

Avaliação da aplicação de um campo magnético permanente sepultado em área de enxerto ósseo alógeno e dentoalveolar – estudo experimental em ratos

Evaluation of the application of a permanent buried magnetic field in area of bone allograft and dentoalveolar- experimental study in rats

Henrique Voltolini de Azambuja*
Edela Puricelli**
Deise Ponzoni**

Resumo

*Objetivo: O presente trabalho propõe o estudo histológico descritivo da aplicação de um campo magnético sepultado, estático e permanente em área de enxerto ósseo alógeno liofilizado e dentoalveolar associado a defeito cirúrgico em mandíbulas de ratos. Metodologia: Estudo experimental in vivo, randomizado. A amostra foi composta por 21 ratos, da espécie *Rattus norvegicus albinus*, linhagem Wistar, machos, divididos em três grupos correspondendo aos tempos experimentais de 7, 21 e 45 dias. Foram realizadas ostectomias associadas a odontossecções na face lateral externa do corpo mandibular e no ramo ascendente, atingindo transversalmente a raiz do incisivo inferior e os ápices dos molares. Esse defeito cirúrgico permitiu a adaptação de dispositivos metálicos magnetizados (grupo teste) e não magnetizados (grupo controle) associados às regiões apicais dos molares e ao coto distal do incisivo inferior, local onde se realizou enxertia óssea alógena liofilizada. A intensidade média do campo magnético sepultado e permanente foi de 250 gauss. Resultados: Observou-se no grupo teste e controle, nos diferentes tempos experimentais, a gradativa integração do enxerto ósseo alógeno liofilizado, a manutenção da vitalidade pulpar dos molares e coto proximal do incisivo inferior, além da contínua erupção do incisivo inferior do rato. Nos grupos teste, principalmente aos 45 dias, constatou-se uma diferenciada e exuberante neofor-*

mação óssea centrípeta em direção aos dispositivos metálicos imantados. Conclusão: o campo magnético sepultado in vivo foi capaz de favorecer o processo de cicatrização óssea no defeito cirúrgico criado.

Palavras-chave: Cirurgia bucomaxilofacial. Campo magnético estático. Cicatrização alveolar. Enxerto ósseo alógeno liofilizado.

Introdução

A constante busca por soluções que possam oferecer os melhores resultados clinicocirúrgicos aos pacientes está presente na prática diária da cirurgia e traumatologia bucomaxilofacial. Nesse contexto, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas, fundamentais para o aparecimento e a consolidação científica das condutas terapêuticas.

Dessa maneira, os enxertos ósseos já consagrados são amplamente utilizados no tratamento de várias afecções do esqueleto, no preenchimento de cavidades ou como suporte estrutural nas falhas ósseas segmentares, nas reconstruções bucomaxilofaciais, no tratamento de defeitos ósseos após cirurgias de tumores benignos e cistos, entre outros¹⁻⁵.

* Cirurgião-dentista, mestre em Clínica Odontológica (cirurgia e traumatologia bucomaxilofacial), Faculdade de Odontologia Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

** Doutoradas em CTBMF, professoras do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (cirurgia e traumatologia bucomaxilofacial), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Leite⁶ (2005), em estudo experimental em ratos, avaliou a capacidade do espaço alveolar como leito ósseo para estudo de enxertias. O autor concluiu que o enxerto ósseo alógeno liofilizado evoluiu favoravelmente no processo de incorporação a partir de um leito receptor criado no alvéolo dentário. A dinâmica da erupção dentária pode criar força em padrão fisiológico para testar a resistência e estabilidade do enxerto ósseo cicatrizado.

Contribuindo com os diferentes tratamentos, as pesquisas avançam em relação à investigação dos efeitos biológicos dos campos magnéticos. O campo magnético permanente e sepultado apresenta-se como um importante auxiliar na aceleração do reparo e neoformação óssea, além de favorecer o processo de integração de enxertos ósseos⁷⁻¹⁰.

O presente trabalho propõe o estudo histológico da aplicação de um campo magnético sepultado, estático e permanente em área de enxerto ósseo alógeno liofilizado e dentoalveolar associada a defeito cirúrgico em mandíbulas de ratos.

