

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

*Este exemplar foi  
quidaculmente corrigido  
prof. Dr. 0363/8  
Resolução CCPA/  
Piracicaba - 11-12-96*

CLÁUDIA JORDÃO SILVA

Cirurgiã - Dentista

**EFEITO DA ELETROESTIMULAÇÃO SOBRE O PROCESSO DE REPARO  
DE CAVIDADE ÓSSEA CIRÚRGICA, COM OU SEM ENXERTO ÓSSEO.  
ESTUDO HISTOLÓGICO EM CALVÁRIA DE COELHOS**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de  
Piracicaba - Universidade Estadual de Campinas  
para obtenção de grau de Mestre em Clínica  
Odontológica - Área de Cirurgia Buco-Maxilo-Facial

PIRACICABA - SP

1996

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

CLÁUDIA JORDÃO SILVA ✧

Cirurgiã - Dentista

**EFEITO DA ELETROESTIMULAÇÃO SOBRE O PROCESSO DE REPARO  
DE CAVIDADE ÓSSEA CIRÚRGICA, COM OU SEM ENXERTO ÓSSEO.  
ESTUDO HISTOLÓGICO EM CALVÁRIA DE COELHOS**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de  
Piracicaba - Universidade Estadual de Campinas  
para obtenção de grau de Mestre em Clínica  
Odontológica - Área de Cirurgia Buco-Maxilo-Facial

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ RICARDO DE ALBERGARIA-BARBOSA ✧

F.O.P. UNICAMP

PIRACICABA - SP

1996

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA FOP/UNICAMP

	Silva, Cláudia Jordão
S38e	Efeito da eletroestimulação sobre o processo de reparo de cavidade óssea cirúrgica, com ou sem enxerto ósseo. Estudo histológico em calvária de coelho / Cláudia Jordão Silva. - Piracicaba, SP: [s.n.],1996. 100f.; il. Orientador: José Ricardo de Albergaria - Barbosa Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.  1. Ossos - crescimento. 2. Ossos - enxerto. 3. Coelho como animal de laboratório. 4. Eletroterapia. I. Albergaria - Barbosa, José Ricardo. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.  19. CDD - 591.47 615.845

Índices para o Catálogo Sistemático

1. Esqueleto	591.47
2. Eletroterapia	615.845



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Mestrado**, em sessão pública realizada em 02/12/96, considerou o candidato aprovado.

1. José Ricardo de Albergaria Barbosa

A handwritten signature in cursive script, written over a horizontal line.

2. Alexandre Augusto Zaia

A handwritten signature in cursive script, written over a horizontal line.

3. Darceny Zanetta Barbosa

A handwritten signature in cursive script, written over a horizontal line.

## **Dedico**

Aos meus pais **Jacob e Lúcia**, pelo incentivo e confiança em mim depositados, indispensáveis à realização deste trabalho

Ao meu esposo **Nilton**,  
pelo carinho e compreensão nos momentos bons e difíceis

À minha avó, **Olga** pelo exemplo de vida e perseverança.

## **Agradecimentos Especiais**

**Ao Prof. Dr. José Ricardo de Albergaria Barbosa**, orientador deste trabalho, pela atenção, incentivo e dedicação que permitiram a realização deste sonho;

**Ao Prof. Dr. Luis Augusto Passeri**, pela confiança e ensinamentos transmitidos;

**Ao Prof. Dr. Darceny Zanetta Barbosa** pelo apoio e incentivo; por ter ensinado a técnica cirúrgica e pelas valiosas considerações;

**Ao Prof. Dr. Aparecido Eurípedes Onório Magalhães** pela capacidade infinita de transmitir conhecimentos, e por ser responsável pelo início de minha carreira.

## **Agradecimentos**

Aos Professores da disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Universidade Federal de Uberlândia, **Aparecido Eurípedes Onório Magalhães, Darceny Zanetta Barbosa, Fausto Borges Campos, Iris Malagoni Marquez, José Augusto G.P.Oliveira e José Mariano Carvalho Costa**, pelo incentivo a minha capacitação profissional;

Aos Professores da disciplina de Cirurgia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, **José Ricardo de Albergaria Barbosa, Luis Augusto Passeri, Ronaldo Célio Mariano, Renato Mazzoneto e Márcio de Moraes**, pelos ensinamentos transmitidos;

**Ao Prof. Dr. Antônio Wilson de Almeida**, professor titular da disciplina de Histologia da Universidade Federal de Uberlândia, pela colaboração no processamento das peças e análise histológica;

**Ao Prof. Dr. José Ranali** da disciplina de Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP pelo auxílio com a anestesia dos animais;

À empresa **Healtec Eletromedicina Ltda**, na pessoa do **Sr. Francisco de Leon Salgado**, pelo fornecimento do aparelho de eletroestimulação;

Aos colegas **Jan Peter Ilg e Ralf Gobbo Liza** pela troca de informações e amizade durante este longo período;

Às amigas **Rosana Ono e Vanessa Cristina Mendes** pelo apoio nos bons e maus momentos;

Ao **Sr. Luís Guedes**, funcionário do biotério da Faculdade de odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela carinho dispensado a mim e aos animais;

A bibliotecária **Sueli Duarte Oliveira Soliani**, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela orientação nas referências bibliográficas;

Às funcionárias **Maria de Fátima Pereira e Wilma Vieira da Silva**, do Setor de Comutação e Pesquisa Bibliográfica da Universidade Federal de Uberlândia, pelo empenho na solicitação dos artigos científicos;

À funcionária **Ângela Maria Pereira**, do Setor de Patologia da Universidade Federal de Uberlândia, pelo processamento das lâminas;

Ao funcionário **Hélgio Heinisch Werneck**, do Setor de Histologia da Universidade Federal de Uberlândia pela colaboração na elaboração das fotografias histológicas;

À **Ana Cristina Reis Faria** pela revisão ortográfica e gramatical deste trabalho;

E a todos que colaboraram de alguma forma com este trabalho, o meu sincero reconhecimento.

## SUMÁRIO

<b>1. LISTA</b>	<b>1</b>
<b>2. RESUMO</b>	<b>6</b>
<b>3. INTRODUÇÃO</b>	<b>9</b>
<b>4. REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>16</b>
<b>5. PROPOSIÇÃO</b>	<b>45</b>
<b>6. MATERIAIS E MÉTODO</b>	<b>47</b>
<b>6.1. Animais e Anestesia</b>	<b>48</b>
<b>6.2. Procedimento Cirúrgico</b>	<b>48</b>
<b>6.3. Estimulação elétrica</b>	<b>49</b>
<b>6.4. Sacrificios dos animais</b>	<b>50</b>
<b>6.5. Método Histológico</b>	<b>51</b>
<b>7. RESULTADOS</b>	<b>55</b>
<b>8. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS</b>	<b>63</b>
<b>9. CONCLUSÃO</b>	<b>77</b>
<b>10. ANEXO</b>	<b>79</b>
<b>11. SUMMARY</b>	<b>100</b>
<b>12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>103</b>

**LISTA**

## **1. LISTA**

### **1.1. Tabela**

### **Folha**

**Tabela 1-** Distribuição dos animais e períodos de sacrifício

52

### **1.2. Esquema**

**Esquema 1-** Divisão das peças para inclusão e corte

54

### **1.3. Figuras**

**Figura 1-** Tricotomia da calvária

80

**Figura 2-** Osteotomia nos parietais

80

**Figura 3-** Estimulação elétrica dos animais

81

**Figura 4-** Aparelho de estimulação elétrica

81

**Figura 5-** Região limite entre o osso pré-existente com corticais bem definidas rodeando uma área de tecido medular (t.m.) e osso neoformado com aspecto difuso e desorganizado (on). Grupo I, 4 semanas. H.E. 112X.

82

**Figura 6-** Região limite com tentativa de invaginação de tecido conjuntivo fibroso (seta), sem conexão direta entre os dois bordos ósseos. Grupo I, 4 semanas. T.M. 112X.

82

**Figura 7-** Visão panorâmica da região osteotomizada. Observar o limite entre o osso neoformado (on) e o osso pré-existente, sem conexão entre os bordos (seta). Grupo I, 4 semanas. T.M. 112X.

83

**Figura 8-** Visão panorâmica da região osteotomizada. Observar o

84

enxerto iniciando processo de revascularização. Grupo II, 4 semanas. T.M. 112X.

- Figura 9-** Região limite entre o osso pré-existente e o osso neoformado, com duas corticais nítidas (seta), invaginação de tecido conjuntivo fibroso e bastante osso na porção central. Grupo II, 4 semanas. T.M. 175X. 85
- Figura 10-** Visão panorâmica da região central osteotomizada. Presença de grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso (seta) e bordas ósseas tendendo ao afilamento e revascularização(★). Grupo III, 4 semanas. T.M. 112X. 86
- Figura 11-** Região limite entre o osso pré-existente e o osso neoformado (seta). Observar tecido ósseo neoformado e revascularizado (on) interposto por tecido conjuntivo fibroso. Grupo III, 4 semanas. H.E. 112X. 87
- Figura 12-** Visão panorâmica da região osteotomizada. Toda a região central do enxerto (setas) encontra-se revascularizada, recalcificada e remodelada. Grupo IV, 4 semanas. T.M. 112X. 88
- Figura 13-** Visão panorâmica da região central da osteotomia. Notar interposição de tecido conjuntivo fibroso (seta) e trabéculas de tecido ósseo neoformado (t). Grupo I, 8 semanas. T.M. 112X. 89
- Figura 14-** Visão panorâmica da região osteotomizada. Observar revascularização do enxerto (seta) mostrando um estágio mais avançado do processo de reparo. Grupo II, 8 semanas. T.M. 112X. 90
- Figura 15-** Visão panorâmica da região osteotomizada. Porção central com grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso (seta) interposto com algumas porções de tecido ósseo neoformado (on). Grupo III, 8 semanas. T.M. 140X. 91
- Figura 16-** Visão panorâmica da região osteotomizada. Presença do enxerto totalmente revascularizado mostrando avançado grau de reparação 92

(seta). Grupo IV, 8 semanas. H.E. 140X.

