origem mesenquimal de tais células faz com que, por intermédio da ativação da camada osteogênica do perióstio, endóstio, medula óssea e ainda da invasão do sítio lesado por capilares, tenhamos uma disponibilidade constante de células capazes de responder pela regeneração e remodelação do tecido ósseo. De fato, após lesão óssea e pela ação das proteínas morfogenéticas ósseas, teremos a diferenciação de osteoblastos que vão depositar matriz óssea (SIQUEIRA JÚNIOR; DANTAS, 2000).

Dois fatores importantes para uma adequada cicatrização óssea são a vascularização e a imobilização. O tecido conectivo fibroso que se forma no local da fratura óssea necessita de alto grau de vascularização para a posterior ossificação. Quando há um comprometimento

significativo desse suprimento, tensões ou torque exercidos sobre o local da fratura em recuperação comprometem a vascularização da região e favorecem a formação de cartilagem ou tecido fibroso na região (HUPP, 1996).

2.3 ENXERTOS ÓSSEOS

Enxerto ósseo é a denominação usada para o tecido ósseo transplantado de uma área doadora para outra receptora. Quando pertence ao mesmo indivíduo, denomina-se enxerto autógeno, autólogo ou autoblástico. Assim, é o único enxerto que fornece células ósseas vivas, imunocompatíveis e indispensáveis para a osteogênese. O enxerto ósseo autógeno pode ser livre ou pedunculado; simples ou composto. Quando livre, é usado na forma de partículas, bloco ou segmento em posição sobre, inter ou intra-óssea (PURICELLI, 2000).

Em suas várias formas e aplicações, os enxertos ósseos representam um dos mais importantes métodos para reconstrução do sistema muscular-esquelético e constitui-se na técnica mais empregada em procedimentos ortopédicos. Enxertos ósseos são usados como coadjuvantes no reparo de fraturas e, reposição de defeitos esqueléticos após perda óssea por traumatismo ou por cirurgias ablativas para remoção de tumores (FRIEDLAENDER, 1987).

Na Odontologia, o advento das reabilitações implanto-suportadas trouxe a preocupação com altura, espessura e qualidade do tecido ósseo alveolar, desafiando as especialidades cirúrgicas a desenvolver soluções para o ganho real de tecido ósseo (PURICELLI; BARALDI; CARDOSO, 2004). Hoje, diversas técnicas estão disponíveis para a reconstrução alveolar utilizando enxertos ósseos e implantes osteointegrados (BOYNE et

al, 1985; JENSEN; SINDET-PEDERSEN, 1991; EL-ASKARY; PIPCO, 2000; D'ADDONA; NOWZARI, 2001).

Apesar do amplo uso dos enxertos ósseos, os eventos fisiológicos e biológicos que são cruciais no processo de incorporação e, os mecanismos que controlam estas ações, estão apenas superficialmente entendidos (FRIEDLAENDER, 1987).

Os eventos iniciais na incorporação de enxertos não-vascularizados, para enxertos ósseos autógenos corticais e particulados são idênticos. Apenas algumas células, próximas à superfície trabecular ou cortical, permanecem vivas por difusão. A necrose de uma parte do enxerto estimula uma resposta inflamatória que resulta na formação de um estroma fibrovascular. Esse tecido é responsável pela condução de células sanguíneas e células precursoras osteogênicas ao enxerto. As contribuições do enxerto para sua incorporação se constituem no pequeno, mas importante número de células sobreviventes através, da difusão e, através de suas capacidades osteocondutora e osteoindutora (FRIEDLAENDER, 1987).

A osteocondução refere-se à capacidade do enxerto de prover um leito no qual o osso neoformado seja depositado atuando nesse caso de modo passivo. A capacidade osteoindutora do enxerto ocorre quando fatores derivados do enxerto estimulam ativamente células osteoprogenitoras a tornarem-se osteoblastos. A força de estimulação pode residir, em parte, nas células do enxerto, mas na maior parte provém de sua matriz na forma de proteínas ósseas morfogenéticas (SEYEDIN, 1989).

Para atingir bons resultados, alguns princípios cirúrgicos devem ser seguidos. O enxerto deve ser adaptado a uma base receptora sólida, com excelente suprimento sanguíneo e garantida estabilidade mecânica. As condições dos tecidos moles circundantes ao leito receptor devem apresentar e manter uma efetiva vascularização, com deslizamento e extensão tecidual compatíveis com a área óssea a ser reconstruída (PURICELLI, 2000).

Kusiak, Zins, Whitaker (1985) demonstraram experimentalmente, que os enxertos ósseos membranosos apresentam mais rápida revascularização, quando comparados aos de origem endocondral.

Em relação à estabilidade mecânica dos enxertos ósseos, Lin et al (1990) realizaram enxertos ósseos endocondrais e membranosos, em áreas de baixa e alta movimentação, utilizando fixação rígida e não-rígida, em coelhos. Após análise macroscópica, histológica e do volume cinético do enxerto através da administração de marcadores de flúor-cromo, concluíram que em áreas de grande movimentação, a fixação rígida melhora a sobrevivência dos enxertos enquanto que, em áreas de baixa movimentação, não se observaram diferenças significativas no volume de retenção dos enxertos em função da fixação rígida. Histologicamente, nenhuma diferença foi observada entre os métodos de fixação utilizados, sendo que se observaram semelhantes padrões de revascularização. Na análise cinética do volume do enxerto, a fixação rígida parece afetar as fases imediatas pós-enxerto. No presente estudo enxertos ósseos membranosos foram superiores aos enxertos endocondrais em todas as situações.

2.4 MAGNETISMO E REPARO ÓSSEO

Os principais campos magnéticos estudados são os originados por ímãs e os eletromagnéticos, os quais são gerados por corrente elétrica (HALLIDAY et al, 1994).

Os campos eletromagnéticos podem ser aplicados através de aparelhagem específica, formada por espiras acopladas e conectadas a um gerador de pulsos. Quando o gerador é ligado, existe circulação de corrente elétrica estabelecendo um campo magnético entre as espiras. Esse tipo de campo foi utilizado, em estudos clínicos em humanos, no tratamento de

fraturas apresentando resultados favoráveis (BASSET; MITCHELL; GASTON, 1981; SHARRARD, 1990; SCOTT; KING, 1994).

Os campos magnéticos obtidos através de magnetos - imãs - podem ser posicionados interna ou externamente no organismo. Bruce, Howlett, Huckstep (1987) avaliaram a cicatrização em fraturas de rádio induzidas em coelhos sob efeito de um campo magnético com intensidades em torno de 220 a 260 gauss (G), produzido por magnetos de samário-cobalto, posicionados externamente ao animal. As avaliações microscópicas e mecânicas foram realizadas quatro semanas após as cirurgias. Os autores observaram que foram necessárias maiores quantidades de força para fraturar os rádios expostos ao campo magnético, em relação ao lado controle. No entanto, não foram encontradas diferenças histológicas, entre os grupos teste e controle.

No tecido ósseo, os campos eletromagnéticos aumentam a deposição de cálcio favorecendo a vascularização e o início da osteogênese (BASSET, 1982; NORTON; HANLEY; TURKEWICZ, 1984).

Friedlaender (1987) afirmou que a aplicação de estimulação eletromagnética pode influenciar as células do leito receptor do enxerto. Contudo, o autor supõe que não ocorram interferências sobre os enxertos ósseos não-vascularizados.

Bodamyali (1998) observou indução de BMP-2 e BMP-4 em cultura de osteoblastos da calvária de ratos após exposição diária a campos eletromagnéticos.

Alguns estudos apresentaram resultados contraditórios na utilização de campos magnéticos, como o trabalho realizado por Linder-Aronson, Lindskog (1991) que demonstraram reabsorção óssea em tíbias de ratos nas proximidades de magnetos de samário-cobalto.

Takano-Yamamoto, Kawakami, Sakuda (1992) observaram o efeito de um campo eletromagnético na formação óssea induzida por matriz óssea desmineralizada em um defeito ósseo produzido na pré-maxila de ratos. Verificou-se que os grupos que apresentaram enxerto de matriz óssea desmineralizada no defeito ósseo, associados à aplicação de campo eletromagnético, produziram maior quantidade de osso com quase completa formação de ponte óssea, em relação aos grupos tratados somente com matriz óssea desmineralizada no trigésimo quinto dia pós-operatório.

Darandelier, Darandelier, Sinclair (1997) estudaram os efeitos de campos magnéticos e eletromagnéticos na cicatrização óssea em osteotomias realizadas na região goníaca em porcos - *Guinea hartley*. Os autores observaram que, ambos os campos magnéticos, parecem acelerar o reparo ósseo em comparação com o grupo controle. Ao comparar os grupos magnetizados, parece haver uma neoformação óssea mais avançada e consistente no grupo onde havia o posicionamento externo de magnetos de neodímio.

Matsumoto et al (2000) estudaram a relação do tecido ósseo formado ao redor de implantes dentários, com superfície rugosa, inseridos em fêmures de coelhos. Esses implantes foram expostos a campos eletromagnéticos de intensidades, tempos de aplicação diária e durações semanais diferentes. A proporção de contato ósseo e a de área óssea nos implantes dos grupos tratados com campos de 0,2 miliTesla (mT) e 0,3mT foi significativamente maior do que o valor correspondente aos grupos tratados com 0,8mT. Nenhuma diferença significativa foi observada na proporção de contato ósseo e área óssea entre os grupos tratados durante quatro e oito horas diárias de aplicação. Embora uma maior quantidade de osso tenha sido formada ao redor de implantes dos grupos expostos a duas semanas de aplicação de campo eletromagnético, em relação a grupos com uma semana de aplicação, nenhuma diferença foi significativa.

O uso de estimulação através de campos eletromagnéticos também foi avaliada na cicatrização e incorporação de enxertos ósseos corticais segmentados. As cirurgias foram realizadas em fíbulas de cães. Quatro centímetros (cm) de osso foram removidos e, após invertidos, voltaram ao próprio leito doador. O tempo de união enxerto-leito receptor foi observado radiograficamente a cada duas semanas. No presente estudo, o uso da estimulação eletromagnética não evidenciou resultados satisfatórios nos testes biomecânicos, nas análises histológicas e nas avaliações radiográficas, nos grupos de dois ou seis meses (MILLER et al, 1984).

Linovitz et al (2002) avaliaram os efeitos de campos eletromagnéticos no reparo ósseo de pacientes submetidos à cirurgia de coluna lombar. Os autores demonstraram que a população feminina respondeu positivamente ao tratamento, enquanto que a população masculina não apresentou diferenças estatisticamente significantes.

Darendeliev, Sinclair, Kusy (1995) estudaram os efeitos de campos magnéticos, produzidos por magnetos de samário-cobalto, e campos eletromagnéticos na movimentação dentária, no metabolismo e fisiologia óssea em porcos - *Guinea hartley*. Observou-se que, ambos os campos magnéticos apresentaram sucesso na promoção de aumento da movimentação dentária em relação aos grupos controle não-magnetizados. Os grupos estimulados por campos magnéticos evidenciaram maior quantidade de osso neoformado e organização na área da movimentação ortodôntica.

Camilleri, McDonald (1993) estudaram os efeitos de um campo magnético produzido por magneto de neodímio-ferro-boro na sutura sagital de ratos. Os autores não observaram nenhum efeito significativo no crescimento ósseo durante o período do estudo - dez dias. Verificou-se que a distribuição de timidina foi inibida significativamente, fato que poderia ser explicado por uma possível inibição da divisão celular.

Kotoni et al (2002) pesquisaram a influência de um campo magnético de 8 tesla (T), produzido por magnetos de boro, como estímulo para formação óssea numa orientação definida utilizando modelos *in vitro* e *in vivo*. Concluíram que, em ambos os modelos de estudo, campos magnéticos de grande intensidade têm a capacidade de estimular a formação óssea e regular sua orientação.

Fredericks et al (2003) utilizaram campos eletromagnéticos em áreas de distração osteogênica em tíbias de coelhos. As tíbias foram testadas mecanicamente após nove, 16 e 23 dias. No décimo sexto dia pós-distração, o grupo que recebeu a aplicação de campo eletromagnético resultou em força biomecânica semelhante ao osso intacto. O grupo controle, mesmo após o vigésimo terceiro dia, não atingiu essa condição. Observou-se diminuição no tempo de cicatrização nas áreas de osso neoformado nos grupos testes.

Ulbrich (2003) avaliou histologicamente a aplicação de um campo magnético produzido por arruelas de aço inoxidável sepultadas e tangenciando uma cavidade cirurgicamente criada em fêmures de ratos. Ao contrário das arruelas dos grupos-teste, as arruelas dos grupos-controle não possuíram imantação. Os animais foram sacrificados aos 15, 30, 45 e 60 dias pós-operatórios e as peças foram submetidas à avaliação histológica.

Nas observações histológicas da cavidade cirúrgica, em comparação ao grupo controle, destacam-se resultados que mostram formação trabecular exuberante a partir do endóstio, já aos 15 dias pós-operatórios (ULBRICH, 2003).

O grupo teste de 30 dias, além de apresentar uma formação óssea compacta, exprime a resposta de uma tendência de crescimento centrípeto e quando comparado ao grupo controle evidencia um processo de cicatrização acelerado (ULBRICH, 2003).

Apesar de nos grupos teste e controle, aos 45 dias pós-operatórios, o osso neoformado apresentar-se semelhante ao osso circundante, observa-se no grupo teste maior atividade osteoclástica e remodelação óssea (ULBRICH, 2003).