Materiais e método

Foi realizado estudo experimental *in vivo* e randomizado. A amostra foi composta por 21 ratos masculinos da espécie *Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Wistar*, divididos em três grupos, correspondendo aos tempos experimentais de 7, 21 e 45 dias. O experimento seguiu o protocolo experimental realizado por Puricelli (2003)¹, com a aplicação de um campo magnético sepultado em área de enxerto⁹.

Foram realizadas osteotomias associadas a odontosseccões na face lateral externa do corpo e ramo mandibulares, atingindo transversalmente a raiz do incisivo inferior e os ápices dos molares. Esse defeito em forma aproximada de “L” cirúrgico permitiu a adaptação de dispositivos metálicos magnetizados (grupo teste) e não magnetizados (grupo controle) associados às regiões apicais dos molares e ao coto distal do incisivo inferior, local onde se realizou a enxertia óssea alógena liofilizada (Fig. 1 e 2).

O enxerto utilizado proveniente de ratos foi obtido a partir de fêmures e preparado junto ao Serviço de Ortopedia e Traumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Em seguida, o processo de liofilização baseou-se no protocolo de Kakiuchi e Ono¹¹ (1998), o qual utilizou o enxerto na forma particulada, obtida pela trituração manual. Os dispositivos metálicos não magnetizados de titânio e magnetos de neodímio, ferro, boro (Nd, Fe, B) com campo magnético médio de 250 gauss de potência foram sepultados nas hemimandíbulas dos animais. Esses dispositivos se apresentavam na forma discoide, medindo 3 mm de diâmetro e 1 mm de espessura.

Os animais foram eutanasiados nos tempos experimentais previamente determinados; logo após,

realizou-se o preparo histológico pela técnica da hematoxilina e eosina e, subsequentemente, seguiu-se a avaliação descritiva das lâminas.

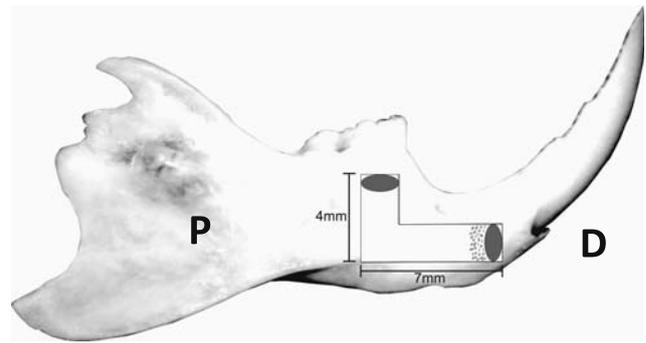


Figura 1 - Representação esquemática da vista lateral da hemimandíbula direita do rato. Segmento proximal (P) e distal (D). Observa-se o defeito dentoalveolar resultante de osteotomias e odontosseccões. Dispositivos metálicos (vermelho) em regiões apicais de molares e coto incisivo proximal. Partículas de enxerto ósseo alógeno liofilizado (verde) adjacentes ao dispositivo metálico no coto incisivo distal

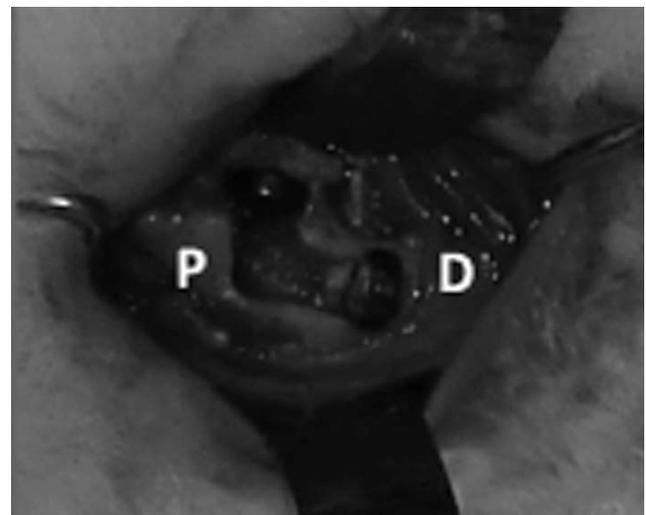


Figura 2 - Imagem transcirúrgica da região submandibular direita do rato. Segmento proximal (P) e segmento distal (D). Dispositivos metálicos posicionados e enxerto ósseo alógeno liofilizado compactado na proximidade do dispositivo metálico distal

Resultados

Histologicamente, observaram-se a reação tecidual alveolar osteotomizada à presença ou não do enxerto, a possível influência dos campos magnéticos, progressiva erupção do incisivo (coto proximal), assim como a discreta extrusão do incisivo (coto distal). O comportamento do tecido pulpar nas estruturas radiculares do primeiro molar e incisivo inferiores também foi observado.