- Figura 17-** Visão panorâmica da região limite entre o osso pré-existente e o osso neoformado. Na região central grande quantidade de tecido conjuntivo interposto (seta) com áreas de osso neoformado (on) sem união de um lado a outro. Grupo I, 15 semanas. T.M. 140X. 93
- Figura 18-** Visão panorâmica da região osteotomizada com osso pré-existente bilateral. Na porção central (seta) grande quantidade de tecido ósseo vascularizado que não atravessa de um lado a outro, interposto por tecido conjuntivo fibroso (setas). Grupo I, 15 semanas. H.E. 175X. 94
- Figura 19-** Visão panorâmica da região osteotomizada. Região central com grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso (seta), associado a ilhotas de tecido ósseo (on) e bordas ósseas com extremidades afiladas (★). Grupo I, 15 semanas. H.E. 175X. 95
- Figura 20-** Visão panorâmica da região osteotomizada. Observar enxerto (seta) totalmente revascularizado e com tecido medular. Pequena quantidade de tecido conjuntivo fibroso interposto (setas). Grupo II, 15 semanas. T.M. 112X. 96
- Figura 21-** Visão panorâmica da região osteotomizada. Tendência a formação de duas corticais ( c ) com intensa revascularização (seta). Grupo III, 15 semanas. H.E. 175X. 97
- Figura 22-** Visão panorâmica da região osteotomizada. Não há diferença significativa entre o osso pré-existente e o enxerto. Presença de trabéculas (t) e calo ósseo (co). Grupo IV, 15 semanas. 17. H.E. 112X. 98
- Figura 23-** Visão panorâmica da região central do enxerto. Grandes áreas de revascularização e osso com aspecto maduro (seta). Grupo IV, 15 semanas. T.M. 140X. 99

## 1.4. Lista de Abreviaturas

AO - Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen

ASIF - Association for Study of Internal Rigid Fixation

% - Porcento

ms - microsegundos

W - watts

cm - centímetro

mA - miliAmpère

µA - microAmpère

V - Volt

Hz - Hertz

VPP - Voltas pico a pico

MgC - Mega Hertz

c-s - Ciclos por segundo

AMPc - Adenosina monofosfato cíclico

°C - graus celsius

RESUMO

## 2. RESUMO

O propósito deste trabalho foi avaliar histologicamente o processo de reparo de defeitos ósseos, criados cirurgicamente em calvária de coelho, com ou sem enxerto ósseo e submetidos ou não a eletroestimulação.

Foram utilizados 18 coelhos, sendo que cada um deles recebeu duas osteotomias na calvária. Na osteotomia do osso parietal direito o fragmento removido foi imediatamente reposicionado, sendo que no parietal esquerdo o fragmento foi desprezado. Os animais dos grupos tratados receberam a eletroestimulação por uma hora, durante 21 dias. Já os animais do grupo controle foram submetidos as mesmas condições de stress, porém com o aparelho desligado. Os períodos de sacrifício foram as quatro, oito e quinze semanas, compreendendo seis animais sacrificados em cada período.

A análise dos espécimes sob a microscopia óptica revelou neoformação óssea em todos os animais. Nos animais com enxerto ósseo houve uma reparação mais acentuada quando comparados com o grupo sem enxerto. A eletroestimulação parece ter alterado o processo de reparo ósseo de maneira discreta.

**Palavras-Chave:** Osso; Crescimento; Enxerto; Eletroterapia; Coelho como animal de laboratório

## **INTRODUÇÃO**

### 3. INTRODUÇÃO

Tanto para a Medicina como para a Odontologia é de relevante importância o conhecimento dos processos envolvidos na reparação óssea. Além de auxiliar a contornar complicações que possam ocorrer nas atuações clínicas destas especialidades, estes processos podem também proporcionar a descoberta de novas técnicas, drogas e métodos que possam acelerá-los.

Segundo **WEINMANN & SICHER**<sup>64</sup> (1995) nas fraturas ósseas ocorrem lesões teciduais diretas e indiretas, causando a separação do osso em dois fragmentos e dilacerando os tecidos moles associados. A primeira consequência do traumatismo é o rompimento dos vasos que atravessam a linha de fratura, havendo assim, o extravasamento de sangue para a área fraturada. Logo após a hemorragia, o sangue se coagula iniciando a formação e organização do coágulo. Quando o osso é fraturado, estes vasos haversianos são rompidos ocorrendo a lise de osteócitos situados até a uma certa distância da linha de fratura. Após a organização do coágulo, fibroblastos em proliferação e capilares desenvolvem-se em sua direção formando um tecido de granulação. Segundo **TONNA &**

**CRONKITE**<sup>62</sup> (1961), este tecido de granulação torna-se mais denso, e será responsável pela estabilização provisória dos segmentos fraturados até que haja a formação do tecido ósseo maduro. Este osso, começa a se formar a alguma distância da linha de fratura, por ativação de células osteoprogenitoras das camadas mais profundas do periósteo e endósteo. À medida que o processo de reparo progride, o novo osso de origem endóstea vai sendo gradualmente destruído permanecendo apenas a matriz cartilaginosa, suficiente para constituir a base para a deposição de osso novo nesta área. O processo de reparo é, em geral, ordenado, mas varia grandemente com o deslocamento das extremidades fraturadas do osso, e em função do trauma a ele infligido.

A mediação do processo de reparo ósseo pode sofrer interferências externas. Entre os diversos fatores extrínsecos e intrínsecos causadores destas interferências estão: as prostaglandinas (**SOMJEN et al.**<sup>59</sup>, 1980; **CHAPMAN**<sup>14</sup>, 1987; **JEE et al.**<sup>35</sup>, 1987; **JUHN et al.**<sup>38</sup>, 1988), matriz óssea desmineralizada (**REDDI & ANDERSON**<sup>52</sup>, 1976 ), fatores de crescimento (**WITTBJER et al.**<sup>65</sup>, 1983; **JOYCE et al.**<sup>36</sup>, 1990; **JOYCE et al.**<sup>37</sup>, 1990; **LYNCH et al.**<sup>46</sup>, 1991), estímulos elétricos (**PARK et al.**<sup>49</sup>,

1978; **BRIGHTON**<sup>10</sup>, 1981; **BRIGHTON et al.**<sup>12</sup>, 1981; **SHARRARD et al.**<sup>58</sup>, 1982; **SHARRARD**<sup>57</sup>, 1990), uso de proteína óssea morfogenética bovina (**XIANG et al.**<sup>67</sup>, 1993) e estímulos mecânicos (**CIESZYNSKI**<sup>15</sup>, 1963; **RUBIN & LANYON**<sup>55</sup>, 1987). Além dos meios citados, o uso do ultra-som tem sido recomendado para estimulação da neoformação óssea de duas formas principais. A primeira para estimular materiais piezoelétricos implantados gerando corrente elétrica em  $\mu\text{A}$  e a outra como estímulo de alta frequência não térmico e não invasivo (**DYSON & BROOKES**<sup>19</sup>, 1983; **DUARTE**<sup>18</sup>, 1983; **XAVIER & DUARTE**<sup>66</sup>, 1983; **KLUG et al.**<sup>42</sup>, 1986; **GONÇALVES**<sup>28</sup>, 1989).

O efeito piezoelétrico foi primeiramente descrito na física como sendo uma propriedade de alguns materiais como osso ou colágeno que, quando submetidos a variações térmicas, pode produzir polarização elétrica. Este fato sugere a possibilidade de fenômenos de reparação e remodelação óssea serem mediados por interações entre campos elásticos e elétricos (**FUKADA & YASUDA**<sup>26</sup>, 1957; **ATHENSTAEDT**<sup>4</sup>, 1970).

Na realidade, sua primeira utilização foi documentada por **HARTSHORNE**<sup>30</sup> (1841), que relatou o tratamento de pseudoartroses de

tíbia com aplicações de eletricidade através de choques de fluidos elétricos, diariamente aplicados na região da fratura por um período de seis semanas

A elucidação do fenômeno piezoelétrico trouxe grande desenvolvimento para as pesquisas na área de neoformação óssea estimulada por meios físicos (FUKADA & YASUDA<sup>26</sup>, 1957). Os materiais piroelétricos, quando em temperatura constante, têm a propriedade piezoelétrica que pode ser descrita como a polarização devido a uma tensão mecânica. De outra maneira, poderíamos entender que o efeito piezoelétrico de um material é a propriedade de converter energia mecânica em energia elétrica, sendo a inversão do processo também verdadeira. Portanto, se for aplicado ao tecido ósseo um campo elétrico, este osso irá deformar-se mecanicamente, o que lhe confere a propriedade piezoelétrica inversa. Se, ao contrário, emitirmos energia mecânica ao osso, como, por exemplo, num movimento vibratório, este osso irá converter energia mecânica em energia elétrica, caracterizando o efeito piezoelétrico direto.

Sabe-se hoje que, quando uma deformação mecânica ocorre nas estruturas do osso, cargas elétricas são formadas em sua face oposta. Os potenciais elétricos são proporcionais às cargas mecânicas e são negativos

onde o tecido esteja sob compressão e positivos quando sob tensão. Este fenômeno é conhecido como efeito piezoelétrico, tendo como base a clássica **lei de WOLFF**<sup>69</sup> (1882), sobre a influência de cargas elétricas na estrutura e crescimento do osso. O efeito desta lei é parcialmente desconhecido, mas investigações, nestas duas décadas, levam a crer que os potenciais e correntes bio-elétricos podem fazer parte deste mecanismo desencadeador.