Aos 60 dias, no grupo teste, observou-se marcada configuração externa das arruelas imantadas com osso cortical, com a formação de projeções ósseas para além dos limites externos da cortical anteriormente ostectomizada. Concluiu-se que a aplicação do campo magnético foi capaz de estimular e acelerar a cicatrização óssea (ULBRICH, 2003).

2.5 PROPRIEDADES FÍSICAS DO AÇO-CARBONO

O aço é a liga ferro-carbono contendo geralmente 0,008% até 2,11% de carbono, além de outros elementos residuais provenientes do processo de fabricação. Elementos como níquel, molibdênio, cobre, titânio, alumínio, silício, enxofre e selênio podem ser adicionados com o objetivo de conferir características particulares à liga (CHIAVERINI, 1996).

Os aços com teores de cromo superiores a 12% são de alto interesse por apresentarem resistência à corrosão e propriedades mecânicas favoráveis em altas temperaturas, superiores aos aços comuns. Estas ligas são denominadas de aços inoxidáveis (SILVA; MEI, 1981).

O teor de cromo é responsável pela formação de uma camada superficial de óxidos, muito aderente e uniforme, que protege o metal contra a corrosão. Esta capa de óxido se forma e se mantém na presença de oxigênio. Nesta condição, considera-se que o material está passivado (WASHKO; AGGEN, 1990).

A formação ou não desta camada, sua impermeabilidade e sua taxa de dissolução no meio corrosivo, são determinantes na resistência à corrosão do material (SILVA; MEI, 1981).

O cromo também é usado em várias ligas de ferro, com ou sem carbono, para aumentar a resistência mecânica. Na presença de carbono, o cromo aumenta a efetividade de magnetização (BOZORTH, 1978).

Considerando a microestrutura, o aço inoxidável pode ser considerado como aço inoxidável martensítico, ferrítico ou austenítico. Os dois primeiros são ligas de ferro e cromo, enquanto que o último compreende as ligas de ferro-cromo-níquel (CHIAVERINI, 1996).

Os aços que possuem cromo entre 11,5% e 18,0% tornam-se martensíticos e endurecem pela têmpera. Esses materiais são ferromagnéticos; podem ser facilmente trabalhados, tanto a quente como a frio, sobretudo quando o teor de carbono for baixo; apresentam boa resistência quando expostos ao tempo, à ação da água e de certas substâncias químicas; a têmpera também melhora a resistência à corrosão, pois contribui para evitar a possibilidade da precipitação de hidrocarbonetos (CHIAVERINI, 1996).

O sistema de classificação mais utilizado para os aços inoxidáveis é o proposto pela American Iron and Steel Institute (AISI). O aço AISI 420 é usado em cutelaria, instrumentais cirúrgicos e odontológicos, pás, eixos, peças de bombas, válvulas, turbinas a vapor, máquinas e equipamento em geral, além de moldes para plásticos e para indústria do vidro. Esse material apresenta suas melhores características de resistência à corrosão no estado temperado e com a superfície finamente polida. Resiste bem aos agentes fracamente agressivos como vapores de água sem contaminantes, ácidos e bases fracos, entre outros agentes (SILVA; MEI, 1981).

2.6 PROPRIEDADES MAGNÉTICAS DA MATÉRIA

As primeiras observações sobre a existência do magnetismo são imprecisas. Contudo, há mais de 2000 anos, os gregos observavam que uma pedra, denominada magnetita, atraía pedaços de ferro. No século XII, os magnetos foram utilizados na navegação (TIPLER, 1995).

Os ímãs são substâncias que apresentam características peculiares, denominadas fenômenos magnéticos. Um ímã permanente é constituído de elétrons que giram sobre si mesmos e circulam nos átomos de ferro que constituem o ímã. O primeiro fenômeno magnético que pode ser descrito é a existência de pólos norte e sul. Admite-se que ao redor dos ímãs há áreas de influência que denominamos de campo magnético. No interior do ímã as linhas de campo têm orientação do pólo sul para o pólo norte enquanto que, externamente as linhas saem do pólo norte e chegam no sul. Existe uma força de interação entre os ímãs, de tal forma que, pólos iguais se repelem e pólos diferentes se atraem (HALLIDAY et al, 1994).

A inseparabilidade dos pólos é outro fenômeno magnético apresentado pelos ímãs. Dividindo em duas metades um ímã permanente teremos duas substâncias cada uma com dois pólos: um norte e um sul. Portanto, a estrutura mais simples que existe na natureza é o dipolo magnético fundamental que está associado ao elétron (TIPLER, 1995).

A Terra é um imenso ímã. A prova disto é que, uma vez que um ímã é suspenso pelo seu centro de gravidade, ele oscila por algum tempo, parando sempre na mesma direção. O motivo que obriga o ímã a assumir esta direção, são as forças do campo magnético da Terra. Pelo princípio fundamental da magnetostática, pólos contrários se atraem (HALLIDAY et al, 1994).

As substâncias possuem uma classificação relacionada às suas permeabilidades magnéticas. Por permeabilidade magnética entende-se a habilidade de um campo magnético atravessar um determinado material. As substâncias podem ser classificadas em: diamagnéticas, paramagnéticas e ferromagnéticas. Os materiais paramagnéticos e ferromagnéticos têm suas moléculas com dipolos magnéticos permanentes. Nos paramagnéticos, a interação entre os dipolos não é forte e encontram-se, normalmente, orientados ao acaso. Na presença de um campo magnético externo, os dipolos se alinham parcialmente, entretanto, na temperatura ambiente, é muito pequena a fração de moléculas que permanecem alinhadas uma vez que a agitação térmica tende a randomizar as orientações. Nos materiais ferromagnéticos, em virtude da forte interação dos dipolos magnéticos vizinhos, há um elevado grau de alinhamento mesmo quando o campo magnético externo for pequeno, o que provoca um reforço no campo magnético da substância. O diamagnetismo é observado em materiais cujas moléculas não têm momentos magnéticos permanentes. É consequência de um dipolo magnético induzido, que se opõe à direção do campo magnético externo (TIPLER, 1995).

O titânio pode ser classificado como um material com propriedades paramagnéticas mínimas, apresentando pouca capacidade de imantar-se quando exposto a um campo magnético externo (KITTEL, 1976).

3 PROPOSIÇÃO

Com base na literatura consultada, buscou-se avaliar o efeito da aplicação de um campo magnético sobre o reparo tecidual em enxertos ósseos autógenos córtico-medulares em fêmures de ratos.

Para tal, o presente estudo propõe-se a:

1. Descrever histologicamente a área do enxerto ósseo e as lojas dos parafusos, expostas ou não a um campo magnético.
2. Comparar histologicamente o reparo ósseo, nos grupos teste e controle, em diferentes tempos experimentais.

4 MATERIAIS E MÉTODO

No desenvolvimento do método, seguiu-se a proposta de Puricelli em 2003 (ULBRICH, 2003).

4.1 MODELO DE ESTUDO

A presente pesquisa tem características de um estudo experimental *in vivo*, descritivo, com grupos teste e controle.

4.2 LOCAL

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Cirurgia Experimental da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

4.3 AMOSTRA

Foram utilizados 30 ratos - *Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Wistar* - machos, com cinco meses de idade e peso médio de 400g no momento da intervenção cirúrgica. Os animais foram adquiridos e tratados junto ao Biotério do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os ratos foram divididos em seis grupos de cinco integrantes - três grupos testes e três grupos controles. Os integrantes de cada grupo

foram submetidos ao procedimento cirúrgico no mesmo dia, contando todos com a mesma idade e peso aproximado.

4.4 DISPOSITIVOS METÁLICOS¹

Os dispositivos metálicos utilizados foram constituídos de parafusos de titânio comercialmente puro e arruelas de aço inoxidável (Figura 1).

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

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

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

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

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

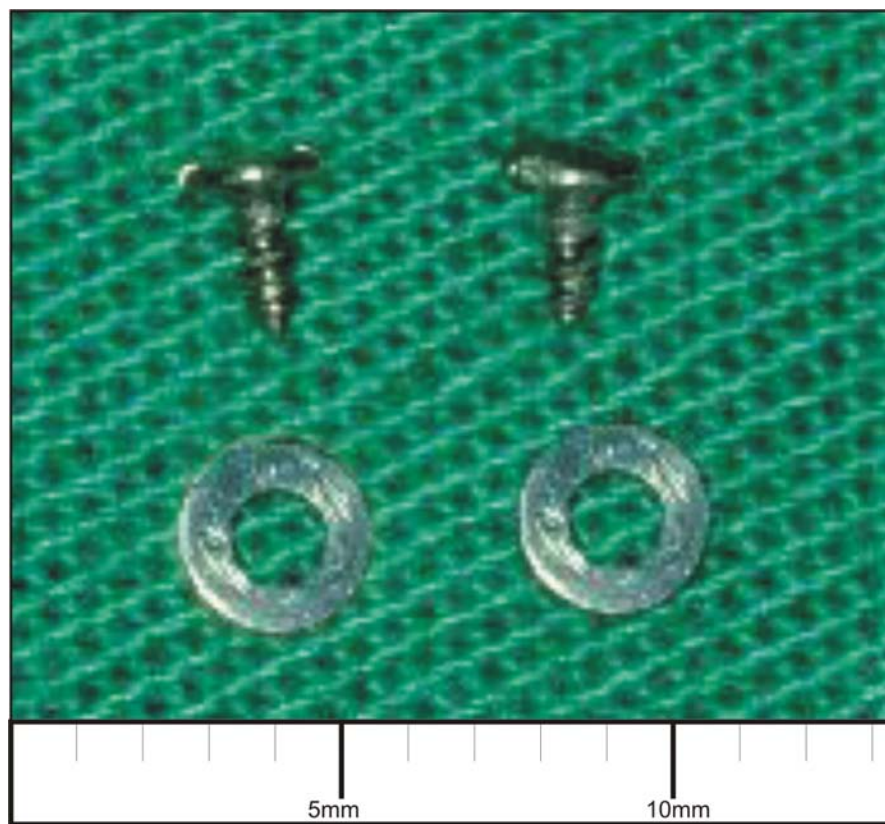


FIGURA 1 Parafusos de titânio comercialmente puro e arruelas de aço inoxidável.

Os parafusos apresentaram as seguintes dimensões: 1 milímetro (mm) de diâmetro por 0,5mm de passo por 2mm de comprimento de parte ativa. As arruelas possuíam 3mm de diâmetro externo por 1,5mm de diâmetro interno por 0,5mm de espessura (Anexo A). Com exceção das arruelas usadas no grupo controle, as demais arruelas foram imantadas na fabricação e mantidas em contato com um ímã permanente circular de dimensões de 60mm x 12mm x 5mm durante a esterilização e no trans-cirúrgico.

Também foi usada, no estudo, uma placa-guia de titânio comercialmente puro (Anexo B). Essa placa possuía três orifícios: um central, medindo 2mm de diâmetro e outros, medindo aproximadamente 1mm de diâmetro. Os orifícios foram dispostos lado a lado, ao longo eixo da placa, distanciados 1mm entre si para garantir a padronização e a reprodutibilidade das ostectomias na porção mediana do fêmur do rato.

4.5 AFERIÇÃO DO CAMPO MAGNÉTICO

A aferição do campo magnético foi determinada preliminarmente, no Laboratório de Magnetismo do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Para a aferição, seguiu-se o protocolo apresentado em Ulbrich (2003). A partir da de um fêmur de rato dissecado, foram montados arruelas e parafusos de titânio. As posições foram determinadas com a utilização da placa guia. A distância média entre as arruelas foi de 1,3mm. As corticais ósseas, entre as arruelas, foram removidas com a utilização de instrumentos rotatórios, objetivando a adaptação de um sensor tipo Hall (Figura 2). A aferição foi realizada em uma amostra de dez fêmures. Para aferição do campo magnético foram, ainda, utilizados um voltímetro e um amperímetro de 1 miliampere (mA).

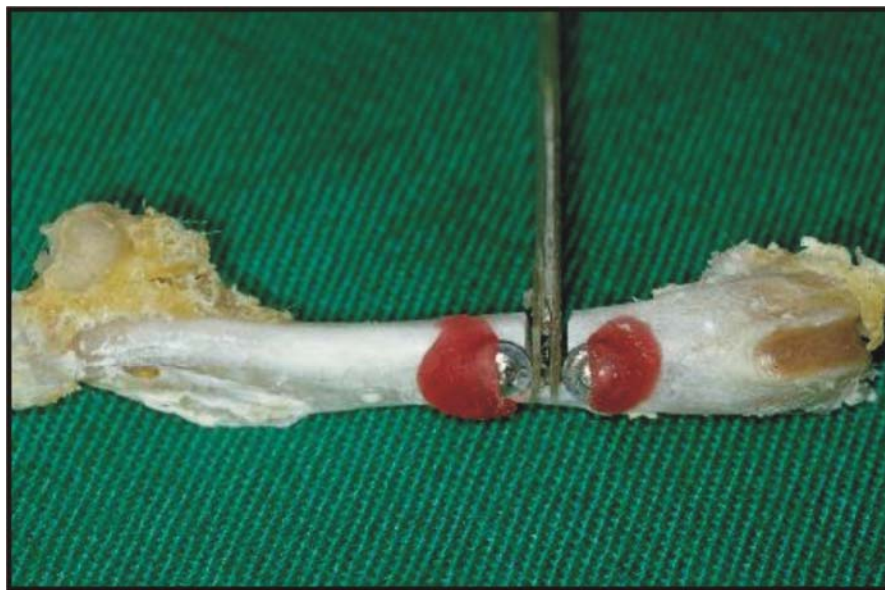


FIGURA 2 Protótipo montado para a aferição da intensidade do campo magnético. Observa-se o sensor tipo Hall posicionado no espaço entre as arruelas.