Aos sete dias de experimento no grupo de controle, verificou-se a presença tanto do segmento incisivo proximal quanto do distal, ambos em seus trajetos alveolares. Identificou-se a área de solução de continuidade preenchida por tecido conjuntivo fibroso exuberante, altamente vascularizado. O en-

xerto ósseo alógeno liofilizado, em continuidade com o coto distal, apresentou-se basófilo (Fig. 3).

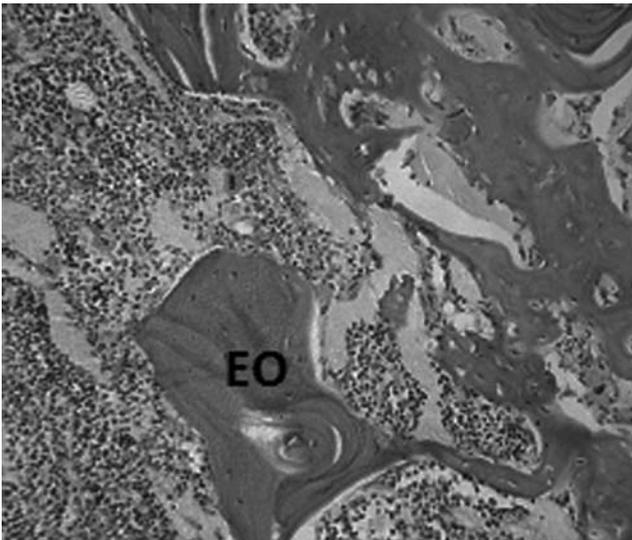


Figura 3 - Fragmentos do enxerto ósseo alógeno liofilizado (EO) associados à área incisiva, coto distal. Enxerto levemente basófilo. Observa-se a presença de hemorragia e infiltrado inflamatório. Grupo de controle aos sete dias. HE. Aumento original 160x

Aos sete dias, no grupo teste verifica-se a presença de fragmentos do enxerto ósseo alógeno liofilizado em processo de integração associado ao dispositivo magnetizado, região de coto incisal distal. Destaca-se a presença de osteoblastos na estrutura enxertada (Fig. 4).

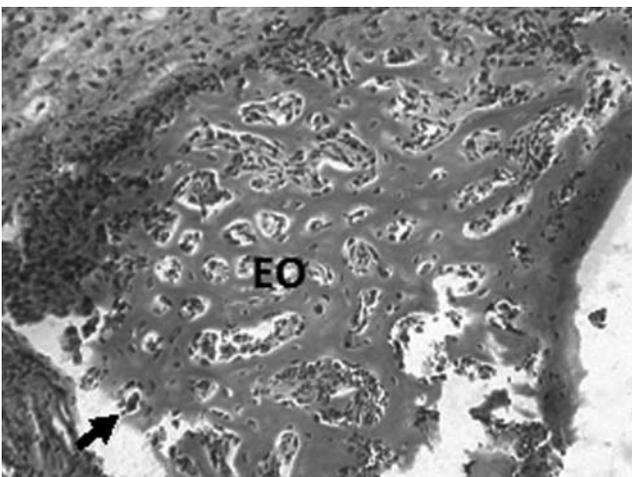


Figura 4 - Fragmentos do enxerto ósseo alógeno liofilizado (EO) associados à área incisiva, coto distal. Observa-se a presença de osteoblastos (seta) associados à matriz óssea jovem. Grupo teste aos sete dias. HE. Aumento original 64x

Aos 21 dias, no grupo teste observa-se que o tecido pulpar em coto incisivo proximal mantém um tampão inflamatório junto à área exposta, com formação de dentina terciária (Fig. 5).