No início os pesquisadores concentraram seus esforços na administração da corrente elétrica através da implantação de eletrodos na área de fratura obtendo resultados favoráveis (**BECKERR & MURRAY**<sup>9</sup>, 1967; **KLAPPER & STALLARD**<sup>40</sup>, 1974). Porém, a possibilidade de infecção incentivou a busca de um método de estimulação não invasivo. Através da ação de campos eletromagnéticos produzidos por bobinas em oposição de 180° em relação à área de fratura, desenvolveu-se um método de tratamento com duração de 6 a 7 meses, que necessitava de aplicação diária de 12 a 16 horas (**BASSET et al.**<sup>7</sup>, 1974).

**BRIGHON et al.**<sup>11</sup> (1976), desenvolveram outro método não invasivo, utilizando modelos de capacitores, os quais formam campos

elétricos capazes de induzir a osteogênese. Porém, não apresentou a mesma difusão que o método citado anteriormente.

Alguns autores associaram a utilização de enxertos ósseos com estimulação elétrica não invasiva (**BASSETT et al.**<sup>8</sup>, 1982) e invasiva (**CIESZYNSKI**<sup>15</sup>, 1963; **CONNOLY**<sup>16</sup>, 1981; **ESTERHAI**<sup>21</sup>, 1981). A utilização clínica destes métodos foi resultado de trabalho experimental realizado por **HARRIS**<sup>29</sup> (1987).

De acordo com os fatos expostos, o objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente o processo de reparo de cavidade óssea confeccionada cirurgicamente, com ou sem enxerto ósseo, sob a ação da estimulação elétrica.

## REVISÃO DA LITERATURA

#### **4. REVISÃO DA LITERATURA**

A eletroestimulação foi muito utilizada, baseado principalmente em trabalhos clínicos (LENTE<sup>45</sup>, 1850). Com base nestas observações, muitos autores se voltaram para o estudo deste mecanismo, dentre eles, GARRATT<sup>27</sup> (1861). Após este relativo sucesso, esta terapia foi abandonada por razões desconhecidas, passando por um período de silêncio de 103 anos.

**FRIENDENBERG & BRIGHON<sup>25</sup>** (1966), propuseram-se a determinar a magnitude e disposição dos potenciais elétricos contínuos exibidos pela pele, perióstio, osso em crescimento, osso maduro e em extremidades ósseas fraturadas. Este trabalho foi desenvolvido em tíbias e fêmures de coelhos e humanos. As conclusões a que chegaram os autores foram as seguintes: os potenciais de corrente contínua sobre a pele, perióstio e osso da tíbia e fêmur de coelhos e da pele sobre a tíbia e fêmur de humanos, mostraram que a epífise é eletricamente positiva com relação à área subepifisária; a metáfise é negativa com relação à epífise; 2 a 3

centímetros abaixo da epífise a voltagem, então, começa a decrescer até a isopolaridade e se torna positiva na diáfise. Os potenciais elétricos da pele, sobre tíbias fraturadas de coelhos e de humanos, mostraram que toda a região se tornou negativa. Um aumento secundário da eletronegatividade se tornou evidente sobre o sítio de fratura. Com a consolidação, o potencial elétrico voltou ao normal. Os autores acreditam que a eletronegatividade exibida pela metáfise e pela região fraturada da tíbia seja o resultado de vários mananciais de potenciais metabólicos e fisico-químicos.

**FRIEDENBERG<sup>24</sup>** (1971), publicou um trabalho descrevendo uma série de experimentos, onde uma corrente galvânica de 10 $\mu$ A foi aplicada na fibula do coelho. Para tal foram utilizados sessenta coelhos adultos, e realizou-se a fratura um cm abaixo do colo da fibula esquerda. O implante foi colocado no tecido subcutâneo, sendo divididos em 5 grupos:

- a) grupo I e II - eletrodos inseridos 5 mm da face proximal e distal da fratura;
- b) grupo III e IV - o eletrodo proximal foi colocado como no grupo anterior e o eletrodo distal dentro da perfuração feita pela broca;

c) grupo V - idêntico ao grupo III, sendo que o ânodo foi ancorado subcutaneamente 5mm do foco de fratura. No grupo controle foram realizadas fraturas fibulares unilaterais em 45 coelhos. Os períodos de sacrifício foram de 4, 7, 10, 15, 18, 21, 25, 30 e 35 dias. Como resultados, os autores observaram que todas as fraturas, independente se do grupo controle ou tratado, mostraram alguma formação óssea. Concluiu-se que, quando o eletrodo foi posicionado no cátodo a reparação óssea foi estimulada.

**FRIEDENBERG<sup>23</sup>** (1973), em seu trabalho “A origem celular de potenciais bioelétricos no osso”, realizado em tibia de coelhos, sugeriu que o potencial bioelétrico observado no osso não estava diretamente dependente da transmissão nervosa, mas da população celular ativa no osso.

**BASSETT et al.<sup>7</sup>** (1974), desenvolveram um método totalmente não invasivo, intitulado "Pulsing Electromagnetic Fields", que na essência utilizava uma corrente elétrica produzida por campos eletromagnéticos. Para tal, campos eletromagnéticos pulsados, de baixa intensidade e frequência

foram colocados diretamente no osso de pequenos cães, através da pele, com a finalidade de aumentar o reparo em regiões que sofreram osteotomias. Os resultados levaram a crer que houve um aumento da organização e do poder do processo de reparo no 28 dia pós-operatório. Relataram também que este método foi aplicado com sucesso em pacientes com pseudoartrose congênita de tibia e julgam que o método não invasivo pode ser efetivo no homem, sendo possível reduzir o tempo de imobilização de forma significativa.

**KLAPPER & STALLARD<sup>40</sup>** (1974), com o objetivo de comparar os efeitos provocados pela utilização de corrente elétrica direta , monofásica e alternada ocorridos no cátodo e ânodo, utilizaram 88 ratos que foram divididos em três grupos;

- grupo A (28 ratos - corrente alternada através de pulsos alternados);
- grupo B (22 ratos que receberam o mesmo tipo de onda quadrada, porém todos os pulsos negativos foram substituídos por alternados);

- grupo C (34 ratos, que receberam o mesmo equipamento com os fios de chumbo do selim conectados a uma suspensão elástica sem conexão elétrica entre os lados direito e esquerdo).

Como equipamento foi utilizado um selim de couro fabricado com fio de aço inoxidável soldado ao teflon. Os selins foram posicionados nas costas do rato e os fios trazidos em direção a calvária, embaixo da pele. Foi realizada uma incisão entre as orelhas que serviu de acesso para a confecção das cavidades ósseas e o posicionamento dos eletrodos, os quais foram conectados a um gerador de pulso, que transmitiu estímulo a todos os animais. Eles foram sacrificados no segundo e vigésimo terceiro dia pós-operatório. 8 pontos foram mensurados, sendo 4 do lado esquerdo e 4 do direito. Não houve diferença estatística entre os lados direito e esquerdo em nenhum dos grupos. Os autores concluíram assim, que o elemento responsável pela formação de tecido ósseo foi o campo eletromagnético presente nos tecidos e que foi estimulada pelo pulso de corrente elétrica.

**BRIGHTON et al.**<sup>11</sup> (1976), desenvolveram outro método não invasivo, utilizando modelos de capacitores, os quais formam campos

elétricos capazes de induzir a osteogênese; porém este método não apresentou a mesma difusão que o método citado anteriormente.

**CONNOLLY**<sup>16</sup> (1981), obteve sucesso no tratamento de fraturas de tibia e fêmur, sendo todas consideradas complexas, instáveis e com perda de substância, no qual o autor utilizou métodos de fixação interna rígida, fios de Kirschner e estimulação elétrica, obtendo, assim, neoformação óssea mesmo em áreas de defeito, onde foi constatada radiograficamente a presença do calo ósseo.

**PELTIER**<sup>50</sup> (1981), publicou um trabalho onde fez um breve resumo da eletricidade no tratamento das fraturas. Segundo ele, por volta de 1816, Alexander Stevens, fez uma pequena referência à utilização da eletricidade no tratamento das fraturas. Observou-se que os choques de fluidos elétricos passavam pelas extremidades ósseas, tanto em direção ao crescimento como em relação a espessura. O autor citou três casos onde os pacientes eram portadores de fraturas não consolidadas, sendo que a eletroestimulação foi utilizada com bons resultados. Posteriormente, concluiu-se que a

eletroestimulação é uma forma de tratamento não adotada frequentemente por fisioterapeutas na prática diária, porém recomenda que esta opinião deve ser repensada por se tratar de um método eficiente, de fácil aplicação e indolor.

Baseado na concepção de que os potenciais elétricos são importantes no crescimento e remodelação óssea, ZICHNER<sup>70</sup> (1981), avaliou os diferentes tipos de corrente elétrica variando o tipo, frequência e aplicação. Em um período de 4 anos, foram tratados 61 pacientes com aparelho invasivo, sendo 5 fraturas não consolidadas e 52 adquiridas. O aparelho liberava uma corrente variando de 20 a 25 $\mu$ A (voltagem de 750mV) e frequência de 20Hz. As osteossínteses na tíbia foram realizadas simultaneamente à implantação do eletrodo. O cátodo foi inserido no local da fratura. De 2 até 12 meses, 2 das fraturas adquiridas e 1 das pseudoartroses repararam. Nos insucessos, o osso neoformado apresentava-se totalmente necrótico. Em 4 casos foi necessária a reimplantação do eletrodo ou por fratura ou por descarga da bateria. Em outros 2, houveram falhas devido a presença de infecção. O autor concluiu que a

eletroestimulação é um tratamento auxiliar para estabilização de fragmentos em pseudoartroses.