A medida da calibração do sensor é uma constante de cada aparelho e, nesse estudo, representou 415,50e/mV.

O primeiro valor medido, chamado de valor de fundo, correspondeu ao campo magnético do laboratório de Magnetismo da UFRGS, ou seja, ao valor do voltímetro com o sensor em ar ambiente. O valor foi de - 0,19 milivolt (mV).

A aferição dos campos magnéticos entre as arruelas foi realizada em dez protótipos, imediatamente após a montagem, 15 e 60 dias. Seguiu-se, então, o cálculo dos valores efetivos correspondentes às polaridades positiva e negativa do sensor.

A determinação do valor efetivo correspondente às polaridades positiva e negativa do sensor resultou da diferença entre o valor medido e o valor de fundo. A média aritmética dos valores obtidos corresponde ao valor efetivo que é multiplicado pelo valor de calibração do sensor resultando na intensidade do campo medido.

$$\text{Campo medido} = \text{valor efetivo} \times \text{calibração do sensor.}$$

O valor médio do campo magnético imediatamente à montagem dos protótipos foi de $51,52 \cdot 10^{-4} \text{T}$ ($\pm 22,22$). Nos períodos de 15 e 60 dias, os valores encontrados foram respectivamente, $43,83 \cdot 10^{-4} \text{T}$ ($\pm 20,74$) e $25,36 \cdot 10^{-4} \text{T}$ ($\pm 20,73$). Os valores podem ser também expressos nas unidades gauss e oersted (Oe).

Fatores de conversão: $1 \text{G} = 1 \text{Oe} = 10^{-4} \text{T}$.

TABELA 1 - Valores dos campos magnéticos de dez amostras de fêmures de rato.

Amostras	Inicial	15 dias	60 dias
1	64,40.10 ⁻⁴ T	58,17.10 ⁻⁴ T	10,38.10 ⁻⁴ T
2	43,62.10 ⁻⁴ T	37,39.10 ⁻⁴ T	31,16.10 ⁻⁴ T
3	45,71.10 ⁻⁴ T	45,71.10 ⁻⁴ T	37,40.10 ⁻⁴ T
4	39,47.10 ⁻⁴ T	22,85.10 ⁻⁴ T	6,23.10 ⁻⁴ T
5	39,47.10 ⁻⁴ T	37,39.10 ⁻⁴ T	12,65.10 ⁻⁴ T
6	72,71.10 ⁻⁴ T	68,55.10 ⁻⁴ T	68,55.10 ⁻⁴ T
7	81,02.10 ⁻⁴ T	60,24.10 ⁻⁴ T	16,62.10 ⁻⁴ T
8	76,86.10 ⁻⁴ T	68,55.10 ⁻⁴ T	47,78.10 ⁻⁴ T
9	43,62.10 ⁻⁴ T	35,31.10 ⁻⁴ T	18,69.10 ⁻⁴ T
10	8,31.10 ⁻⁴ T	4,15.10 ⁻⁴ T	4,15.10 ⁻⁴ T
Média	51,52.10 ⁻⁴ T	43,83.10 ⁻⁴ T	25,36.10 ⁻⁴ T

4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As cirurgias foram realizadas na seguinte seqüência: grupos controle e grupos teste. As cirurgias dos grupos controle foram as primeiras a serem realizadas para evitar que a imantação dos instrumentais pudesse ter alguma influência nos resultados do presente estudo.

O instrumental utilizado foi esterilizado em autoclave¹, a 132 °C, por 4 minutos. As arruelas, a placa-guia e os parafusos foram esterilizados em plasma de peróxido de hidrogênio², a 50°C, por 80 minutos.

A equipe cirúrgica utilizou, durante o ato operatório, avental cirúrgico e luvas cirúrgicas estéreis, máscara, óculos de proteção, gorro e propés.

¹ AMSCO Autoclave à vácuo. AMSCO Latin América Inc., Division of América Esterilizer Co., USA.

² STERRAD 100S, Advanced Division Sterelization Products, Johnson & Johnson, USA.

A anestesia foi realizada com cloridrato de cetamina¹ e cloridrato de xilazina², respectivamente, na dosagem de 0,1ml/kg e 1ml/kg de peso corporal do rato administrados de forma intramuscular na região externa do membro posterior lado direito. No mesmo local foram realizadas anestésias regionais infiltrativas utilizando 1,8ml de prilocaína a 3% e com felipressina³. A tricotomia foi realizada manualmente na região femural do membro posterior lado direito. Para realização da intervenção cirúrgica os animais foram imobilizados na posição de decúbito lateral esquerdo. A antissepsia foi realizada com a utilização de clorexidine 2% aplicada com o auxílio de uma gaze.

Com o uso de bisturi, cabo número três montado com lâmina número 15, foi realizada uma incisão linear, no sentido próximo-distal, de aproximadamente 3,5cm de extensão na pele na região femural direita. Seguiu-se a divulsão tecidual por planos, com o auxílio de uma tesoura de ponta romba. Após, com auxílio de um sindesmótomo, procedeu-se o descolamento do periósteo, proporcionando acesso à cortical femural lateral direita (Figura 3).

Após hemostasia, houve ampla visualização da região. Em seguida, a placa-guia foi posicionada no fêmur do rato (Figura 4). O orifício de 2mm foi preparado na parte média do fêmur com o auxílio de uma broca tipo trefina⁴ de ponta cortante com 2mm de diâmetro externo e 1,8mm de diâmetro interno. Os orifícios de 1mm foram confeccionados utilizando uma broca cilíndrica de medição⁵ com 1mm de diâmetro e 2mm de comprimento (Figura 5).

¹ Ketamina Anger (Ketamina 10 %), União Química Farmacêutica Nacional S/A, São Paulo, SP.

² Anasedan (xilazina 2 %), Sespo Indústria e Comércio Ltda, Jacareí, SP.

³ Citanest 3% com Octapresssin, AstraZeneca do Brasil., Cotia, São Paulo, Brasil.

⁴ PROMM, Comércio de Implantes Cirúrgicos Ltda., Porto Alegre, RS, Brasil.

⁵ PROMM, Comércio de Implantes Cirúrgicos Ltda., Porto Alegre, RS, Brasil.

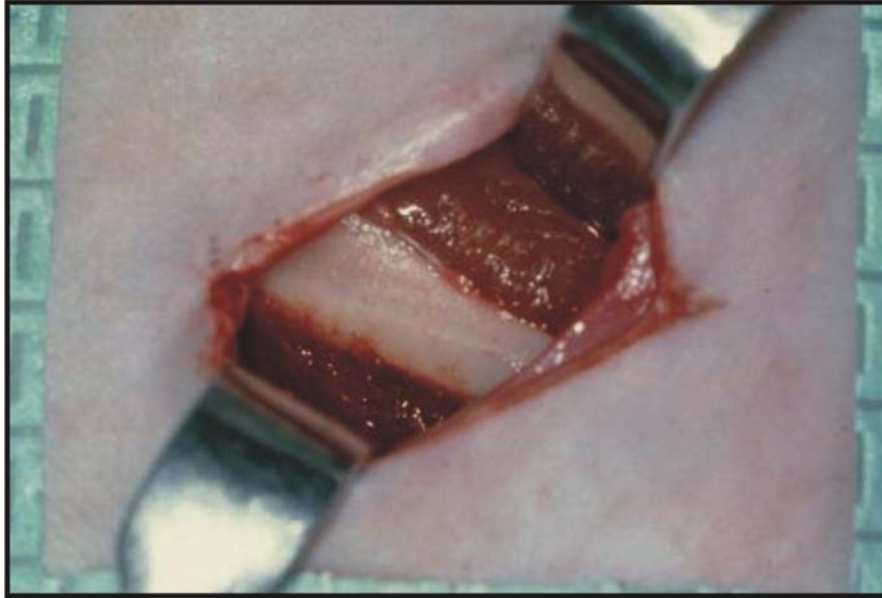


FIGURA 3 Aspecto do fêmur esquerdo do rato após divulsão tecidual.

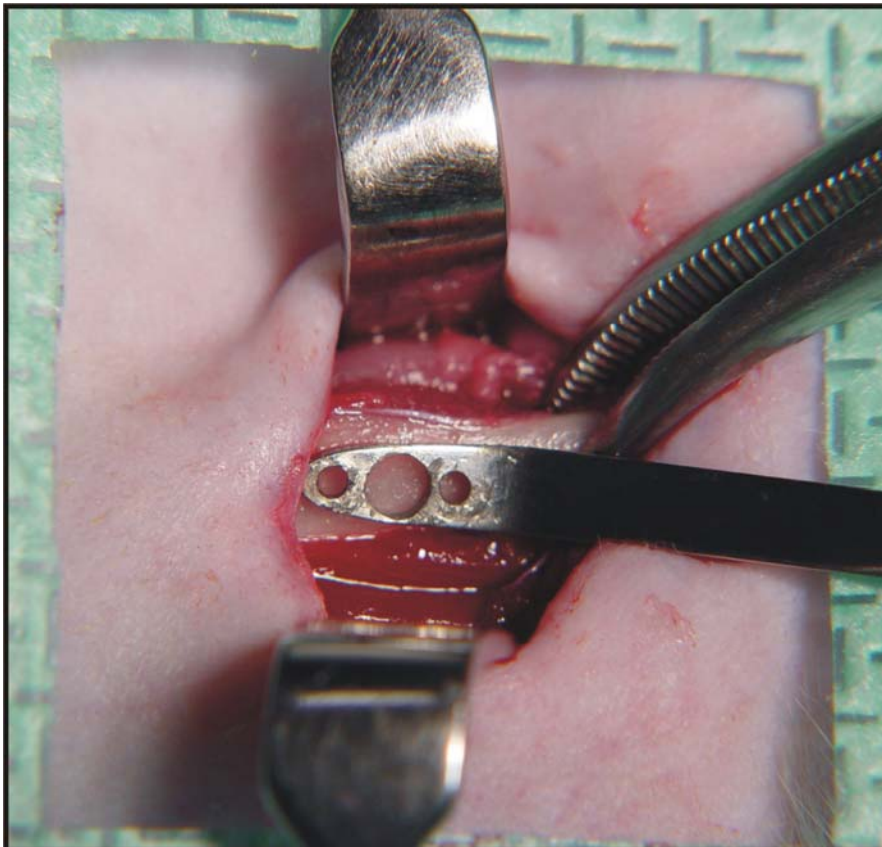


FIGURA 4 Posicionamento da placa-guia no fêmur esquerdo do rato.

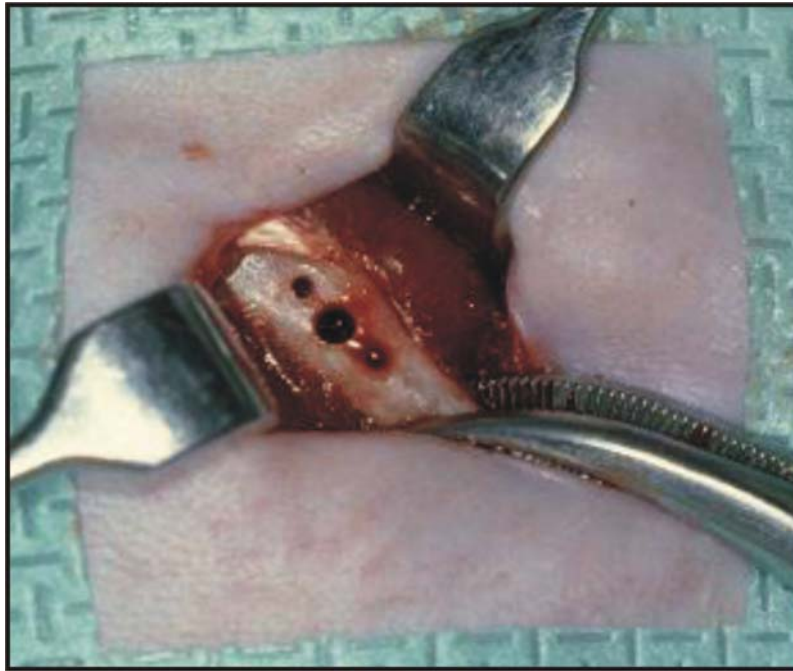


FIGURA 5 Aspecto do fêmur esquerdo do rato após a realização das perfurações.

Tanto a trefina quanto a broca de medição foram usadas em motor elétrico de baixa rotação¹. Tais procedimentos foram realizados sob irrigação constante de água destilada estéril.

Em seguida, duas arruelas foram posicionadas nos orifícios de 1mm, de modo a tangenciar a margem do orifício de 2mm e foram fixadas com o auxílio de microparafusos de titânio (Figura 6). O evento que diferiu entre os grupos teste e controle foi a presença ou ausência de imantação nas arruelas.

O enxerto ósseo córtico-medular foi removido da broca tipo trefina com o auxílio de uma sonda exploradora e recolocado no orifício de 2mm realizado no fêmur dos ratos com o auxílio de uma pinça anatômica (Figura 7).

Após a limpeza da ferida cirúrgica com água destilada e aspiração, foi realizada a sutura por planos com Vicryl² 4-0. Seguiu-se a sutura a pontos isolados da pele, na região do fêmur direito, com fio de mononylon³ 5-0.