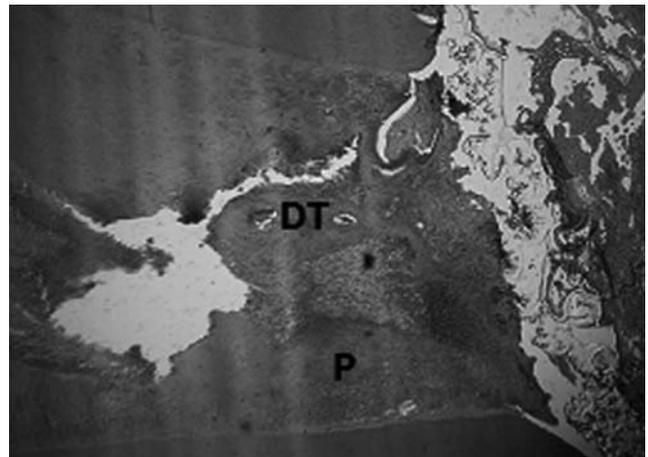


Figura 5 - Estrutura pulpar (P) do coto proximal do incisivo inferior. Presença de dentina terciária (DT). Grupo teste aos 21 dias. HE. Aumento original 64x

No grupo de controle aos 45 dias, na região de molares, evidenciou-se discreta formação de tecido ósseo contornando o espaço preenchido pelo dispositivo metálico associado à fibroplasia. Os molares mantiveram sinais compatíveis com vitalidade pulpar (Fig. 6).

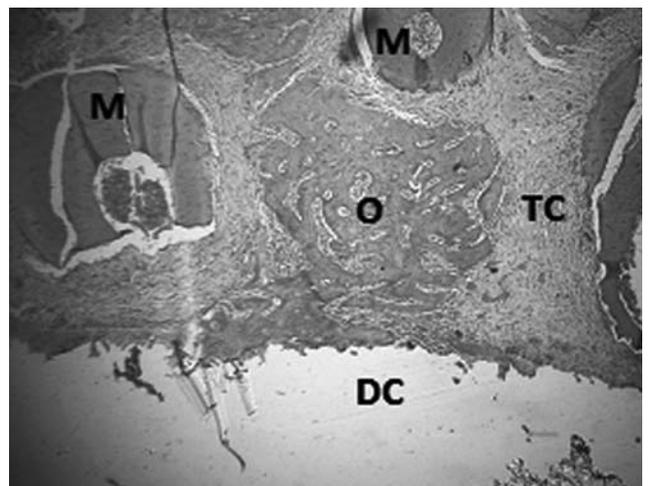


Figura 6 - Área de neoformação óssea (O) associada ao dispositivo metálico na região de molares (M). Tecido conjuntivo (TC). Defeito cirúrgico experimental (DC). Grupo de controle aos 45 dias. HE. Aumento original 64x

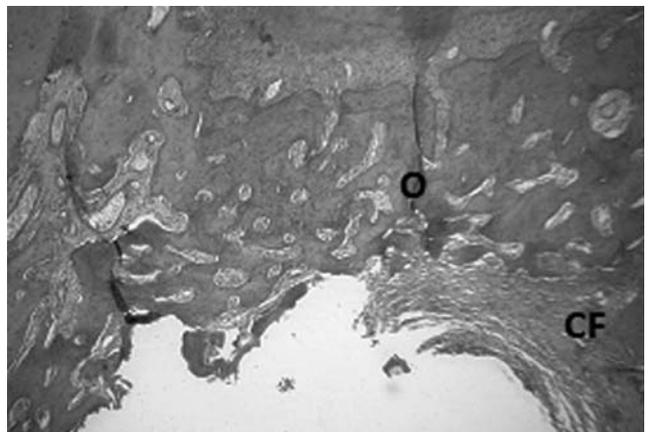


Figura 7 - Área de exuberante neoformação óssea (O) associada ao dispositivo metálico em sentido centripeto, região de molares. Presença de cápsula fibrosa (CF). Grupo teste aos 45 dias. HE. Aumento original 64x

Diversos autores utilizam campos magnéticos estáticos para avaliar respostas teciduais *in vivo*^{7-10, 12-18}. Entretanto, apenas a partir do método desenvolvido por Puricelli¹ (2003) os magnetos foram posicionados internamente aos animais⁷⁻¹⁰. O presente trabalho seguiu este método, utilizando campo magnético permanente, estático e sepultado¹⁹.