**BASSET et al.<sup>8</sup>** (1982), avaliaram diferentes campos eletromagnéticos e seus efeitos sobre a reparação óssea em osteotomia de rádio, realizados em ratos. Os ratos foram anestesiados e as osteotomias realizadas no osso rádio. Os músculos extensores e do rádio subjacentes foram seccionados utilizando uma serra refrigerada com soro fisiológico. Os animais foram distribuídos em 5 grupos e isolados em caixas retangulares de plástico. Foi mantida uma distância de 3 metros entre o grupo controle e o grupo tratado. Os grupos experimentais foram expostos a 1 ou 4 diferentes ondas eletromagnéticas, com duração de 12 horas. A grande diferença foi de 57%, quando comparado o grupo D com o grupo controle. Os animais do grupo A não foram afetados pelo campo eletromagnético e os animais do grupo B, C e D foram afetados por vários graus de eletricidade. Os animais do grupo D, possuíram valores mais altos quando comparados com os animais do grupo A e B, mas não com o grupo C. No entanto, não houve

diferença significativa e consistente no crescimento do rádio quando comparado o grupo controle com o grupo experimental.

SEDEL et al.<sup>56</sup> (1982), avaliaram os resultados do tratamento de 39 pacientes que apresentavam fraturas não consolidadas, utilizando a estimulação elétrica. As fraturas não consolidadas eram principalmente na tibia (20), fêmur (11), úmero (4), rádio e ulna (2), ulna (1) e clavícula (1). O aparelho utilizado era composto por 2 grandes bobinas conectadas a um gerador emitindo um pulso repetitivo. A voltagem induzida ao osso pelo campo eletromagnético foi de 1 a 1,5 mv/cm. Desta forma, para a ativação foi necessário que cada bobina estivesse precisamente colocada em cada extremidade da fratura. Observou-se que de 37 pacientes ocorreram 6 falhas que podem ser explicadas pelo uso incorreto do aparelho, tempo de exposição insuficiente (inferior a 2 meses) e imobilização inadequada. Os autores concluíram que a eficiência do processo só ocorre para fraturas e situações bem definidas, sendo necessário um estudo duplo-cego para determinar a efetividade do tratamento.

**BARCLAY et al.**<sup>5</sup> (1983), avaliaram através de uma triagem, 230 pacientes com traumatismos de mão, sendo que metade deles foram tratados com estimulação eletromagnética e a outra metade fazendo parte do grupo controle. Deste número, 30 pares foram agrupados por idade, sexo e grau de traumatismo. Todos os pacientes foram examinados e assistidos pelo médico em dias alternados, onde foi avaliado o grau de dor, edema e a incapacidade funcional. Os resultados mostraram que a eletroestimulação tem um efeito biológico definido, em traumatismos de tecidos moles, especialmente na redução do edema, dor e retorno as funções normais.

**BARKER et al.**<sup>6</sup> (1984), avaliaram a efetividade da terapia da eletroestimulação em fraturas de tibia não consolidadas após 24 meses do trauma. Os pacientes foram selecionados segundo critérios como: mobilidade do foco de fratura, linha de fratura diagnosticada por 2 observadores diferentes, nenhum tratamento cirúrgico realizado nos últimos 6 meses. Foi recomendado ao paciente que ele usasse o aparelho por um período de 12 a 16 horas diariamente, com sessões de, no mínimo, 1 hora. A remissão foi definida com um período mínimo de 10 horas, por 7 dias em

cada 6 semanas e 6 horas ou menos, 14 dias em um período de 24 semanas. Os pacientes foram reavaliados a cada 6 semanas em um total de 48 semanas. Nas primeiras 24 semanas, os pacientes foram tratados com um placebo e, se a fratura não se consolidasse neste período, os pacientes recebiam o aparelho ativo. Dos 17 pacientes, um abandonou o tratamento por razões pessoais. Na 24<sup>a</sup> semana 5 dos 9 pacientes em tratamento ativo tiveram as fraturas consolidadas, comparando com os 5 dos 7 pacientes do grupo controle. A dor tendeu a diminuir nas primeiras 24 semanas, sem diferença significativa quando comparado com o grupo de 48 semanas. O autor concluiu que o tratamento conservador das fraturas deve ser considerado como o tratamento de escolha. Parte do sucesso nestes tratamentos pode ser atribuído a terapia com estimulação elétrica.

**ENZLER et al.**<sup>20</sup> (1984), encorajados por Bassett resolveram testar a eletroestimulação em um modelo de osteotomia. Foram utilizados 12 cadelas, com idade variando entre 4 e 6 anos. Realizaram, assim, fraturas em ambas as ulnas, buscando simular fraturas recentes. Cada simulador era equipado com 2 bobinas idênticas alinhadas com os focos de osteomia e

fixadas aos membros dianteiros através de um parafuso e um adesivo. Os parafusos foram implantados na metáfise distal do rádio (acesso transcutâneo). A estimulação era realizada 24 horas/dia, num total de 7 dias por semana. 4 animais receberam estimulação por 2 semanas, 4 por 5 semanas e 4 por 8 semanas. Acompanhamentos diários dos animais e do equipamento revelaram a perda do contato entre o estimulador e a esfera em 3 ocasiões. Depois de 3 semanas de experimento os parafusos ficaram soltos e os cachorros eliminados do experimento, muitas vezes, antes do que havia sido planejado. A avaliação das lâminas histológicas não indicaram nenhum benefício na utilização da eletroestimulação. Como consequência dos vários problemas que surgiram, os autores sugerem a repetição do experimento através do aprimoramento da técnica.

Segundo **FREEDMAN**<sup>22</sup> (1985), devido ao grande número de fraturas tardias não consolidadas, um método não invasivo tem sido largamente utilizado. Para a avaliação da eletroestimulação foram avaliados 13 pacientes, do sexo masculino e feminino. Os ossos tratados foram a tíbia, fêmur e rádio. As fraturas foram imobilizadas com gesso e os eletrodos

colocados seguindo as orientações do fabricante (EBI - Electro - Biology International Medical System). Os pacientes foram instruídos para que o aparelho fosse utilizado pelo menos por 12 horas/dia. Os períodos de controle foram realizados após 6 e 12 semanas. Em alguns casos, após estes períodos, nenhuma alteração radiográfica foi observada, e assim a frequência do aparelho foi aumentada, seguindo as orientações do fabricante. Em 3 casos não foi encontrada nenhuma vantagem radiográfica na utilização do tratamento. Em 5 casos, na fase inicial do tratamento, havia um calo ósseo presente, porém, com mobilidade dos segmentos fraturados. Depois da complementação do tratamento, em 3 casos, foi observada a persistência da mobilidade, porém, com calo ósseo mais evidente. Como consequência o autor relatou que tratamento a base de eletroestimulação foi uma alternativa para fraturas não consolidadas. No entanto, este método tem sido utilizado apenas quando todos os outros métodos convencionais já foram tentados.

**KLECZYNSKI<sup>41</sup>** (1988), avaliou o efeito da eletroestimulação sobre fraturas recentes e antigas. O estudo foi realizado em animais e humanos.

Nos 20 coelhos foram realizadas osteotomias nas fíbulas que foram, posteriormente, tratadas com uma corrente de 20 $\mu$ A. Em humanos foram utilizados 62 pacientes com vários tipos de fraturas não consolidadas a cerca de 9 meses. Eles incluíram pacientes com osteomielite (30%), atrofia (67%) e hipertrofia (33%). A estimulação elétrica foi realizada durante 21 dias consecutivos. Somente a eletroestimulação foi utilizada em 34 pacientes, mas 30 pacientes necessitaram de tratamento cirúrgico adicional. A reparação óssea ocorreu em 58 pacientes (91%) confirmando a teoria de que a eletroestimulação foi efetiva na osteogênese. Somente a estimulação elétrica, realizada em 32 pacientes com 34 pseudoartroses, produziu a união óssea em 10 meses. Foi verificado que para aqueles pacientes que receberam estimulação elétrica associada a enxerto ósseo houve uma redução do tempo necessário para a reparação (3.7 meses). Não houve uma interferência direta da eletroestimulação quando se trata de fraturas recentes, porém, é bastante efetivo em tratamento de pseudoartroses. Desta forma, trata-se de um tratamento simples e que pode ser usado, principalmente, quando o tratamento convencional não é eficaz.

Em alguns casos, devido a presença de tumores, torna-se necessário a remoção parcial ou total da maxila e/ou mandíbula. **KAMEGAI et al.**<sup>39</sup> (1990), publicaram um trabalho onde propuseram a reconstrução mandibular, através da utilização de periósteo estimulado eletricamente. Uma menina, portadora de Sarcoma de Ewing, foi submetida a uma mandibulectomia, sendo o espaço mantido por uma placa de titânio (AO/ASIF). 7 meses após a mandibulectomia, a estimulação do periósteo da tibia foi iniciada (20 Ma). Decorrido 5 semanas de estimulação elétrica contínua, o periósteo foi removido e inserido no defeito mandibular. Um ano após a cirurgia foi observada uma formação óssea definida, na região transplantada, verificada radiograficamente. Os autores concluíram, assim, que a estimulação elétrica do periósteo pode ser um excelente método para reconstrução mandibular em pacientes jovens que não possuem outro local doador.

**CUNDY & PATERSON**<sup>17</sup> (1990), avaliaram os pacientes que durante 10 anos foram tratados com estimulação elétrica. O trabalho incluiu a avaliação de 81 pacientes com 84 fraturas não consolidadas. A presença

de infecção não foi considerada contra-indicação. Dos 81 pacientes, apenas 37 pacientes puderam ser reavaliados. O período médio de avaliação foi de 10 anos e 3 meses. Houve reparação óssea em todas as fraturas através da análise radiográfica. O estimulador elétrico foi mantido com uma corrente elétrica de  $20\mu\text{A}$ , a partir de um gerador que incorpora um ânodo e um cátodo. O gerador foi removido cerca de 3 a 6 meses após a implantação. O estimulador elétrico foi capaz de induzir a osteogênese sem, contudo, trazer efeitos prejudiciais.