Os animais foram cobertos com campos cirúrgicos, durante a recuperação anestésica, para manter a temperatura corporal. Os integrantes dos grupos foram colocados individualmente em gaiolas, com ração e água *ad libitum*. Nas primeiras 24 horas pós-cirúrgicas, 500 miligramas (mg) de paracetamol⁴ foram dissolvidos em 1 litro de água oferecida para analgesia.

¹ Dentec, São Paulo, SP, Brasil.

² Vicryl, Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil.

³ Mononylon, Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil

⁴ Paracetamol, SEM indústria Farmacêutica LTDA, São Bernardo do Campo, SP, Brasil.

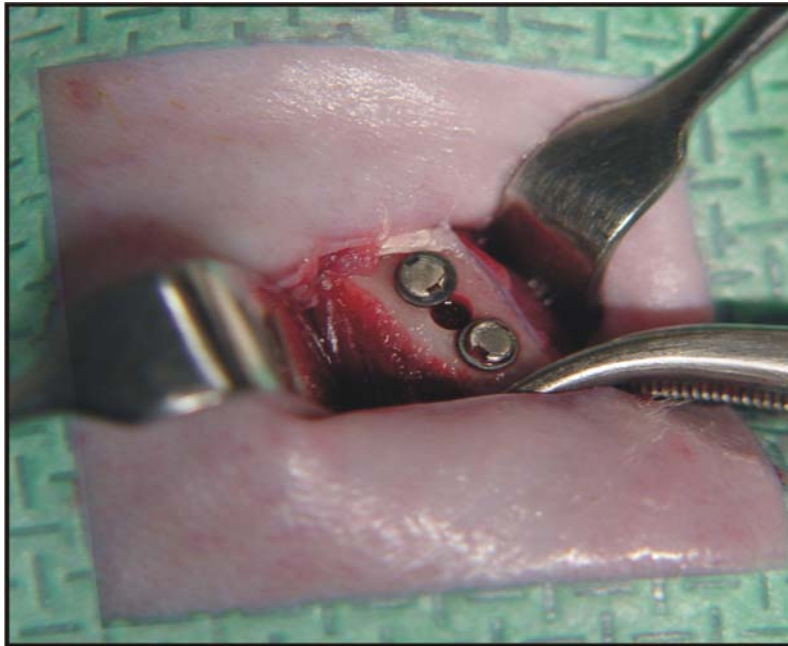


FIGURA 6 Posicionamento dos parafusos de titânio e das arruelas de aço inoxidável.

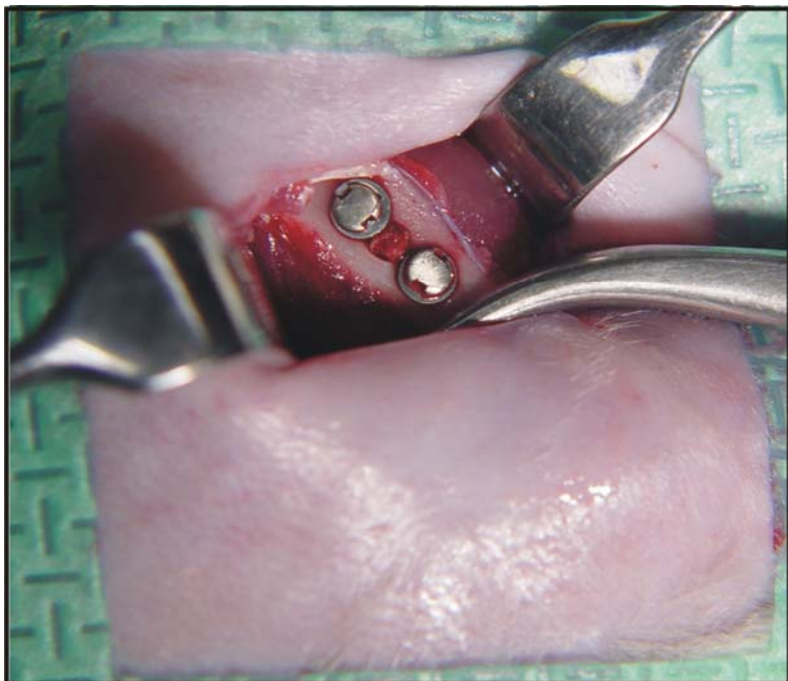


FIGURA 7 Posicionamento dos parafusos de titânio e das arruelas de aço inoxidável. Observa-se a presença do enxerto no espaço entre as arruelas.

Após as primeiras 24 horas pós-operatórias, os animais foram deslocados ao Biotério da Universidade Federal do Rio Grande do Sul onde permaneceram até a época de sua eutanásia. As gaiolas foram submetidas à limpeza e troca de serragem diariamente.

A eutanásia dos animais dos grupos teste e controle foi feita aos 15, 45 e 60 dias pós-operatórios. A eutanásia dos ratos foi realizada conforme orientações explicitadas no Anexo C do presente trabalho.

Imediatamente após a eutanásia, com os animais em posição de decúbito lateral esquerda, foi realizado o acesso ao fêmur direito da mesma maneira descrita anteriormente no procedimento cirúrgico. O fêmur direito foi dissecado e removido por desarticulação. As peças foram colocadas em recipientes plásticos individualmente e numeradas para identificação dos grupos teste e controle.

4.7 ESTUDO HISTOLÓGICO

Em laboratório, as peças foram fixadas e conservadas em formol a 10% com a finalidade de evitar as alterações *post mortem* dos tecidos. Depois de fixadas por um período de 48 horas, as peças foram descalcificadas em ácido nítrico a 5% por três dias. Seguiu-se o procedimento para 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 horas cada banho; 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 micrótomo¹, ao longo eixo do fêmur, de 4 micrometros (µm) de espessura,

¹ Micrótomo Leica 2155

perfazendo um total de 24 cortes por peça, incluindo as estruturas de interesse no estudo (região do enxerto ósseo e lojas dos parafusos). Os cortes foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE) e submetidos à análise microscópica.

Os preparos histológicos foram examinados ao microscópio óptico¹, com objetiva de 40, 100, 200 e 400 vezes, para avaliação, tanto da região do enxerto quanto das lojas dos parafusos.

A análise microscópica foi apresentada de forma descritiva pelo autor, pelas professoras orientadora e coorientadora da dissertação. Houve discussão dos aspectos histológicos e a descrição foi feita após consenso entre as três partes.

4.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo seguiu as normas de utilização de animais em projetos de pesquisa, conforme Código Estadual de Proteção aos Animais (Anexo C) e Resolução Normativa 04/97 da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA (Anexo D) e foi submetido a parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Anexo E).

¹ Model Lambda LQT 2, ATTO Instruments Co., Hong Kong, China.

5 RESULTADOS

A descrição dos resultados da pesquisa seguiu a seqüência: grupo controle e grupo teste, avaliando a região do enxerto e a loja dos parafusos nos períodos experimentais de 15, 45 e 60 dias.

5.1 GRUPO CONTROLE 15 DIAS

Região do enxerto: observou-se grande neoformação óssea, a partir do endóstio, contornando a área da cavidade cirurgicamente obtida. Verifica-se, ainda, a presença do enxerto sepultado, verticalmente, no interior da mesma. Este apresenta áreas de angiogênese compatível com vitalidade óssea (Figura 8). Em maior aumento, pode-se observar uma estrutura óssea em ponte, aparentemente proliferativa, conectando a margem óssea cortical com o enxerto (Figura 9).

Loja dos parafusos: estas caracterizaram-se por espaços vazios delimitados por tecido ósseo cortical, nas regiões correspondentes à rosca do parafuso (Figura 10). Em maior aumento, observou-se neoformação óssea caracterizada por estrutura esponjosa com tecido medular hematopoiético junto à anatomia criada pela rosca do parafuso (Figura 11).

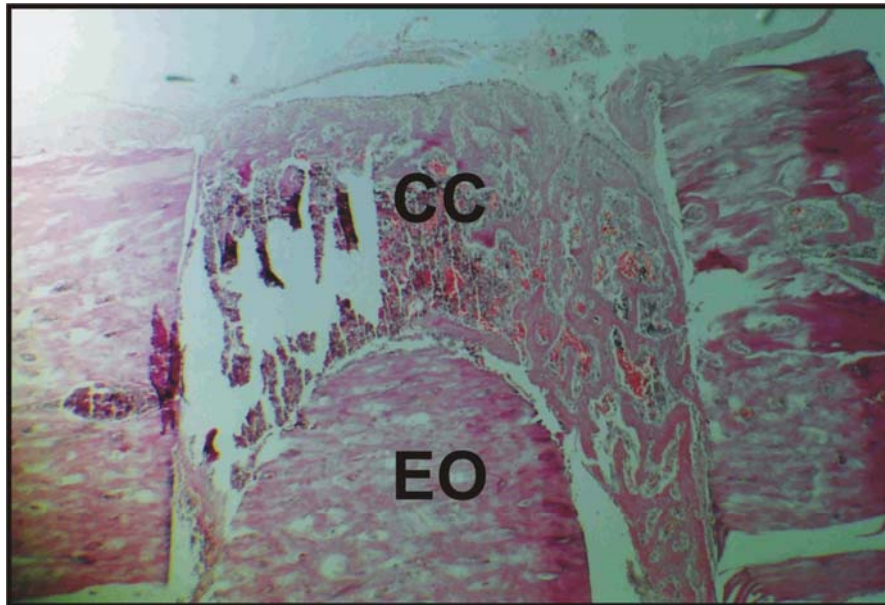


FIGURA 8 Grupo Controle 15 dias: cavidade cirúrgica (CC) apresentando neoformação óssea e enxerto ósseo (EO) em posição vertical. Limites da cavidade cirúrgica bem demarcados na cortical óssea (HE 40x).

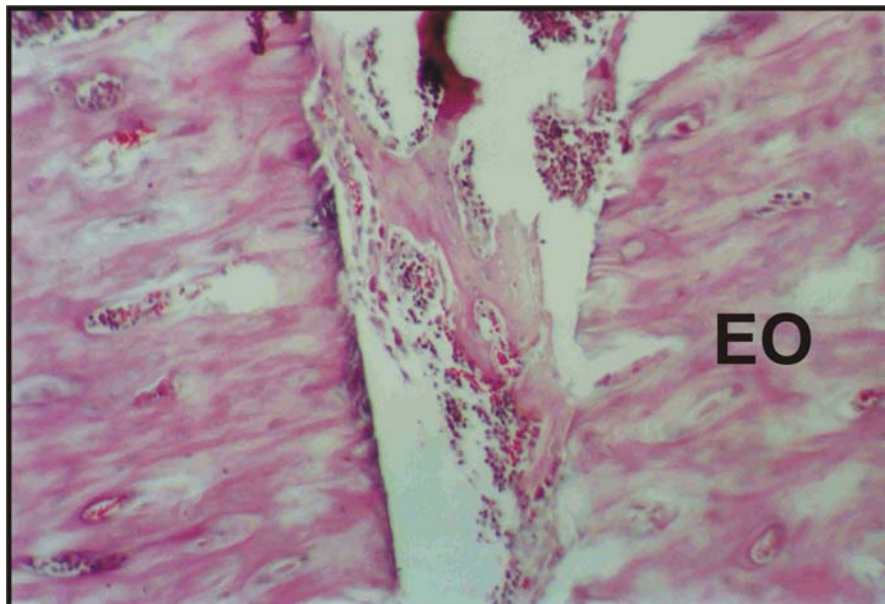


FIGURA 9 Grupo Controle 15 dias: estrutura óssea proliferativa conectando a margem óssea cortical com o enxerto ósseo (EO) (HE 400x).

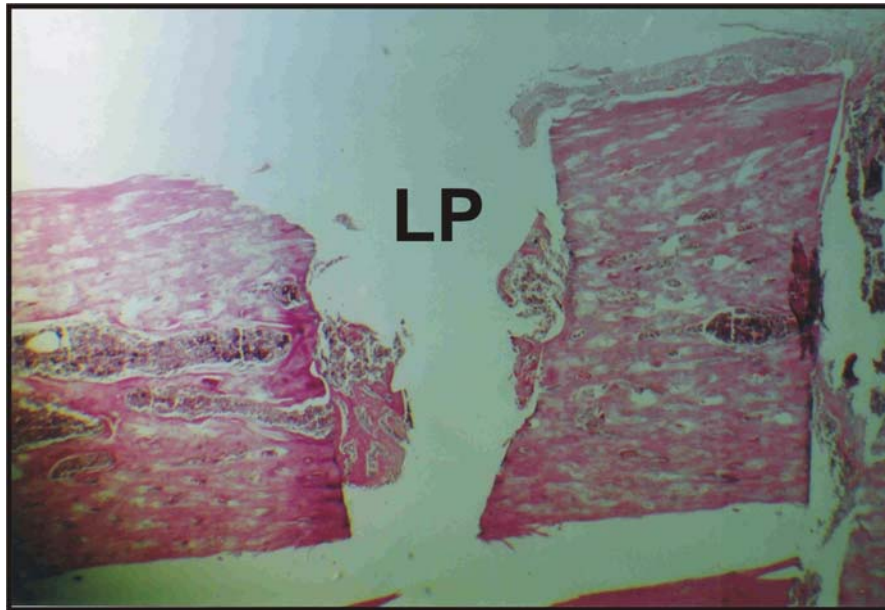


FIGURA 10 Grupo Controle 15 dias: nota-se nas corticais a delimitação da loжа (LP) provocada pela intrusão do parafuso (HE 40x)

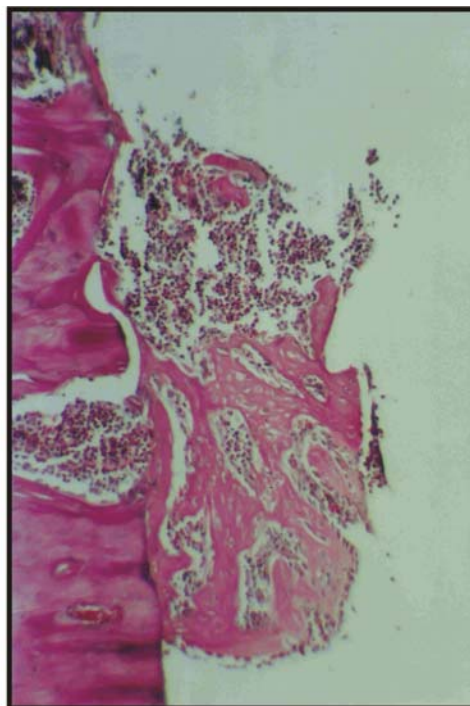


FIGURA 11 Grupo Controle 15 dias: neoformação óssea caracterizada por estrutura esponjosa ou trabecular, com tecido medular hematopoiético junto à anatomia criada pela rosca do parafuso (HE 400x).