Optou-se na pesquisa pela utilização de magnetos de NdFeB, por apresentarem alta intensidade de campo magnético, baixo custo, boa resistência e temperatura crítica de 200 °C²⁰. Por serem ímãs permanentes anisotrópicos, têm a propriedade de criar campos magnéticos constantes e estáveis, com orientação molecular aleatória, garantindo a intensidade do campo magnético em todos os tempos experimentais²¹⁻²².

A intensidade do campo magnético foi comprovada macroscopicamente durante a necropsia dos animais para obtenção das peças. Durante a remoção dos magnetos, eles mantiveram as mesmas intensidades de atração e repulsão apresentadas no momento do experimento. Consequentemente, o campo magnético não foi alterado no decorrer de todos os tempos da pesquisa²¹⁻²².

O enxerto ósseo alógeno foi utilizado nesta pesquisa por estar disponível em grande escala e não apresentar complicações relacionadas com a área doadora, quando comparado aos enxertos autógenos. O procedimento cirúrgico foi mais conservador, com redução do tempo anestésico-cirúrgico, da perda sanguínea e da morbidade cirúrgica^{4,6}.

O início do processo de integração do enxerto pôde ser observado já aos sete dias pós-operatórios nos grupos teste e de controle. Verificou-se a presença de hematoma circundando as partículas enxertadas e vasos sanguíneos invadindo a estrutura esponjosa. Esses achados concordam com Friedlander²³ (1987) e Leite⁶ (2005), que afirmam ser esse momento o início da atividade de osteoindução do enxerto ósseo alógeno liofilizado.

Na avaliação dos segmentos dentários proximais e distais do incisivo e dos molares inferiores, aos sete dias verificaram-se tanto no grupo de controle quanto no teste alterações no tecido pulpar. Nos segmentos proximais dos incisivos e dos molares inferiores não foram evidenciados sinais de necrose pulpar. No coto distal constatou-se desorganização tecidual com presença de células inflamatórias e necrose. O processo resulta da ruptura vascular e do comprometimento nutricional da polpa, à semelhança do que acontece em dentes humanos após lesão de continuidade na estrutura radicular, como já relatado por Andreasen e Andreasen²⁴ (2001) e Leite⁶ (2005). No coto distal, além do comprometimento pulpar há limitado suporte periodontal, o que, de acordo com Soares e Goldberg²⁵ (2001), contribuiria para nutrição dos tecidos.

As regiões do coto proximal do incisivo e dos molares inferiores apresentaram sinais compatíveis com vitalidade pulpar no grupo teste e de controle

em todos os períodos experimentais. Aos 21 dias, no grupo teste observou-se no coto proximal do incisivo inferior a presença de sinais de cicatrização, com a formação de um tampão de dentina terciária. Assim como relatado por Leite⁶ (2005), o tecido pulpar manteve sua vitalidade, reagindo na forma de cicatrização dentinária similar ao dente humano, por Andreasen e Andreasen²⁴ (2001).

Sugere-se que a estabilidade do posicionamento do enxerto ósseo alógeno liofilizado esteja relacionada à presença do dispositivo metálico, servindo como anteparo mecânico estável. O contínuo estímulo de mastigação associado ao tipo de dieta dos animais pode ter sido responsável pela extrusão.

No grupo de controle, nos diferentes períodos experimentais, observou-se a presença do processo de cicatrização óssea fisiológico, com a gradual presença de neoformação óssea. A atividade osteoblástica iniciou-se aos sete dias, evoluindo para um osso mais maduro aos 45 dias pós-operatórios²⁶⁻²⁹.

Nos grupo teste, aos 21 dias verificou-se o início de neoformação óssea centrípeta nas regiões associadas aos dispositivos metálicos imantados. Aos 45 dias, observou-se exuberante neoformação óssea nas mesmas regiões. Esses achados corroboram o fato de que o campo magnético pode favorecer o processo de cicatrização óssea *in vivo*^{7-10, 12-18}.

A realização de uma ostectomia vertical em direção aos ápices dos molares inferiores, modificando a cavidade cirúrgica experimental de Leite⁶ (2005), resultou, nesta pesquisa, em uma cavidade cirúrgica na forma de "L". O defeito cirúrgico permitiu a adaptação de dispositivos metálicos associados às regiões apicais dos molares e ao coto distal do incisivo inferior. Estabeleceu-se um campo magnético constante, estático e sepultado em área de defeito dentoosseoalveolar, onde está presente o processo contínuo e dinâmico de erupção dentária.