**Mc LEOD et al.**<sup>48</sup> (1992), testaram a hipótese de que a reparação óssea é sensível ao campo eletromagnético com baixa frequência. A capacidade de um eletroestimulador complexo inibir a perda óssea foi comparada à capacidade de remodelação óssea através de baixa frequência (15,75 e 150Hz). A ulna esquerda de 30 perus machos, foram funcionalmente isolados pela criação de osteotomias na epífise proximal e distal. A seguir, foram expostas durante 1 hora/dia, 5 dias por semana, durante 8 semanas. Depois de 56 dias, a remodelação óssea obtida foi comparada entre a ulna operada e a do lado oposto. A remodelação óssea,

através de um campo magnético com 150 Hz não foi considerada osteogênica, sendo que quando utilizado um campo de 75 Hz houve um aumento de 20% na formação óssea. Este estudo demonstrou que a sensibilidade tecidual é específica para baixas frequências e, além disso, não são necessárias ondas eletromagnéticas complexas para que se tenha potencial osteogênico.

**PIENKOWSKI et al.**<sup>51</sup> (1992), publicaram um trabalho onde o principal objetivo foi comparar os pulsos simétricos e assimétricos, sob a forma de onda, utilizados em estimulação eletromagnética. Foram utilizados coelhos da raça Nova Zelândia, que tiveram suas fíbulas osteotomizadas. A estimulação elétrica teve início no 2º dia pós-operatório e foi mantida por oito horas/dia, durante um período de 14 dias. Após 16 dias, os animais foram sacrificados e analisados radiografica e histologicamente. Os resultados mostraram que a assimetria do pulso não é importante, mas que a alta amplitude de uma campo eletromagnético, e o pulso estreito são os principais componentes de um sinal de pulso e que foram responsáveis pelo efeito clínico terapêutico.

**MAMMI et al.**<sup>47</sup> (1993), analisaram um grupo de 40 pacientes que tiveram a tíbia osteotomizada devido à presença de artrite degenerativa. Todos os pacientes foram operados por um mesmo ortopedista e divididos de forma randomizada, em grupo controle e tratado. Os pacientes do grupo tratado recebiam a estimulação elétrica de forma ativa, durante 8 horas/dia totalizando 60 dias. Decorrido este período, os pacientes foram avaliados radiograficamente, por quatro ortopedistas que não conheciam as condições experimentais, visando a determinação do grau de cicatrização óssea, de acordo com 4 categorias (a 4ª categoria corresponde ao estágio mais avançado de reparação). No grupo controle, 73,6% dos pacientes foram incluídos na primeira e segunda categorias. No grupo tratado, 72,2% dos pacientes foram incluídos na terceira e quarta categorias. Os autores concluíram, desta forma, que a estimulação eletromagnética tem efeito positivo na reparação de tíbias osteotomizadas.

**RIJAL et al.**<sup>54</sup> (1994), avaliaram o grau de reparação de fraturas produzidas no rádio de coelhos, mediante a utilização de capacitores acoplados. A neoformação óssea foi mensurada radiograficamente,

histologicamente e através de densiometria óssea. Foi verificado que o calo ósseo formado no grupo tratado era maior que o formado no grupo controle. Após a estimulação a média de aumento foi de 18%. Os autores sugeriram assim que a estimulação elétrica, utilizando capacitores acoplados, é eficiente no tratamento de fraturas não consolidadas.

Um dos principais objetivos da terapia periodontal é a regeneração da estrutura óssea e inserção conjuntiva perdidas pela doença periodontal crônica. Muitas pesquisas surgiram visando tal objetivo, dentre elas podemos citar o efeito das citocinas, dos fatores de crescimento e da estimulação elétrica que, naturalmente, ocorre no tecido ósseo e tal osso pode ser particularmente susceptível a terapia elétrica. **KUBOTA et al.**<sup>43</sup> (1995), publicaram um trabalho onde fazem uma revisão sobre os efeitos da estimulação elétrica na osteogênese e no osso alveolar.

**BRIGHTON et al.**<sup>13</sup> (1995), avaliaram 271 fraturas de tíbia não consolidadas (média de 23,5 meses), sendo que 167 pacientes foram tratados com estímulo elétrico direto, 56 pacientes com capacitor acoplado e

48 pacientes com enxerto ósseo. A análise de regressão lógica foi utilizada para comparar o grau de reparação nos 3 métodos, bem como ajudar na identificação dos fatores de risco (tempo de fratura, presença de enxerto, tratamento elétrico prévio, fraturas abertas, osteomielites, fraturas oblíquas ou cominutivas e fraturas atróficas) que poderiam interferir no grau de reparação. Os autores concluíram que quando estes fatores não estão presentes não há diferença significativa entre os três métodos. No entanto, quanto maior o número de fatores de risco, menor será o grau de reparação, sendo que os que trouxeram piores resultados são a presença de enxerto ou uma fratura atrófica.

**HAAS<sup>31</sup>** (1995), baseado na preocupação dos ortodontistas com o crescimento facial e principalmente com a mandíbula, avaliou o crescimento condilar por meio de eletroestimulação. Para tal oito gatos foram submetidos a condilotomia bilateral, sendo que apenas um lado recebeu o tratamento. Antes da condilotomia, amálgama foi implantada no processo zigomático acima do local da condilotomia, funcionando como um marcador ósseo. A condilotomia efetivamente separou o côndilo do corpo da mandíbula. Cada

aparelho de eletroestimulação era composto por um marcapasso para liberação de corrente, uma bobina para criação do campo elétrico e fios responsáveis pela conexão do marcapasso a bobina. Após 5 semanas, os animais foram sacrificados e a avaliação radiográfica através da superposição de imagens pré e pós-operatória mostrou crescimento condilar durante o período experimental. 2 côndilos tratados escolhidos ao acaso foram comparados com o grupo controle e observou-se diferenças em relação a organização da zona hipertrófica, vascularização e distribuição celular. Foi possível concluir que a estimulação elétrica sobre o côndilo mandibular resulta em crescimento ativo da cartilagem e matriz, e aumento do suprimento sanguíneo quando comparado com o grupo controle. Além disso a combinação de descarga e corrente elétrica é capaz de provocar mudanças histomorfológicas que podem indicar aumento da atividade celular.

**REID et al.**<sup>53</sup> (1981), publicaram um trabalho com o objetivo de avaliar o papel da dura-máter e periósteo, individualmente ou em combinação, no processo de regeneração óssea após a criação de um defeito

ósseo em calvária de coelhos recém nascidos. Através da observação clínica determinou-se que a reparação óssea foi mais rápida no recém nascido quando comparado com o adulto. Foram utilizados coelhos da raça Nova Zelândia divididos nos seguintes grupos: I (remoção de parte do osso parietal + reposicionamento do periósteeo); II (idem grupo I + remoção do periósteeo); III (idem grupo II + rompimento da dura máter); IV (idem grupo I, porém em animais adultos). Os resultados encontrados confirmaram que em cerca de 99% dos casos, a remoção do periósteeo e da dura máter são responsáveis por uma inibição da reparação óssea, comparado quando apenas o periósteeo é removido. Os autores, baseados nos resultados encontrados, formularam as seguintes hipóteses:

- a) A regeneração óssea de defeitos ósseos em calvária é melhor quando são criados em coelhos recém nascidos;
- b) A regeneração óssea em coelhos recém nascidos é melhor se o periósteeo for preservado;
- c) A regeneração óssea em coelhos recém nascidos é maior se o periósteeo e a dura-máter estão presentes, quando comparados com animais onde o periósteeo e a dura-máter foram removidos.

**ALBERIUS et al.**<sup>2</sup> (1989), publicaram uma técnica simples para a realização de craniotomia em coelhos jovens. Esta técnica evita a necessidade de instrumentos específicos e foi testada em 90 animais, com mínima mortalidade e morbidade. Os animais foram anestesiados e a seguir foi realizada a tricotomia e antissepsia com clorexidina alcoólica (5mg/ml). Os defeitos ósseos foram produzidos utilizando uma broca trefina montada em baixa rotação e sob irrigação constante. Todos os cuidados com anti-sepsia foram tomados, sendo que os instrumentos foram autoclavados toda manhã e mantidos em álcool 70% por 15 minutos entre cada cirurgia. Como cuidados pós-operatórios, realizou-se a hidratação de cada animal com soro fisiológico e antibioticoterapia a base de penicilina. Este trabalho foi um estudo de vários anos e os autores concluíram que para o sucesso do experimento é necessário alimentação e água a vontade. Além disso é importante o tempo de aclimatação. O Hypnorm oferece anestesia completa mantendo a estabilidade cardiovascular. Em suma, não foram encontradas complicações, sendo que este procedimento pode ser realizado por várias semanas sem alterar as respostas farmacológicas.

Com o objetivo de avaliar se existe alguma diferença em relação a regeneração óssea, dependendo da região onde é realizada a osteotomia, **ALBERIUS et al.**<sup>3</sup> (1990), utilizaram 59 coelhos da raça Nova Zelândia, com aproximadamente sete semanas de idade, onde realizou-se uma incisão paramediana, desde a região occipital até a frontal, seguido do descolamento do periósteo. A seguir, com o auxílio de uma broca trefina (6mm de diâmetro) foram confeccionados dois defeitos ósseos no osso parietal direito e sutura coronal esquerda. Para facilitar a análise radiográfica e histológica, foram inseridos dois cones de guta percha no interior do defeito. Os animais foram sacrificados após uma, três e seis semanas. Foi observado que o maior potencial de cicatrização ocorre no intervalo de uma a três semanas, onde o defeito é reduzido pela metade, sendo que no primeiro e terceiro intervalos esta regeneração é mais lenta. Não foi observada diferença estatisticamente significativa com relação a reparação óssea na região da sutura coronal ou região parietal.