5.2 GRUPO TESTE 15 DIAS

Região do enxerto: observou-se boa estabilidade do enxerto ósseo, **verticalmente**, alojado no interior da cavidade cirurgicamente criada. Áreas de neoformação óssea esponjosa ou trabecular apresentaram-se mais rarefeitas com progressivas substituições por medula hematopoiética. Estruturas vasculares foram observadas na interface osso-enxerto. Presença de tecido medular maduro (Figura 12). Observou-se ponte óssea conectando o enxerto com a área reacional de cicatrização. Grande quantidade de osteoblastos evoluindo da estrutura fixa para o enxerto. Registraram-se ainda, contornos lamelares em deposição no enxerto (Figura 13).

Loja dos parafusos: verificaram-se espaços delimitados, reproduzindo a forma rosqueada dos parafusos, também na estrutura medular. Estas lojas estavam demarcadas por fina camada de osso cortical. Notou-se ainda, maior presença de tecido hematopoiético (Figura 14).

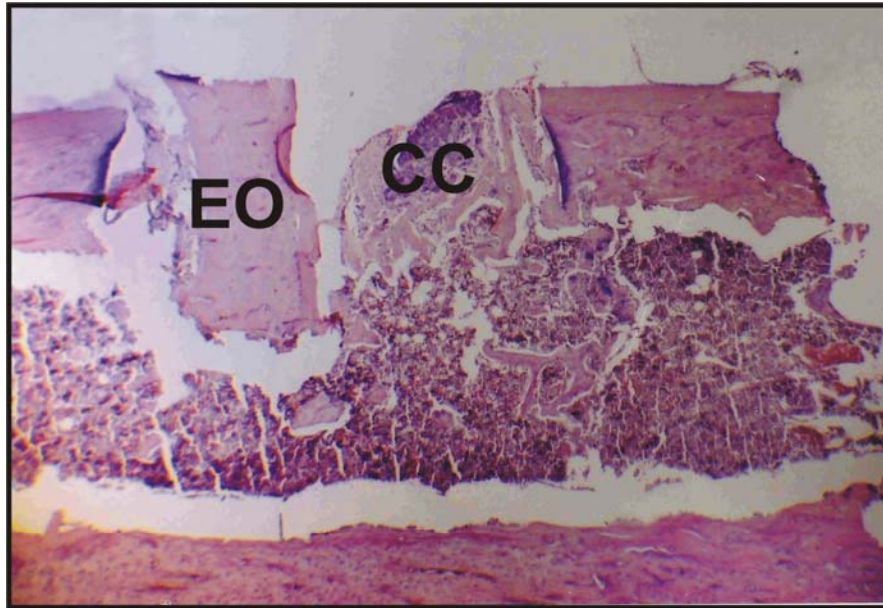


FIGURA 12 Grupo Teste 15 dias: cavidade cirúrgica (CC) com formação óssea esponjosa contornando parcialmente o enxerto ósseo (EO) autógeno. Este apresenta-se na posição vertical, mostrando a estabilidade do mesmo (HE 40x)

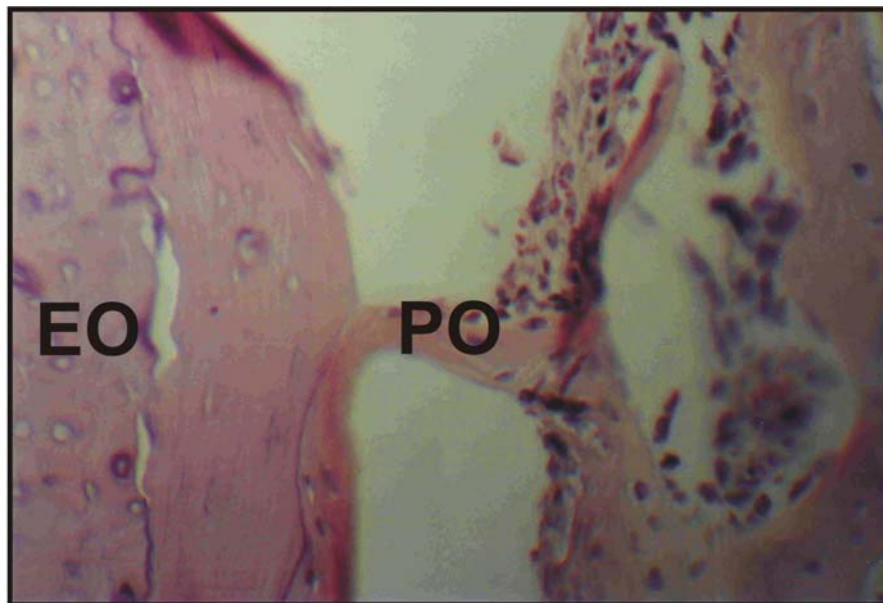


FIGURA 13 Grupo Teste 15 dias: ponte óssea (PO) conectando o enxerto ósseo (EO) com a área de cicatrização. Observa-se grande quantidade celular osteoblástica evoluindo do osso fixo para o enxerto. Registra-se, ainda, contorno lamelar em continuidade com estrutura óssea neoformada no enxerto (HE 400x).

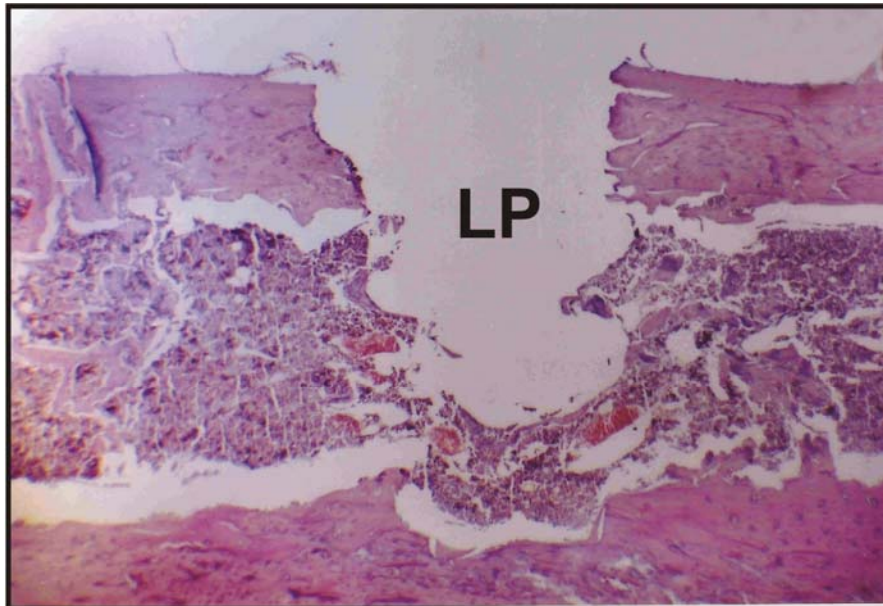


FIGURA 14 Grupo Teste 15 dias: loja do parafuso (LP) bem delimitada e contornada por tecido ósseo neoforado. No tecido medular, pode-se observar a anatomia da superfície rosqueada do parafuso, levemente determinada pela presença de pequenas formações corticais (HE)

5.3 GRUPO CONTROLE 45 DIAS

Região do enxerto: observou-se neoformação óssea, a partir das margens corticais da cavidade, incorporando o enxerto. Neste nível da cavidade evidenciou-se tecido ósseo maduro. Presença de vasos de grande calibre evoluindo pelo conduto medular, em direção à área óssea cortical e do enxerto autógeno. Trabeculado ósseo esponjoso pouco presente, substituído por medula hematopoiética, com grau de maturidade determinado pela presença de células adiposas. Presenciou-se, ainda, um leve movimento em convexidade na área de vedamento cortical pelo efeito da osteocondução, a partir do enxerto presente (Figura 15).

Loja dos parafusos: o espaço correspondente à margem do parafuso caracterizou-se pela presença de tecido ósseo maduro, contornando a anatomia rosqueada e, estendendo-se em profundidade no conduto medular (Figura 15).

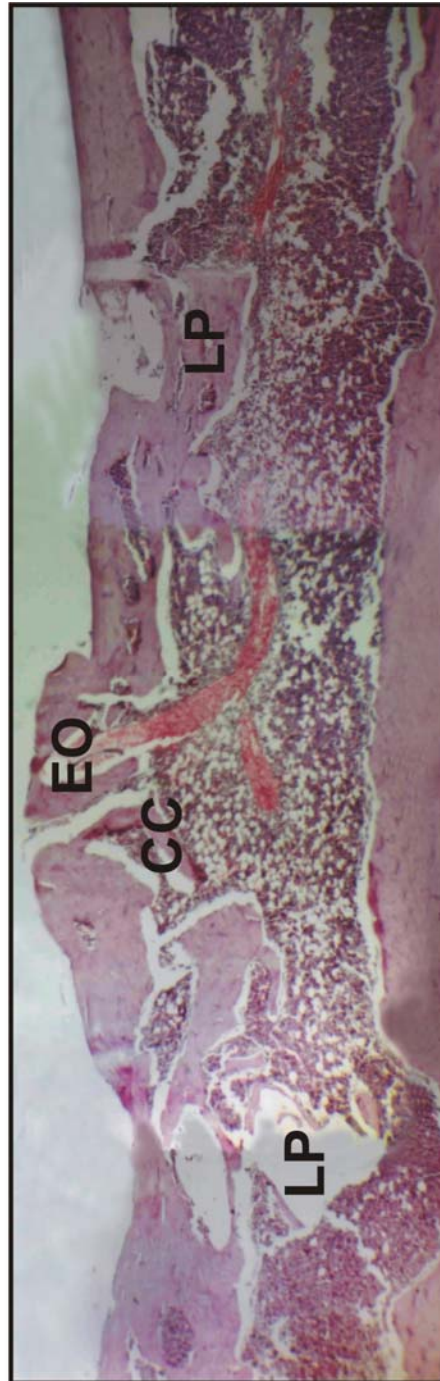


FIGURA 15 Grupo Controle 45 dias: composição vertical de fotos da seqüência da cavidade cirúrgica (CC) e as lojas dos parafusos (LP). Observam-se delimitadas as lojas receptoras dos parafusos e, a cavidade cirúrgica, interposta a ambos. Destacada presença de vasos sanguíneos em bifurcação, evoluindo para a área de cicatrização com invasão do enxerto ósseo (EO). Nota-se um nivelamento na continuidade da cortical com leve extrusão na área enxertada (HE 40x).

5.4 GRUPO TESTE 45 DIAS

Região do enxerto: observou-se a presença de um residual de enxerto ósseo, integrado à estrutura cortical. Sua posição vertical confirma a estabilidade do mesmo. Observaram-se, ainda, lacunas intra-ósseas com atividade celular e vascular, tanto no enxerto quanto na cortical residual. Chamaram atenção neoformações ósseas, a partir do periósteo, num movimento centrífugo, sobrepostas paralelamente à cortical cicatricial, mantida em seu nível original. O limite ósseo neoformado obedeceu à configuração das arruelas imantadas, fixadas, em ambos os limites da ferida cirúrgica. Visível presença de tecido hematopoiético ativo e, grande proliferação vascular no novo espaço medular, circunscrito pela neoformação óssea. Essa estrutura apresentou-se com imagem semelhante à estrutura medular do conduto ósseo (Figura 16). Em algumas lâminas observaram-se imagens que refletem possíveis cortes marginais das peças, onde verificou-se grande presença de osso cortical entremeado pobremente por espaços medulares. O crescimento ósseo centrífugo atraído pelo campo magnético apresenta a estrutura cortical bem delimitada marcando perfeitamente os limites do espaço magnetizado. Observou-se ainda, o trajeto vascular com a mesma intenção centrífuga partindo da estrutura do fêmur em direção à área óssea neoformada. Observou-se o periósteo envolvendo hermeticamente a peça. Nas lojas que correspondem à presença das arruelas, é possível identificar delgada cápsula de tecido conjuntivo fibroso (Figura 17).