A manutenção da média de 250 gauss de potência do campo magnético esteve presente nos diferentes períodos experimentais, compatível com o tipo de liga utilizada e com as características apresentadas pelos ímãs permanentes^{21, 22}.

As pesquisas de estimulação do tecido ósseo, especialmente em região dentoalveolar, são promissoras. A busca de novas tecnologias, o aprimoramento dos protocolos de execução e a avaliação dos resultados certamente permitirão, no futuro, uma evolução significativa nas condutas terapêuticas.

Conclusão

Após a realização deste estudo foi possível concluir:

- a configuração do tecido ósseo associada aos dispositivos metálicos imantados, no grupo teste, especialmente aos 45 dias pós-operatórios, pressupõe que a atividade e a estimulação da cicatrização óssea foram influenciadas positivamente pela ação do campo magnético permanente;
- o tecido pulpar, do incisivo inferior (coto proximal) e dos molares manteve sinais compatíveis com vitalidade, reagindo na forma de reparação dentinária, nos grupos teste e de controle, nos diferentes tempos experimentais;
- o incisivo inferior do rato submetido à odontosecção seguiu seu processo de crescimento e erupção em seu segmento proximal nos grupos teste e de controle;
- o enxerto ósseo alógeno liofilizado sofreu processo de integração a partir do leito criado no alvéolo dentário, nos grupos teste e controle;
- são necessários novos estudos com análises histomorfométricas e estatística para mensurar com exatidão o crescimento ósseo guiado por campos magnéticos.

Abstract

Objective: the objective of this paper is to provide a descriptive histological analysis of the use of a buried, static and permanent magnetic field in lyophilized bone allografts in a dentoalveolar area associated with surgical defects in rat mandibles. A randomized in vivo experimental study was achieved with 21 male Wistar rats (Rattus norvegicus albinus), which were divided into three groups, corresponding to 7, 21 and 45 experimental days. Osteotomies associated with odontotomies were performed on the outer lateral face of the mandibular body and in the ascending branch, cross-sectionally to the root of the lower incisor and to the molar apices. This surgical defect allowed the use of magnetized (test group) and non-magnetized (control group) metal devices associated with molar apices and distal stump of the lower incisor, where the lyophilized bone allograft was performed. The intensity of the buried and permanent magnetic field was 250 gauss. In the test and control groups, there was gradual integration of the lyophilized bone allograft, maintenance of pulp vitality of the molars and proximal stump of the lower incisor, in addition to continuous eruption of the lower incisor. In the test groups, especially at 45 days, there was distinct and pronounced centripetal new bone formation towards the magnetized metal devices. In conclusion, the in vivo buried magnetic field favored bone healing at the site of the surgical defect.

Key words: Oral and maxillofacial surgery. Static magnetic field. Alveolar wound healing. Lyophilized bone allograft.