Nas cirurgias crânio maxilofaciais tem-se a possibilidade de tratar desde traumas, tumores até mal formações esqueléticas. **ALBERIUS &**

**JOHNEEL**<sup>1</sup> (1991) investigaram as alterações progressivas na organização e composição das proteínas e proteoglicanas durante a regeneração de fraturas e defeitos ósseos experimentais. Para tanto, utilizaram 76 ratos divididos em dois grupos. Nos animais do grupo A produzia-se uma linha de fratura enquanto que no grupo B realizava-se um defeito ósseo de 3x3 mm de diâmetro. Os animais foram sacrificados em intervalos variando de três a 100 dias após a cirurgia. A aparência e a localização exata das proteínas e proteoglicanas foram determinadas por anticorpos policlonais isolados em coelhos. Verificaram que não houve a formação de calo ósseo ou de cartilagem associado ao processo de regeneração óssea e que as proteoglicanas não foram encontradas .

As pesquisas têm evoluído muito buscando substitutos para os enxertos ósseos. A maior desvantagem está na tendência à pronunciada reabsorção. No entanto, estudos experimentais tem demonstrado que esta reabsorção pode ser controlada utilizando-se enxerto ósseo membranoso. Assim, **ISAKSSON & ALBERIUS**<sup>33</sup> (1992), se propuseram a avaliar o efeito do osso alogênico de origem membranosa e endocondral,

comparando-o com enxertos ósseos utilizados em calvária de coelhos. Para tal foram utilizados 14 coelhos adultos, onde criou-se quatro defeitos ósseos em cada animal dividindo-se em quatro grupos:

- a) grupo I: defeitos preenchidos com osso membranoso (calvária);
- b) grupo II: defeitos preenchidos com osso endocondral (tíbia);
- c) grupo III: defeitos preenchidos com  $\frac{1}{4}$  de osso autógeno;
- d) grupo IV: grupo controle.

Os animais foram sacrificados nos períodos de 4,6 e 15 semanas. Os resultados foram avaliados por microscopia óptica e radiografia de contato. A avaliação morfométrica demonstrou um aumento significativo do volume ósseo nos grupos que receberam enxerto prévio. Os autores concluíram que existem algumas desvantagens para a utilização do enxerto ósseo autógeno como: a necessidade de um segundo sítio cirúrgico, quantidades limitadas de osso e imprevisibilidade da reabsorção óssea. A presença de uma matriz óssea desmineralizada faz com que ocorra indução da osteogênese, acelerando o processo de reparação óssea.

Os enxertos ósseos membranosos têm sido frequentemente utilizados na reconstrução do esqueleto facial. Tal osso tem se mostrado mais efetivo na manutenção do volume/tempo, sofre mais rápida revascularização e possui uma reabsorção mais demorada. Com o objetivo de comparar o grau de reparação óssea quando da utilização de fragmentos ósseos ou de pasta óssea, **ISAKSSON et al.**<sup>34</sup> (1992), utilizaram 14 coelhos adultos, onde foram confeccionados quatro defeitos ósseos, com uma broca trefina, na calvária de cada um deles, sendo assim divididos em 4 grupos:

- a) grupo I: defeitos preenchidos com apenas  $\frac{1}{4}$  do fragmento removido;
- b) grupo II: defeitos preenchidos com metade do fragmento removido;
- c) grupo III: defeitos preenchidos com a pasta óssea (osso + soro);
- d) grupo IV: grupo controle.

A reparação óssea foi avaliada através da inspeção geral, radiografia e análise histológica após 4 e 15 semanas. A análise geral, após 4 semanas, mostrou uma redução drástica do defeito ósseo. Através da microscopia óptica observou-se que todos os defeitos ósseos estavam preenchidos por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso, distinto e organizado. Não foram observadas maiores diferenças em relação a incorporação óssea nos grupos I

e II. Após 15 semanas, o osso formado no grupo III, mostrava-se mais maduro e estruturalmente semelhante ao grupo IV. Os autores concluíram, assim, que há uma diferença na cicatrização óssea e na qualidade do mesmo dependendo do tipo de enxerto ósseo utilizado, no entanto, a quantidade de fragmento ósseo inserido no defeito ósseo mostra menor correlação com o sucesso da resposta regenerativa.

PROPOSIÇÃO

## **5. PROPOSIÇÃO**

Partindo da observação de que vários autores têm sugerido o emprego da estimulação elétrica para o tratamento de fraturas ósseas, e que pouco se sabe de sua ação sobre defeitos ósseos provocados em presença ou não de enxertos, o objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente o processo de reparo de cavidade óssea confeccionada cirurgicamente, com ou sem enxerto ósseo, sob a ação da estimulação elétrica.

## **MATERIAIS E MÉTODO**

## 6. MATERIAIS E MÉTODO

### 6.1. ANIMAIS E ANESTESIA

Foram utilizados no presente estudo 18 coelhos albinos da raça Nova Zelândia, machos, pesando em média 3.0 kg, com idade variando entre 3 e 6 meses, mantidos durante o período experimental com alimentação sólida<sup>1</sup> e água *ad libitum*.

Os animais foram anestesiados utilizando-se a veia auricular média. A solução anestésica utilizada foi o Pentobarbital sódico<sup>2</sup> na dosagem de 30 mg/kg de peso corporal, conforme recomendações do fabricante.

### 6.2. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Após a tricotomia da calvária (Figura 1) foi realizada a anti-sepsia com Clorexidina a 0,5%<sup>3</sup> e isolamento da área a ser operada com campos estéreis.

---

<sup>1</sup> Ração Sítios e Quintais para coelhos. Purina Nutrímentos Ltda

<sup>2</sup> Hypnol 3%, Fontoveter. Divisão Veterinária de Cristália

<sup>3</sup> Gluconato de clorexidina, Fharmus, Farmácia de manipulação

O procedimento cirúrgico foi dirigido através do protocolo descrito por ALBERIUS et al (1989). Pele e tecido subcutâneos foram incisados através de uma incisão mediana na calvária do coelho, estendendo-se do osso frontal ao occipital. O periósteo que recobre a região frontal e a sutura coronal foi cuidadosamente incisado, elevado e rebatido lateralmente. Os defeitos ósseos, em número de 2, foram produzidos na região parietal bilateralmente, usando uma broca trefina com 5 mm de diâmetro, montada em peça reta e sob baixa rotação. Cuidado adicional foi tomado com o intuito de evitar a perfuração do seio sagital e dura máter.

Durante as osteotomias, o procedimento foi realizado sob constante irrigação com solução salina a 0,9%<sup>4</sup> evitando-se assim, o superaquecimento ósseo. Após a realização das osteotomias, no parietal esquerdo, o osso foi removido e desprezado, sendo que no parietal direito, o osso foi removido e reposicionado, funcionando assim como um enxerto ósseo. Portanto, cada animal apresentava 2 áreas de osteotomia, sendo 1 com enxerto e a outra sem enxerto (Figura 2). A seguir, os animais foram distribuídos em 4 grupos:

---

<sup>4</sup> Solução de Cloreto de Sódio a 0,9%, Sanobiol

- \* I- controle sem enxerto: fragmento ósseo do parietal esquerdo foi removido e desprezado;
- \* II- controle com enxerto: realizado nos mesmos animais do grupo I, com reposicionamento do fragmento ósseo no parietal direito;
- \* III- tratado sem enxerto: fragmento ósseo do parietal esquerdo foi removido e desprezado e os animais estimulados eletricamente;
- \* IV- tratado com enxerto: realizado nos mesmos animais do grupo III, com reposicionamento do fragmento ósseo no parietal direito e os animais estimulados eletricamente.

Posteriormente, o periósteo foi reposicionado e a sutura da pele realizada com fio de nylon número 4.0<sup>5</sup>.

Todos os animais receberam uma associação antibiótica de penicilina G (benzatina, procaína e potássica) e estreptomicina<sup>6</sup> após o procedimento cirúrgico, na dose única de 1ml, por via intraperitoneal, segundo as recomendações do fabricante.

---

<sup>5</sup>Fio mononylon, Ethicon

<sup>6</sup>Pentabiótico Veterinário, Laboratório Wyeth Ltda

### 6.3. ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA

Após 48 horas da realização do procedimento cirúrgico, foi iniciada a estimulação elétrica nos grupos III e IV, com os animais acomodados em uma caixa, onde permaneceram apenas com a cabeça exposta, evitando-se assim, a necessidade de anestesiá-los para cada terapia (Figura 3).

Os animais receberam 160 ciclos durante uma hora/dia, por 21 dias, sendo que para os grupos I e II houve apenas a simulação do processo com o aparelho desligado.

A estimulação elétrica foi aplicada através do aparelho Healtec Celular<sup>7</sup> com gama de frequência de 20 a 350MHz com espaços máximos de 1MHz, impulsos de 85 microsegundos com saída de 80 VPP, pausas reguláveis em 80, 160, 320 e 640 ciclos, duas saídas monitoradas independentes com profundidade de ação de até 25 cm e potência de irradiação de 1 a 4,5 W, sendo a alimentação de 110 ou 220 V. As dimensões do aparelho são de 8 cm de altura, 20 cm de largura e 15 cm de

---

<sup>7</sup> Healtec Eletromedicina Ltda

profundidade. A bobina para irradiação utilizada foi localizada e quadrada (Figura 4).

#### 6.4. SACRIFÍCIOS DOS ANIMAIS

Os animais foram sacrificados com dose excessiva endovenosa de pentobarbital sódico, num total de 3 animais de cada grupo, nos períodos de de 4, 8 e 15 semanas (Tabela 1).