Loja dos parafusos: observaram-se as cavidades vazias que caracterizam a área dos parafusos, bem delimitadas por tecido ósseo maduro, atingindo maior profundidade, com invasão do conduto medular. Presença de um componente de tecido mole, podendo significar tecido conjuntivo fibroso invadindo a área do periósteo (Figura 16).

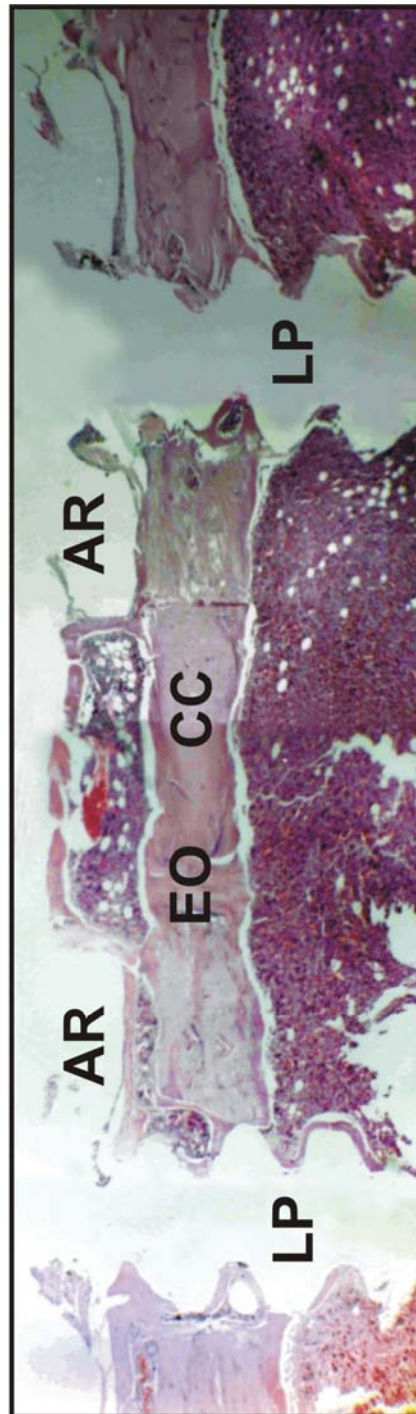


FIGURA 16 Grupo Teste 45 dias: composição vertical de fotos da seqüência da cavidade cirúrgica (CC) e as lojas dos parafusos (LP). Observa-se enxerto ósseo (EO) autógeno contribuindo para o vedamento cortical da ferida cirúrgica. Este apresenta marcado delineamento vertical, comprovando sua posição original. Crescimento exofidico de estrutura óssea sobreposta à cavidade cirúrgica, delimitando o espaço entre as arruelas imantadas (AR) (HE 40x).

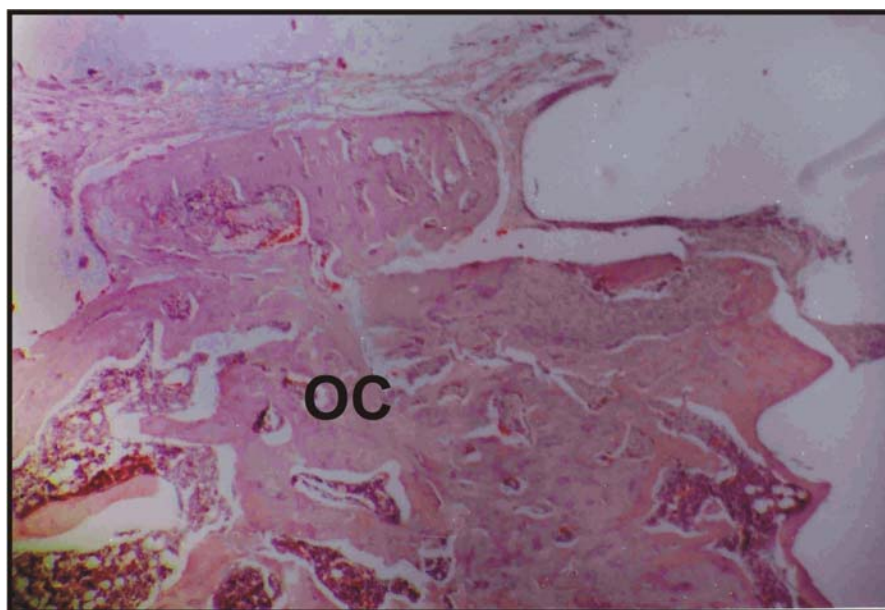


FIGURA 17 Grupo Teste 45 dias: imagem reflete possível corte marginal da peça. Verifica-se grande presença de osso cortical (OC), entremeado pobremente por espaços medulares. O crescimento ósseo centrífugo, atraído pelo campo magnético, apresenta a estrutura cortical bem delimitada, marcando perfeitamente os limites do espaço magnetizado. Observa-se, ainda, o trajeto vascular, partindo da estrutura óssea femural em direção à área neoformada. Pode-se observar o periósteo envolvendo hermeticamente a peça. Nas lojas que correspondem à presença

5.5 GRUPO CONTROLE 60 DIAS

Região do enxerto ósseo: a cavidade cirúrgica mostrou-se ocluída por cortical levemente convexa. Não observaram-se os marcados limites das arruelas. Em algumas lâminas, chamou atenção a delgada estrutura cortical com presença maciça de medula. Não se identificaram estruturas compatíveis com o enxerto ósseo autógeno (Figura 18).

Loja dos parafusos: caracterizaram-se por cavidades vazias, circundadas por tecido ósseo maduro, reproduzindo a forma rosqueada dos parafusos (Figura 18).

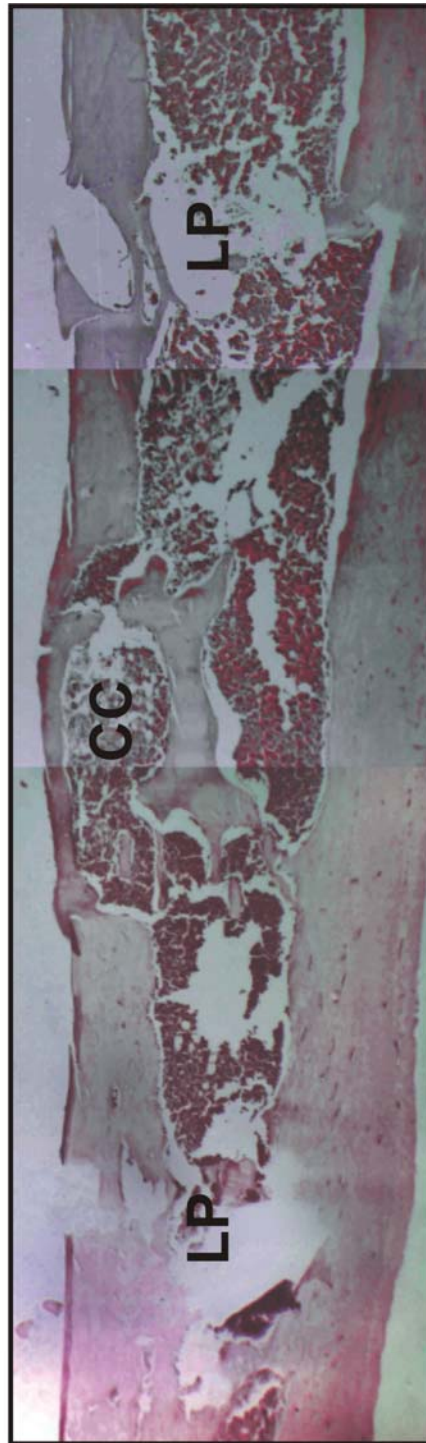


FIGURA 18 Grupo Controle 60 dias: composição vertical de fotos da seqüência da cavidade cirúrgica (CC) e as lojas dos parafusos (LP). A continuidade da estrutura cortical indica a área central cicatrizada, entre os espaços correspondentes às lojas dos parafusos. Nota-se atividade osteoclástica, a partir da medula, reorganizando o conduto medular (HE 40x).

5.6 GRUPO TESTE 60 DIAS

Região do enxerto: tendência de remodelação da nova cortical, a partir da área neoformada. Ao mesmo tempo, observou-se invasão da estrutura compacta da cortical primária por medula óssea. Presenças de inúmeras lacunas de Howship, caracterizando progressiva reabsorção. Não se identificaram estruturas compatíveis com o enxerto ósseo autógeno (Figura 19).

Loja dos parafusos: em muitas áreas da loja do parafuso, foi possível identificar marcada presença de cortical, reproduzindo a anatomia da rosca (Figura 19).

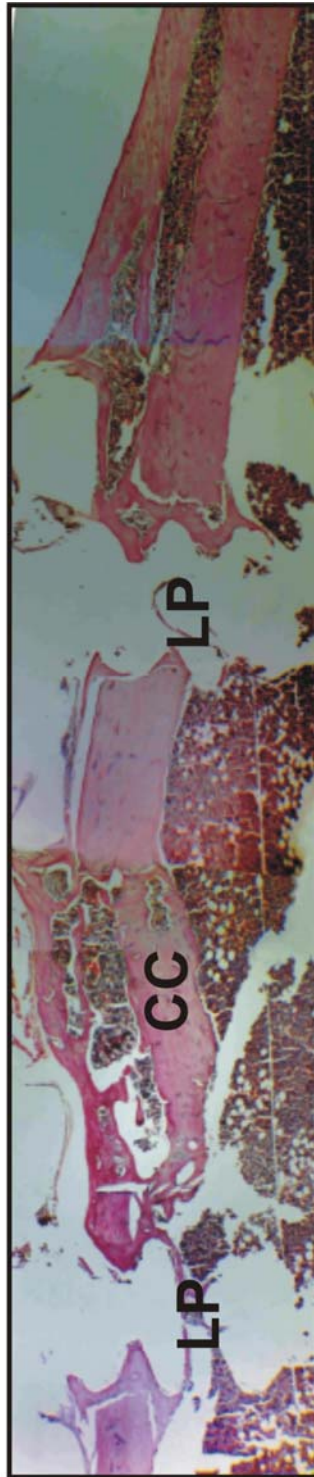


FIGURA 19 Grupo Teste 60 dias: composição vertical de fotos da seqüência da cavidade cirúrgica (CC) e as lojas dos parafusos (LP). Observa-se maturidade medular, nas diferentes áreas, com atividade osteoclástica na cortical original, sepultada no novo espaço ósseo (HE 40x).

6 DISCUSSÃO

Diferentes modelos animais são descritos nas pesquisas envolvendo campos magnéticos. Pode-se citar Miller et al (1984) que utilizaram cães, Darendelie, Darendelie, Sinclair (1997) que utilizaram porcos, Matsumoto et al (2000) que utilizaram coelhos. O rato tem sido o modelo animal mais utilizado, em estudos que pesquisaram a influência dos campos magnéticos no tecido ósseo (LINDER-ARONSON, LINDSKOG, 1991; TAKANO-YAMAMOTO, KAWAKAMI, SAKUDA, 1992; CAMILLERI, McDONALD, 1993; BODAMYALI et al, 1998; ULBRICH, 2003).

A área anatômica utilizada nos animais, varia nos diferentes estudos. Assim, pode-se citar Miller et al (1984) que realizaram suas observações em fíbula de cães; Linder-Aronson, Lindskog (1991), em tíbias de ratos; Takano-Yamamoto, Kawakami, Sakuda (1992), na pré-maxila de ratos; Camilleri., McDonald (1993), na sutura sagital de ratos; Darendelie, Sinclair, Kusy (1995), na região dentária em porcos; Darendelie, Darendelie, Sinclair (1997), região goníaca em porcos; Bodamyali et al (1998), calvária de ratos; Matsumoto et al (2000), fêmures de coelhos; Fredericks et al (2003), tíbias de coelhos e Ulbrich (2003), fêmures de ratos.

Nesse estudo, seguiu-se a linha de pesquisa adotada por Ulbrich em 2003. A utilização de ratos oferece a facilidade de aquisição, manutenção e manipulação cirúrgica.

As arruelas utilizadas nesse experimento foram confeccionadas a partir da liga de aço inoxidável AISI 420. A presença de 11,5% de cromo na liga possivelmente garantiu a passividade do material, oferecendo proteção superficial à corrosão (SILVA, MEI, 1981). Associando-se à passividade do material, a liga apresenta propriedades ferromagnéticas o que

conferiu às arruelas, quando expostas a um campo magnético externo propriedades de imantação (CHIAVERINI, 1996).

Os parafusos de titânio comercialmente puro, utilizados no experimento, mantiveram as arruelas tangenciando o leito receptor do enxerto ósseo. O titânio caracterizou-se pela sua biocompatibilidade, demonstrando comportamento semelhante ao demonstrado em Ulbrich (2003).

A maior parte dos trabalhos publicados baseia-se na aplicação de campos eletromagnéticos no reparo ósseo de fraturas com pseudoartrose ou com retardo de cicatrização (BASSET, MITCHELL, GASTON, 1981; SHARRARD, 1990; SCOTT, KING, 1994). Esses campos são aplicados, externamente nos organismos, a partir de aparelhagem específica. Esse método apresenta alguns inconvenientes, como o alto tempo de aplicação diária, a duração de tratamento e a necessidade de permanecer conectado a fonte elétrica durante o tempo da aplicação (BASSET, MITCHELL, GASTON, 1981).