Referências

1. Gazdag AR, Lane JM, Glaser D, Forster RA. Alternatives to autogenous bone graft: efficacy and indications. *J Am Acad Orthop Surg* 1995; 3(1):1-8.
2. Puricelli E, Baraldi CE, Cardoso CFR. Princípios cirúrgicos para enxertos ósseos nas reconstruções alveolares. In: Gonçalves EAN, Gentil SN. *Atualização Clínica em Odontologia*. São Paulo: Artes Médicas; 2004. p.13-35.
3. Galia CR, Rosito R, Mello TM, Macedo C. Uso de enxerto ósseo homólogo e heterólogo em diáfise femoral de ratos: comparação entre enxerto ósseo congelado e liofilizado. *Rev Bras Ortop* 2005; 40(3):141-6.
4. Mozella AP, Araújo Neto CAS, Fernandes MBC, Regado ER. Análise epidemiológica da obtenção, processamento e utilização de enxertos homólogos pelo banco de tecidos. *R Into* 2005; 3(1):34-40.
5. Puricelli E, Baraldi CE, Paris MF. Reconstruções ósseas alveolares. In: *Net Odonto. Da construção à expressão: Livro Virtual 23º CIOSP*. São Paulo: 2005. Available from: URL:<http://www.netodonto.com.br/lmsbuilder/ciosp/indice.asp>.
6. Leite MGT. Avaliação radiográfica e histológica do efeito de osso alógeno liofilizado enxertado em área dentada em crescimento: estudo experimental em ratos [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005.
7. Ulbrich LM. Avaliação do efeito de um campo magnético permanente na cicatrização óssea em fêmures de ratos [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2003.
8. Dutra NB. Avaliação histológica da aplicação de um campo magnético em enxertos ósseos autógenos de ratos [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005.
9. Puricelli E, Ulbrich LM, Ponzoni D, Cunha Filho JJ. Histological analysis of the effects of a static magnetic field on bone healing process in rat femurs. *Head Face Med* 2006; 2:43.
10. Puricelli E, Dutra NB, Ponzoni D. Histological evaluation of the influence of magnetic field application in autogenous bone grafts in rats. *Head Face Med* 2009; 5:1.
11. Kakiuchi M, Ono K. Defatted, gás-sterilised cortical bone allograft for posterior lumbar interbody vertebral fusion. *Int Orthop* 1998; 22(2):69-76.
12. Bruce GK, Howlett CR, Huckstep RL. Effect of a static magnetic field on fracture healing in a rabbit radius. *Clin Orthop Relat Res* 1987; 222:300-6.
13. Darendeliler MA, Sinclair PM, Kusy RP. The effects of samarium-cobalt magnets and pulsed electromagnetic fields on tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995; 107(6):578-88.
14. Darendeliler MA, Darendeliler A, Sinclair PM. Effects of static magnetic and pulsed electromagnetic fields on bone healing. *Int J Adult Orthodon Orthognath Surg* 1997; 12(1):43-53.
15. Turk Z. Bone healing and biochemical blood parameters after artificial osteotomy of rabbits femur treated by low-frequency magnetic field. *Wien Klin Wochenschr* 2001; 113(3):47-52.
16. Tengku, BS, Joseph BK, Harbrow D, Taverne AAR, Symons AL. Effect of a static magnetic field on orthodontic tooth movement in the rat. *Eur J Orthod* 2000; 22(5):475-87.
17. Linovitz RJ, Pathria M, Bernhardt M, Green D, Law MD, McGuire RA, et al. Combined magnetic fields accelerate and increase spine fusion: a double-blind, randomized, placebo controlled study. *Spine* 2002; 27(13):1383-9.

18. Singh P, Yashroy RC, Hoque M. Augmented bone-matrix formation and osteogenesis under magnetic field stimulation *in vivo* XRD, TEM and SEM investigations. *Indian J Biochem Biophys* 2006; 43(3):167-72.
19. Schwengber MMB. Reparo ósseo após enxerto ósseo autógeno e implante de hidroxiapatita absorvível granulada sob influência de campo magnético estático: estudo experimental em calvária de ratos [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2009.
20. Campbell P. Permanent magnet materials and their application. Reprint edition. Cambridge: Cambridge University Press; 1996.
21. Cullity BD. Introduction to Magnetic Materials. 1. ed. Massachusetts: Addison-Wesley; 1972.
22. Halliday D, Resnick R, Walker J. Fundamentos da Física: Eletromagnetismo. 3. ed. Rio de Janeiro: LTC; 1994.
23. Friedlander GE. Bone Grafts: the basic science rationale for clinical applications. *J Bone Joint Surg Am* 1987; 69(5):786-90.
24. Andreasen JO, Andreasen FM. Texto e Atlas Colorido de Traumatismo Dental. 3. ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 2001.
25. Soares IJ, Goldberg F. Endodontia: técnica e fundamento. 1. ed. Porto Alegre: Artmed; 2002.
26. Carvalho ACP, Okamoto T. Reparação do alvéolo dental. In: Cirurgia bucal: fundamentos experimentais aplicados à clínica. 1. ed. São Paulo: Panamericana; 1987.
27. Rasmusson I. On implant integration in membrane-induced and grafted bone [Dissertação de Mestrado]. Goteborg: Institute for Surgical Sciences, Goteborg University; 1998.
28. Ten Cate AR. Osso. In: Histologia Bucal: Desenvolvimento, Estrutura e Função. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
29. Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. Anatomia, embriologia e histologia Bucal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed; 2004.

Endereço para correspondência:

Henrique Voltolini de Azambuja
Rua Neusa Brizola 500/604, Petrópolis
90460-230 Porto Alegre - RS
Fone: (51) 92386366
E-mail: hva08@yahoo.com.br