**Tabela 1 - Distribuição dos animais por períodos de sacrifício**

GRUPOS	Nºde ANIMAIS	PERÍODOS DE SACRIFÍCIO		
		4s	8s	15s
CONTROLE (I,II)	9	3	3	3
TRATADO (III,IV)	9	3	3	3
<b>TOTAL</b>	<b>18</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>

## 6.5. MÉTODO HISTOLÓGICO

Os animais foram decapitados e as calvárias removidas através de broca cilíndrica<sup>8</sup> montada em alta rotação, acompanhada de irrigação abundante.

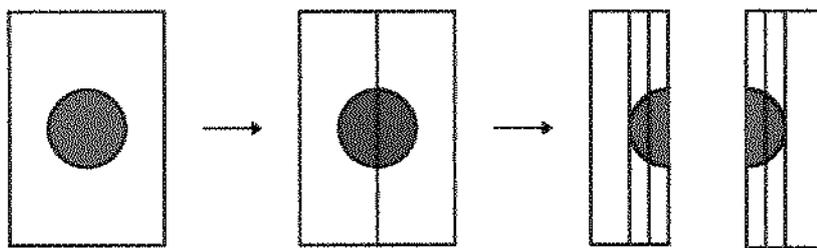
As peças foram fixadas em solução de formalina a 10% durante 24 horas, em temperatura ambiente, depois lavadas em água corrente por 12 horas e descalcificadas em solução de ácido nítrico a 0,5% durante 20 dias. Após a descalcificação as peças foram lavadas em água corrente por 24 horas, desidratadas e diafanizadas.

As peças foram divididas ao meio e as duas metades incluídas em parafina, de modo a fornecer cortes longitudinais da região central da ostotomia (Esquema 1).

Os cortes semi-seriados, na espessura de 7  $\mu\text{m}$  foram corados pela hematoxilina de Harris e Eosina aquosa a 1% e Tricrômio de Mallory, para análise morfológica em microscopia óptica comum.

---

<sup>8</sup> Broca Carbide 702 XXL - Maillefer



Esquema 1- Divisão das peças para inclusão e corte

## RESULTADOS

## **7. RESULTADOS**

### **Período de 4 semanas**

#### **Grupo I (controle sem enxerto) - Figuras 5, 6 e 7**

Na maioria dos cortes dos animais sacrificados neste período, verificou-se neoformação óssea no defeito ósseo criado. Há, no entanto, uma grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso com tendência a invaginação e impedindo que houvesse a união entre o osso pré-existente e o osso neoformado. A região limite é facilmente identificada, sendo que o osso pré existente é caracterizado pela presença de duas corticais nítidas e tecido medular constituído por tecido adiposo e rica celularidade. Já o osso neoformado não apresenta a mesma organização, observando-se grande quantidade de lacunas e trabéculas, freqüentemente sem reação inflamatória. Formação óssea óbvia ao redor, mostrando projeções ósseas em direção centrípeta, sugerindo atividade remodeladora ativa e progressiva, com a presença de pequenas ilhotas de tecido ósseo.

### **Grupo II (controle com enxerto) - Figuras 8 e 9**

Os três animais mostraram um comportamento semelhante, sendo possível a identificação da região limite entre o osso pré-existente e o enxerto. Observa-se novamente a interposição de tecido conjuntivo fibroso que impede a união entre os bordos. Através da análise do enxerto verifica-se um estado mais avançado de cicatrização óssea já que ele próprio serviu como base para a evolução do processo de reparação por substituição. Há uma tendência a formação óssea em direção centrípeta com presença de alguns fragmentos de osso necrótico.

### **Grupo III (tratado sem enxerto) - Figuras 10 e 11**

Nos três animais verificou-se a presença de grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso interposto entre os bordos. Houve uma tendência de afilamento dos bordos do osso pré-existente, com o crescimento ósseo emitindo projeções em direção centrípeta. Observou-se ainda o osso pré-

existente com estrutura medular normal com predominância de tecido adiposo, rica celularidade e vascularização exuberante.

#### **Grupo IV (tratado com enxerto) - Figura 12**

Em todos os animais foi possível identificar a região limite entre o tecido ósseo pré-existente e o osso neoformado, que encontra-se preenchida por tecido conjuntivo fibroso. É possível observar certo grau de revascularização do enxerto com tendência a formação de tecido medular, sendo encontrados ainda, alguns fragmentos de tecido ósseo necrótico, caracterizado pelo aspecto esfumaçado e pela presença dos osteoclastos.

## **Período de 8 semanas**

### **Grupo I (controle sem enxerto) - Figura 13**

A região limite entre o osso pré-existente e o osso neoformado pode ser identificada tanto pelo aspecto morfológico quanto pela invaginação de tecido conjuntivo fibroso. Na porção central foram observadas ilhotas e trabéculas de osso neoformado, apresentando aspecto mais organizado e maduro, quando comparados ao período anterior.

### **Grupo II (controle com enxerto) - Figura 14**

Observou-se a região correspondente ao enxerto com vascularização adiantada e tendência a formação de tecido medular. O processo encontra-se em estágio mais avançado, porém notou-se ainda alguns fragmentos ósseos necróticos. Houve grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso, interposto entre os bordos ósseos.

### **Grupo III (Tratado sem enxerto) - Figura 15**

Em vários cortes desse grupo, observou-se a presença de tecido conjuntivo fibroso em grande quantidade impedindo a completa união entre os bordos. Na porção central do defeito ósseo observou-se núcleos de calcificação em meio ao tecido conjuntivo fibroso.

### **Grupo IV (Tratado com enxerto) - Figura 16**

A região limite entre o osso pré-existente e o enxerto apresenta-se totalmente revascularizado, com avançado estado de organização. O enxerto ósseo também apresenta-se bastante vascularizado, com tendência a formação de duas corticais. Em alguns cortes, observou-se pequenas áreas de osso necrótico, mas no geral, prevalece o aspecto de osso vital.

## **Período de 15 semanas**

### **Grupo I (controle sem enxerto) - Figuras 17, 18 e 19**

Observou-se na região limite entre o tecido ósseo pré-existente e o neoformado, grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso interposto, porém, com maior quantidade de tecido ósseo neoformado, tendendo a união entre as bordas. Vascularização bem mais acentuada, já mostrando a presença de um tecido medular bem definido rico em células e tecido adiposo.

### **Grupo II (controle com enxerto) - Figura 20**

Neste grupo tornou-se mais difícil a individualização da região limite entre o osso pré-existente e o enxerto, pois ambos apresentaram características de maturidade semelhantes. Ainda observou-se a presença do tecido conjuntivo fibroso, porém em menor quantidade. Nesta fase, nos três animais, foi possível encontrar a formação de um calo ósseo unindo as

regiões de osso pré-existente com o enxerto e que atravessa da cortical interna para a cortical externa.

### **Grupo III (tratado sem enxerto) - Figura 21**

Nos três animais, notou-se grande quantidade de tecido ósseo neoformado com duas corticais bem definidas e apenas um remanescente de tecido conjuntivo fibroso interposto. Presença de tecido medular e aspecto de osso maduro.

### **Grupo IV ( tratado com enxerto) - Figura 22 e 23**

A aparência neste grupo sugeriu que a reparação já estava completa e como consequência, observou-se a presença de um osso maduro, com duas corticais bem definidas e tecido medular abundante. Tornou-se praticamente impossível determinar a região limite entre o osso pré-existente e o neoformado, identificado, às vezes, pela presença de um calo ósseo unindo a cortical interna à externa.

## **DISCUSSÃO DOS RESULTADOS**

## 8. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

No presente trabalho foram utilizados coelhos jovens, pois sabe-se que apresentam um intenso período de crescimento crânio-facial, constituindo, assim, em um adequado local para avaliação dos agentes que possam interferir na reparação óssea.

A calvária como modelo experimental, apresenta muitas semelhanças em relação a região maxilo-facial, pois possuem origens semelhantes. Tanto a calvária como a mandíbula são compostas por duas corticais ósseas com interposição de tecido esponjoso. Apresentam ainda pequenas porções de medula que podem facilitar a formação óssea, não sendo portanto, uma condição obrigatória (ALBERIUS et al.<sup>2</sup>, 1989; ALBERIUS et al.<sup>3</sup>, 1990; ISAKSSON & ALBERIUS<sup>33</sup>, 1992).

O diâmetro do defeito ósseo a ser criado foi o de 5mm, que corresponde a uma típica distância entre segmentos ósseos fraturados em cirurgia crânio-maxilo-facial, sendo considerado de tamanho inferior a de um defeito crítico, ou seja, que levaria a vida toda do animal para regenerar (URIST<sup>63</sup>, 1987; ALBERIUS et al.<sup>2</sup>, 1989).

A alta atividade metabólica do coelho quando comparado com a do homem sugere que uma investigação por um curto período de tempo seja suficiente para a completa reparação com pequena taxa de morbidade do animal e fácil acesso ao campo operatório (ISAKSSON<sup>32</sup>, 1992).

ALBERIUS et al.<sup>3</sup>, 1990 avaliaram as diferenças na reparação óssea de acordo com a posição da osteotomia na calvária do coelho. Para tal foram usados 44 coelhos e as perfurações realizadas no osso parietal e na sutura coronal esquerda. Através da análise microscópica, radiográfica e histoquímica, concluíram que não há diferença significativa entre o posicionamento das osteotomias. Devido a maior facilidade para o posicionamento da broca e, portanto, realização da técnica cirúrgica, optamos pelo osso parietal.

Por outro lado, quando da realização das perfurações deve ser evitado pressão excessiva sobre a broca, para que não ocorra o rompimento da dura-máter. REID et al.<sup>53</sup> (1981), a partir da análise de 28 coelhos divididos em quatro grupos, onde a principal característica foi a manutenção ou não da integridade da dura-máter, do periósteo ou ambos, concluíram que em

cerca de 99% dos casos, a remoção do perióstio e dura máter foi responsável por uma inibição na reparação óssea.