A partir de resultados favoráveis com o uso da estimulação eletromagnética, e levando em conta as limitações de sua aplicação, surgiu o interesse da pesquisa utilizando campos gerados por substâncias magnéticas (BRUCE, HOWLETT, HUCKSTEP, 1987). O trabalho de Darendelie, Darendelie, Sinclair (1997) comparou as duas modalidades de campos magnéticos - gerados por ímãs e eletromagnéticos - demonstrando melhores resultados para os campos magnéticos gerados por ímãs.

Até o método proposto por Puricelli, em 2003 (ULBRICH, 2003), magnetos eram posicionados externamente nas pesquisas que utilizaram animais (BRUCE, HOWLETT, HUCKSTEP, 1987; LINDER-ARONSON, LINDSKOG, 1991; CAMILLERI, McDONALD, 1993; DARENDELIER, SINCLAIR, KUSY, 1995; DARENDELIER, DARENDELIER, SINCLAIR, 1997).

Diferentes substâncias magnéticas foram utilizadas. Destacam-se os trabalhos de Bruce, Howlett, Huckstep (1987) e Darendeliev, Sinclair, Kusy (1995) que utilizaram magnetos de samário-cobalto; Camilleri, McDonald (1993) utilizaram magnetos de neodímio-ferro-boro; Darendeliev, Darendeliev, Sinclair (1997), magnetos de neodímio; Kotoni et al (2002), magnetos de boro e Ulbrich (2003) liga de aço inoxidável AISI 420. A utilização de aço inoxidável nessa pesquisa justifica-se pelas propriedades ferromagnéticas, compatibilidade biológica e dispensabilidade de revestimento superficial. Além disso, oferece baixo custo e facilidade de aquisição.

Existem algumas limitações na metodologia empregada nos trabalhos de estimulação magnética dos tecidos. Não existe na literatura, consenso da intensidade do campo magnético a ser utilizado. Observam-se intensidades de campo magnético que variam de $2 \cdot 10^{-4} \text{T}$ a 8T (BRUCE, HOWLETT, HUCKSTEP, 1987; TAKANO-YAMAMOTO, KAWAKAMI, SAKUDA, 1992; BODAMYALI et al, 1998; YAN, TOMIDA, IKADA, 1998; MATSUMOTO et al 2000; KOTANI et al, 2002; FREDERICKS et al, 2003). Além disso, existem dificuldades na calibragem dos campos magnéticos utilizados nas pesquisas, dificuldades na fabricação nas substâncias magnéticas e na definição das intensidades terapêuticas. Também existem divergências nas pesquisas, em relação ao tempo de aplicação e a duração dos tratamentos com campos magnetizados. Há relatos de variações na aplicação diária de uma a oito horas diárias e duração de tratamento de dois dias a oito semanas (BASSET, 1982; SHARRARD, 1990; AARON, CIOMBOR, 1993; SCOTT, KING, 1994; MATSUMOTO, 2000; LINOVITZ, 2002; FREDERICKS, 2003).

Nesse trabalho, estimou-se o campo magnético atuante na região do enxerto ósseo. Para tal, realizou-se um estudo preliminar baseado no protocolo adotado por Ulbrich (2003). A partir da aferição dos campos magnéticos em dez fêmures de rato obteve-se uma

intensidade média de campo inicial, em 15 e 60 dias, respectivamente de $51,52 \cdot 10^{-4}T$, $43,83 \cdot 10^{-4}T$ e $25,36 \cdot 10^{-4}T$. Observou-se que durante o período experimental, o campo manteve-se atuante, porém com variações. As variações individuais nas intensidades dos campos podem ser devidas a erros de aferição e diferenças na composição entre as arruelas metálicas. A manutenção de um campo permanente, sepultado no interior dos tecidos, possibilitaria a avaliação do efeito continuado do campo magnético.

Nos grupos teste e controle em 15 dias, os enxertos apresentaram-se vitais, entretanto, a interface de osso neoformado junto ao enxerto foi maior no grupo teste. Esse achado vai de encontro às observações histológicas de Ulbrich (2003) que observou formação trabecular exuberante no grupo teste aos 15 dias, em comparação ao controle. As observações dos grupos testes, no período de 45 dias de resíduo de enxerto e grandes neoformações ósseas, a partir do perióstio sobrepostas paralelamente à cortical cicatricial, configurando o limite ósseo das arruelas imantadas, demonstram maior atividade óssea, quando comparado ao grupo controle no mesmo período. Aos 60 dias, na região do enxerto, observou-se tendência de remodelação da nova cortical a partir da área neoformada. Quando comparado ao grupo controle observou-se a cortical com configuração levemente convexa. Baseando-se nas observações das regiões de enxerto ósseo, nos períodos de 15, 45 e 60 dias pós-operatórios, podemos supor que o campo magnético permanente foi capaz de estimular a capacidade osteocondutora do enxerto ósseo. Nessa situação, o enxerto promove o leito adequado para neoformação de tecido ósseo, concordando com os trabalhos de Friedlaender (1987) e Seyedin (1989).

As lojas dos parafusos do grupo teste e controle, no período de 15 dias, apresentaram-se bem delimitadas, reproduzindo a forma rosqueada dos parafusos. Contudo, no grupo teste evidenciou-se maior formação óssea cortical demarcando a loja do parafuso e maior presença

de tecido hematopoiético, quando comparado ao controle. Ao longo dos períodos de 45 e 60 dias, nos grupos teste e controle, manteve-se o mesmo padrão histológico. Foram observadas as cavidades vazias circundadas por tecido ósseo reproduzindo a anatomia da rosca. As variações observadas nos grupos teste e controle no período de 15 dias, podem ser explicadas pelo contato do parafuso de titânio, que apresenta propriedades paramagnéticas, com as arruelas imantadas. Essa condição poderia contribuir para manutenção do campo magnético e explicar a tendência de maior neoformação óssea ao redor do parafuso imantado (KITTEL, 1976).

7 CONCLUSÕES

Após a realização dessa pesquisa, foi possível concluir que:

- A liga de aço inoxidável imantada empregada neste estudo, foi capaz de favorecer o processo de integração dos enxertos ósseos;
- Os resultados, comparados os grupos teste e controle, foram favoráveis à integração do enxerto ósseo, devido ao efeito magnético em todos os períodos experimentais;
- A marcada configuração óssea envolvendo as arruelas e as regiões do enxerto ósseo autógeno, no grupo teste, aos 45 e 60 dias pós-operatórios pressupõe a atividade constante do campo magnético.

REFERÊNCIAS¹

- 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.
- BASSET, C. A.; MITCHELL, S. N.; GASTON, S. R. Treatment of Ununited Tibial Diaphyseal Fractures with Pulsing Eletromagnetics Fields. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 63-A, no. 4, p. 511-523, Apr. 1981.
- BASSET, C. A. Pulsing Electromagnetic Field: A New Method to Modify Cell Behaviors in Calcified and Non-calcified Tissues. **Calcif. Tissue Int.**, Berlin, v. 34, no. 1, p. 1-8, Jan. 1982.
- BODAMYALI, T. et al. Pulsed Eletromagnetic Fields Simultaneously Induce Osteogenesis and Upregulate Transcription of Bone Morphogenetic Proteins 2 and 4 in Rat Osteoblast *in Vitro*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, San Diego, v. 250, no. 2, p. 458-461, Sept. 1998.
- BOYNE, P. J. et. al. A Technique for Osseus Restoration of Deficient Edentulous Maxillary Ridges. **J. Oral and Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 43, no. 2, p. 87-91, Feb. 1985.
- BOZORTH, R. M. **Ferromagnetism**. New York: IEEE Press, 1978. 968 p.
- BRUCE, G. K.; HOWLETT, C. R.; HUCKSTEP, R. L. Effect of a Static Magnetic Field on Fracture Healing in a Rabbit Radius. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, no. 222, p. 300-306, Sept. 1987.
- BURKITT, H. G.; YOUNG, B.; HEATH, J. W. Tecidos Esqueléticos. In: _____. **Wheater Histologia Functional**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. Cap. 10, p. 173-186.
- CAMILLERI, S.; McDONALD, F. Static Magnetic Field Effects on the Sagittal Suture in *Rattus norvegicus*. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, St Louis, v. 103, no.3, p. 240-246, Mar. 1993.

¹ 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.

CHIAVERINI, V. Aços Resistentes à Corrosão. In: _____. **Aços e Ferros Fundidos: Características Gerais, Tratamentos Térmicos e Principais Tipos**. 7. ed. ampl. rev. São Paulo: Associação Brasileira de Metais, 1996. Cap. 23, p. 381-423.

D'ADDONA, A.; NOWZARI, H. Intramembranous Autogenous Osseous Transplants in Aesthetic Treatment of Alveolar Atrophy. **Periodontol.** 2000, Copenhagen, v. 27, p. 148-161. 2001.

DARENDELIER, M. A.; DARENDELIER, A.; SINCLAIR, P. M. Effects of Static Magnetic and Pulsed Electromagnetic Fields on Bone Healing. **Int. J. Adult Orthodon. Orthognath. Surg.**, Chicago, v. 12, no. 1, p. 43-53, Spring. 1997.

DARENDELIER, M. A.; SINCLAIR, P. M.; KUSY, R. P. The Effects of Samarium-Cobalt Magnets and Pulsed Electromagnetic Fields on Tooth Movement. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, St Louis, v. 107, no. 6, p. 578-588, June. 1995.

EL-ASKARY, A. S.; PIPCO, D. J. Autogenous and Allogeneous Bone Grafting Techniques to Maximize Esthetics: a Clinical Report. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v. 83, no. 2, p. 153-157, Feb. 2000.

FRIEDLAENDER, G. E. Bone Grafts: The Basic Science Rationale for Clinical Applications. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 69, no. 5, p. 786 – 790, June. 1987.

FREDERICKS, D. C. et al. Effects 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.

HALLIDAY, D. et al. **Fundamentos de Física: Eletromagnetismo**. 3. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1994. V.3. 334 p.

HUPP, J. R. Reparação das Feridas. In: PETERSON, L. J. et al. **Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. Cap. 4, p. 54-62.

JENSEN, J.; SINDET-PEDERSEN, S. Autogenous Mandibular Bone Grafts and Osseointegrated Implants for Reconstruction of the Severely Atrophied Maxilla: a Preliminary Report. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 49, no. 12, p. 1277-1287, Dec. 1991.

- KITTEL, C. Diamagnetism and Paramagnetism. In: _____. **Introduction to Solid State Physics**. 5. ed. John Wiley: New York, 1976. Cap. 14, p. 433-456.
- KOTANI, H. et al. Strong Static Magnetic Field Stimulates Bone Formation to a Definite Orientation *In Vitro* and *In Vivo*. **J. Bone Miner. Res.**, Washington, v. 17, no. 10, p. 1814-1821, Oct. 2002.
- KUSIAK, J. F.; ZINS, J. E.; WHITAKER, L. A. The Early Revascularization of Membranous Bone. **Plast. Reconstr. Surg.**, Hagerstown, v. 76, no. 4, p. 510-516, Oct. 1985.
- LIN, K. Y. et. al. The Effect of Rigid Fixation on the Survival os Onlay Bone Grafts: an Experimental Study. **Plast. Reconstr. Surg.**, Hagerstown, v. 86, no. 3, p. 449-456, Sept. 1990.
- LINDER-ARONSON, S.; LINDSKOG, S. A Morphometric Study of Bone Surfaces and Skin Reactions After Stimulation with Static Magnetic Fields in Rats. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, St Louis, v. 99, no. 1, p. 44-48, Jan. 1991.
- LINOVITZ, R. J. et al. Combined Magnetic Fields Accelerate and Increase Spine Fusion: a Double-Blind, Randomized, Placebo Controlled Study. **Spine**, Hangerstown, v. 27, no. 13, p. 1383-1389, July 1. 2002.
- 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.
- MILLER, G. J. et al. Eletromagnetic Stimulation of Canine Bone Grafts. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 66-A, no. 5, p. 693-698, June. 1984.
- NORTON, L. A.; HANLEY, K. J.; TURKEWICZ, J. Bioelectric Perturbations of Bone. **Angle Orthod.**, Appleton, v. 54, no. 1, p. 73-87, Jan. 1984.
- PURICELLI, E. A Multidisciplinaridade da Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais na Odontologia. In: _____. Vanzillotta, P. S.; Gonçalves, A. R. **Odontologia Integrada. Atualização Multidisciplinar para o Clínico e o Especialista**. Rio de Janeiro: Pedro Primeiro, 2000. Cap. 2, p. 59-94.

PURICELLI, E.; BARALDI, C. E. E.; CARDOSO, C. F. R. Princípios Cirúrgicos para Enxertos Ósseos nas Reconstruções Alveolares. In: _____. **Atualização Clínica em Odontologia**. São Paulo: Artes Médicas: APCD, 2004. Cap. 2, p. 13-35.

ROSS, M. H.; REITH, E. J.; ROMRELL, L. J. Osso. In: _____. **Histologia: Texto e Atlas**. 2. ed. São Paulo: Panamericana, 1993. Cap. 8, p. 141-180.

SCOTT, G.; KING, J. B. A Prospective, Double-Blind Trial of Electrical Capacitive Coupling in the Treatment of Non-Union of Long Bones. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v. 76-A, no. 6, p. 820-826, June. 1994.

SEYEDIN, S. M. Osteoinduction: a Report on the Discovery and Research of Unique Protein Growth Factors Mediating Bone Development. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 68, no. 4, p. 527-529, Oct. 1989.

SHAFER, W. G.; HINE, M. K.; LEVY, B. M. Cicatrização das Feridas Bucais. In: _____. **Tratado de Patologia Bucal**. 4. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1987. Cap. 11, p. 549-569.

SHARRARD, W. J. A Double-Blind Trial of Pulsed Electromagnetic Fields for Delayed Union of Tibial Fractures. **J. Bone Joint Surg. Br.**, Boston, v. 72-B, no. 3, p. 347-355, May. 1990.

SILVA, A. L. C.; MEI, P. R. **Tecnologia dos Aços**. São Paulo: Eletrometal, 1981. 380 p.

SIQUEIRA JÚNIOR., J. F.; DANTAS, C. J. S. Reparação Tecidual: Aspectos Biodinâmicos. In: _____. **Mecanismos Celulares e Moleculares da Inflamação**. Rio de Janeiro: Medsi, 2000. Cap. 17, p. 197-225.

TAKANO-YAMAMOTO, T.; KAWAKAMI, M.; SAKUDA, M. Effect of a Pulsing Electromagnetic Field on Demineralized Bone-Matrix-Induced Bone Formation in a Bony Defect in the Premaxilla of Rats. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 71, no. 12, p. 1920-1925, Dec. 1992.

TEN CATE, R. Osso. In: _____. **Histologia bucal: Desenvolvimento, Estrutura e Função**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. Cap. 7, p. 101-122.

TIPPLER, P. A. **Física: para Cientistas e Engenheiros**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 340 p.

ULBRICH, L. M. **Avaliação do Efeito de um Campo Magnético Permanente na Cicatrização Óssea em Fêmures de Ratos**. 2003. 96 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica- Área de Concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

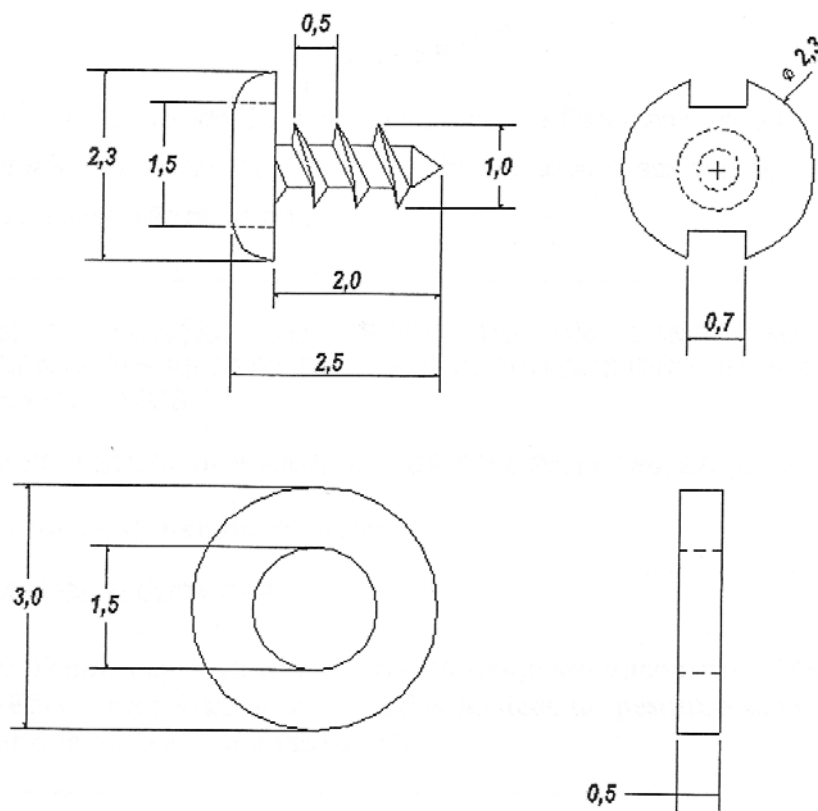
URIST, M. R.; DELANDE, R. J.; FINERMAN, G. A. M. Bone Cell Differentiation and Growth Factors. **Science**, Washington, v. 220, no. 4598, p. 680-686, May. 1983.

WASHKO, S. D.; AGGEN, G. Wrought Stainless Steels. In: **METALS Handbook**. 10 th ed. Ohio: ASM International, 1990. V.1. p. 841-907.

YAN, Q. C.; TOMIDA, N.; IKADA, Y. Effects of Static Magnetic Field on Bone Formation of Rat Femurs. **Med. Eng. Phys.**, London, v. 20, no. 6, p. 397-402, Sept. 1998.

ANEXOS

ANEXO A – Projeto gráfico das arruelas e parafusos

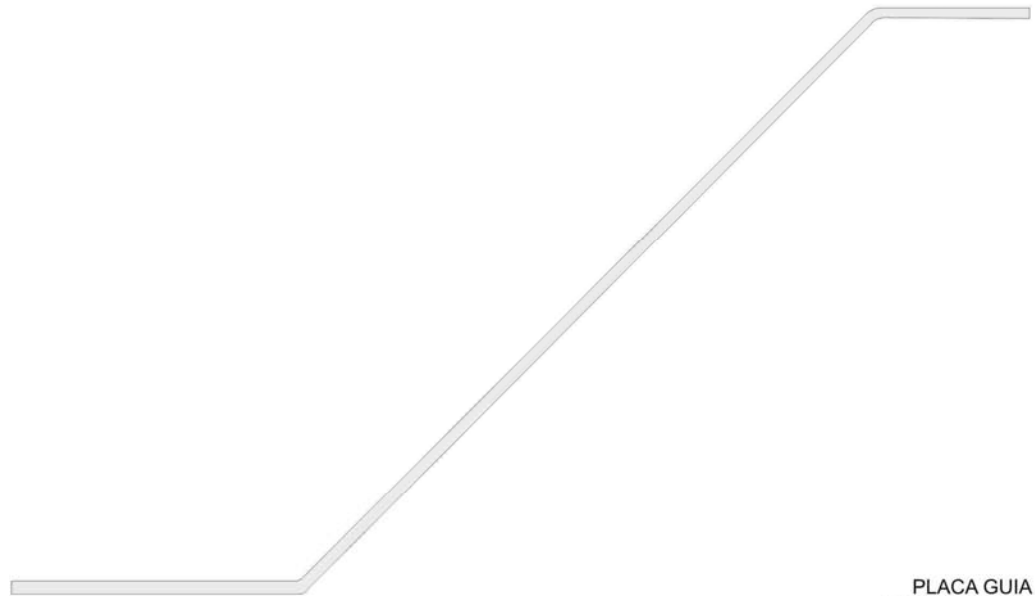


PROMM Indústria de Materiais Cirúrgicos Ltda

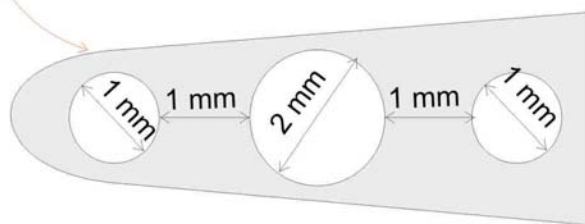
Medidas em milímetros


Arruela: aço inoxidável ASI 420

Parafuso: Titânio puro

ANEXO B – Projeto gráfico da placa-guiaPLACA GUIA
VISTA LATERALPLACA GUIA
VISTA SUPERIOR

ZOOM DA PEÇA



	Promm
Nome da peça: Placa Guia	
Material: Titânio puro	
Espessura: 0,5 mm	
Dimensões: mm	
Telefone: (051)3342 3136	

ANEXO C - Código Estadual de Proteção aos Animais

Lei Estadual Nº 11.915
21 de maio de 2003
Rio Grande do Sul

TÍTULO II CAPÍTULO I Dos Animais de Laboratório

Seção I Da Vivisseccção

Art. 18 - Considera-se vivisseccção os experimentos realizados com animais vivos em centros de pesquisas.

Art. 19 - Os centros de pesquisas deverão ser devidamente registrados no órgão competente e supervisionados por profissionais de nível superior, nas áreas afins.

Art. 20 - É proibida a prática de vivisseccção sem uso de anestésico, bem como a sua realização em estabelecimentos escolares de ensino fundamental e médio.

Parágrafo único - Os relaxantes musculares parciais ou totais não serão considerados anestésicos.

Art. 21 - Com relação ao experimento de vivisseccção é proibido:

I - realizar experiências com fins comerciais, de propaganda armamentista e outros que não sejam de cunho científico humanitário;

II - utilizar animal já submetido a outro experimento ou realizar experiência prolongada com o mesmo animal.

Art. 22 - Nos locais onde está autorizada a vivisseccção, deverá constituir-se uma comissão de ética, composta por, no mínimo, 03 (três) membros, sendo:

I - um (01) representante da entidade autorizada;

II - um (01) veterinário ou responsável;

III - um (01) representante da sociedade protetora de animais.

Art. 23 - Compete à comissão de ética fiscalizar:

- I- a habilitação e a capacidade do pessoal encarregado de prestar assistência aos animais;
- II - verificar se estão sendo adotados os procedimentos para prevenir dor e o sofrimento do animal, tais como aplicação de anestésico ou analgésico;
- III - denunciar ao órgão competente qualquer desobediência a esta Lei.

Art. 24 - Todos os centros de pesquisas deverão possuir os recursos humanos e materiais necessários a fim de zelar pela saúde e bem-estar dos animais.

Seção II Das Disposições Finais

Art. 25 - As penalidades e multas referentes às infrações definidas nesta Lei serão estabelecidas pelo Poder Executivo, em espécie.

Art. 26 - O Poder Executivo definirá o órgão estadual encarregado de fiscalizar o cumprimento das disposições desta Lei.

Art. 27 - O Poder Executivo regulamentará esta Lei no prazo de 30 (trinta) dias da data de sua publicação.

Art. 28 - Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 29 - Revogam-se as disposições em contrário.

PALÁCIO PIRATINI, em Porto Alegre, 21 de maio de 2003.

ANEXO D - Resolução Normativa 04/97 da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA

A) A Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde credenciada, junto a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Ministério da Saúde, como Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), vinculada ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com o objetivo de estabelecer normas para a utilização de animais em projetos de pesquisa submetidos à apreciação desta Comissão, com base nos princípios e normas internacionalmente aceitas, dispõe que:

a) a utilização de animais em pesquisas científicas deve ocorrer somente após ser provada a sua relevância para o avanço do conhecimento científico, considerando-se a impossibilidade de utilização de métodos alternativos como: modelos matemáticos; simulações computadorizadas; sistemas biológicos “in vitro” ou outro método adequado;

b) a espécie utilizada e o cálculo do tamanho da amostra devem ser adequados para a obtenção de resultados válidos;

c) deve ser oferecido alojamento, transporte, alimentação e cuidados adequados à espécie através de assistência qualificada;

d) procedimentos que possam causar dor ou angústia devem ser desenvolvidos com sedação, analgesia ou anestesia, salvo quando forem os mesmos o objetivo da pesquisa. Devem ser, igualmente, observados cuidados com assepsia e prevenção de infecções, assim como cuidados para minimizar o desconforto e estresse dos animais em estudo;

e) necessitando de imobilização física e/ou de privação alimentar ou hídrica, os pesquisadores devem procurar manter estas condições pelo menor período de tempo possível, evitando prolongar a angústia, desconforto e dor;

f) quando for necessário ao estudo, ou após o mesmo, se indicado, que os animais devam ser sacrificados, este procedimento deve ser realizado de forma rápida indolor e irreversível;

g) as técnicas aceitas para o sacrifício de animais são as seguintes: hipoxia por barbitúricos, anestésicos inalatórios, dióxido de carbono e monóxido de carbono (engarrafado), metanesulfonato de tricaína, benzocaína e irradiação por microondas;

h) as técnicas aceitas, de forma condicional, são as seguintes: hipoxia por deslocamento cervical, por nitrogênio ou argônio, decapitação, concussão cerebral e dano medular;

i) não serão aceitas, salvo exceções extremamente justificadas, as seguintes técnicas de sacrifício de animais: sangramento, descompressão, congelamento rápido, embolismo gasoso, afogamento, atordoamento, uso isolado de estriquinina, nicotina, sulfato de magnésio, cloreto de potássio, agentes curariformes, clorofórmio e cianeto.

Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA. Resolução Normativa 04/97 - Utilização de Recursos Financeiros em Projetos de Pesquisa. Aprovada na reunião conjunta das Comissões Científica e de Pesquisa e Ética em Saúde de 08 de maio de 1997.

ANEXO E - Parecer do comitê de ética em pesquisa da UFRGS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**RESOLUÇÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa e a Comissão de Pesquisas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisou o projeto:

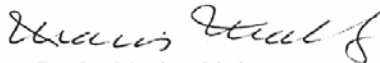
Número: 17/04

Título do projeto: AVALIAÇÃO DE UM CAMPO MAGNÉTICO NO REPARO DE DEFEITOS ÓSSEOS EM RATOS

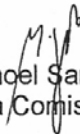
Investigador(es) principal(ais): Professoras Deise Ponzoni, Edela Puricelli e CD Nardier Borges Dutra

O mesmo foi aprovado na reunião do dia 16/03/2004, ata nº 03/04 do Comitê de Ética em Pesquisa e da Comissão de Pesquisas, da UFRGS, por estar adequado ética e metodologicamente, e de acordo com as normas de utilização de animais em projetos de pesquisa, conforme a Resolução Normativa 04/97, da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde GPPG/HCPA.

Porto Alegre, 18 de março de 2004.



Profa. Marisa Maltz
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa



Prof. Manoel Sant'Ana Filho
Coordenador da Comissão de Pesquisas