A geração excessiva do calor durante a confecção dos defeitos ósseos pode provocar um superaquecimento, levando a necrose e atraso no processo de reparo ósseo. Como consequência, durante as perfurações foi utilizado irrigação contínua e abundante com solução salina a 0,9% (REID et al.<sup>53</sup>, 1981; ALBERIUS et al.<sup>3</sup>, 1990; ALBERIUS & JOHNELL<sup>1</sup>, 1991; ISAKSSON & ALBERIUS<sup>33</sup>, 1992; ISAKSSON et al.<sup>34</sup>, 1992).

Os períodos de sacrifício, bem como o modelo experimental, foram escolhidos baseado em trabalhos tanto na área da estimulação elétrica, como em trabalhos que usaram a calvária de coelhos como metodologia (FRIEDENBERG et al.<sup>25</sup>, 1971; REID et al.<sup>53</sup>, 1981; ALBERIUS et al.<sup>2</sup>, 1989; ALBERIUS et al.<sup>3</sup>, 1990; ALBERIUS & JOHNELL<sup>1</sup>, 1991; ISAKSSON & ALBERIUS<sup>33</sup>, 1992; PIENKOWSKI et al.<sup>51</sup>, 1992). Segundo DUARTE<sup>18</sup>(1983), há uma interferência marcante da estimulação elétrica no intervalo correspondente ao período de 21 dias, sendo que a partir deste intervalo tende a ocorrer uma estabilização com os grupos sacrificados em períodos posteriores.

O efeito piezoelétrico de um material é definido como sendo a propriedade de converter energia mecânica em energia elétrica, sendo a inversão do processo também verdadeira. Se for aplicado ao tecido ósseo um campo elétrico, o osso sofre deformação mecânica, o que lhe confere a propriedade piezoelétrica inversa. Se ao contrário, energia mecânica for emitida ao osso como por exemplo, em um movimento vibratório, o osso irá converter a energia mecânica em energia elétrica caracterizando o efeito piezoelétrico (**BASSET et al.**<sup>7</sup>, 1974 ; **GONÇALVES et al.**<sup>28</sup>, 1989).

Segundo **LAVINE & GRODZINSKY**<sup>44</sup>(1987), existem comumente três modalidades de estimulação elétrica, ou seja, implantação de eletrodos, corrente induzida ou capacitores acoplados. A modalidade de eletrodos implantados pode ser dividida em semi e totalmente invasivo. Os métodos semi-invasivos incluem as técnicas de corrente elétrica onde os eletrodos são implantados acima ou no local da fratura. No método totalmente invasivo, a unidade inteira é implantada dentro do local fraturado, necessitando de uma intervenção cirúrgica para implantação, trazendo como vantagem a menor cooperação do paciente, e a desvantagem de maior possibilidade de ocorrência de infecção (**BARKER et al.**<sup>6</sup>,1984). A indução

acoplada foi o primeiro método não invasivo que teve uma aplicação clínica (BASSET et al.<sup>7</sup>, 1974). O campo elétrico era induzido no osso através da aplicação de um sinal emitido por um gerador posicionado na pele ao redor do osso envolvido (STEINER<sup>61</sup>, 1990). A taxa de sucesso na reparação de fraturas com este método atingiu cerca de 70% (BRIGHTON et al.<sup>12</sup>, 1981)

Com base nos resultados obtidos, foi observado no período de quatro semanas, diferenças em relação ao processo de reparo ósseo, entre os grupos controle (I) tratado (III) sem enxerto.

No grupo tratado, sem enxerto (III), os animais mostraram uma grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso preenchendo o defeito ósseo, além de uma grande tendência ao afinamento dos bordos ósseos, caracterizando provavelmente o crescimento em direção centrípeta (REID et al.<sup>53</sup>, 1981; ALBERIUS et al.<sup>2</sup>, 1981; ALBERIUS et al.<sup>3</sup>, 1990; ALBERIUS & JOHNELL<sup>1</sup>, 1991; ISAKSSON & ALBERIUS<sup>33</sup>, 1992). Neste mesmo grupo, observamos que em ausência de substrato ósseo o processo de reparo foi acelerado de alguma forma, não permitindo a formação imediata de tecido ósseo (FRIEDENBERG et al.<sup>23</sup>, 1966). Com relação ao grupo

controle (I), embora tenha se observado uma maior quantidade de tecido ósseo, o tecido conjuntivo fibroso permanece interpondo-se entre as duas extremidades ósseas.

Quando os grupos controle (II) e tratado (IV) com enxerto do período de 4 semanas foram analisados verificamos um processo de reparação óssea mais acentuado. Isto provavelmente possa ser explicado pelo fato de que a pré-existência de um tecido ósseo, servindo como matriz, acelere o processo de remodelação por substituição, garantindo, assim, a evolução do processo. Já o grupo tratado com enxerto (IV) mostrou um melhor resultado em termos de reparação, provavelmente devendo-se este benefício a estimulação elétrica (KAMEGAI<sup>39</sup>, 1990).

Os enxertos ósseos membranosos têm sido muito utilizados em reconstruções do esqueleto facial, exercendo a função de preenchimento, sofrendo rápida revascularização e reabsorção lenta (KAMEGAI<sup>39</sup>, 1990 ; ISAKSSON et al.<sup>34</sup>, 1992).

O enxerto ósseo autógeno fornece suprimento suplementar as células osteogênicas, pois funciona como uma matriz ao qual o novo irá incorporar-se, permitindo uma reparação mais rápida. ISAKSSON & ALBERIUS<sup>33</sup>,

1992, avaliaram o efeito do osso alogênico de origem membranosa e endocondral comparado com o enxerto ósseo autógeno em defeitos ósseos criados em calvária de coelhos. Concluíram assim que o osso autógeno é benéfico, pois é biocompatível, porém, traz como desvantagem a necessidade de um segundo sítio cirúrgico e a obtenção em quantidades limitadas.

Muitos autores têm demonstrado a habilidade de pequenas quantidades de corrente elétrica estimular a neoformação óssea (YASUDA<sup>69</sup>, 1953 ; BASSET et al.<sup>7</sup>, 1974). BASSET et al.<sup>8</sup>(1982), avaliaram 83 pacientes com fraturas não consolidadas e que receberam enxertos de osso ilíaco associados com a eletroestimulação. Como resultado os autores observaram que em 93% dos casos houve a reparação. Isto poderia ser explicado pela existência de um efeito sinérgico entre o enxerto ósseo e o campo eletromagnético, causando um aumento na vascularização e diminuição na reabsorção. Conclui-se assim que a eletroestimulação iniciada imediatamente após a realização do enxerto e mantida por duas a quatro semanas é capaz de acentuar a remodelação óssea e as possibilidades de sucesso.

No período de 8 semanas através da análise dos três animais do grupo controle (I) e tratado (III) sem enxerto, verificamos um maior predomínio de tecido conjuntivo fibroso no grupo tratado, porém associado a ilhotas de tecido ósseo neoformado.

A comparação entre os grupos controle (II) e tratado (IV) com enxerto mostrou um grau mais acentuado de revascularização do enxerto, porém, ainda mantendo um padrão desorganizado e imaturo. No grupo tratado (IV), aparentemente verificou-se um estágio mais adiantado de organização com menor quantidade de áreas necróticas. Provavelmente em presença do enxerto a eletroestimulação é capaz de acelerar a sua remodelação (GONÇALVES et al.<sup>28</sup>, 1989).

No período de 15 semanas através da análise do grupo controle sem enxerto (I), observamos ainda tecido conjuntivo fibroso interposto, em menor quantidade, com aumento dos núcleos de calcificação. A revascularização está em fase adiantada e há a tendência a formação de duas corticais. Comparativamente o grupo tratado sem enxerto (III) mostra aparentemente um estágio de reparação mais acentuado com um tecido ósseo neoformado mais organizado.

Tanto nos animais do grupo controle (II) como no tratado (IV) com enxerto verificamos a presença de um enxerto totalmente revascularizado, embora o grupo tratado (IV) mostre aparentemente a presença de um tecido ósseo mais maduro e organizado praticamente indistingüível do osso pré existente.

Segundo **FRIEDENBERG et al.**<sup>25</sup>(1971), que avaliaram 60 coelhos que tiveram suas fibulas osteotomizadas e expostas a eletroestimulação. Concluíram através da análise radiográfica e microscópica, a ocorrência de uma diferença significativa, de 95%, na resistência das fibulas do grupo tratado com a presença de um calo ósseo significante. A presença deste calo ósseo pode ser explicado por um aumento na vascularidade e precipitação de íons cálcio (**ZICHNER**<sup>70</sup>, 1981).

Interesse da Medicina em se utilizar a eletricidade foi acelerada em 1953, quando **YASUDA**<sup>69</sup>(1953), induziu osteogênese através da eletroestimulação. **FUKADA E YASUDA**<sup>26</sup>(1957), demonstraram que o osso seco exhibia potenciais elétricos quando exposto a carga.

As hipóteses para tentar explicar como a eletroestimulação é capaz de acelerar o processo de reparo são as mais diversas, sendo que nenhuma

delas afirma com certeza quais são os mecanismos envolvidos neste processo.

Quando o osso é submetido a uma força mecânica, ele responde com uma determinada força. Esta irá produzir um campo eletromagnético localizado, que é teoricamente detectado pelas células ósseas. O osso recebe a força mecânica próximo ao local de reabsorção que é pequeno, e como a força é maior neste local vai produzir um campo eletromagnético maior nas regiões adjacentes. O campo é detectado pelos osteoblastos que iniciam a formação óssea.

Tem sido postulado que a piezoelectricidade é capaz de controlar o arranjo da arquitetura e densidade óssea frente às demandas funcionais e, como consequência, a corrente elétrica direta afetaria a osteogênese (BASSET et al.<sup>7</sup>, 1974).

Segundo KUBOTA<sup>43</sup>(1995), os pré-osteoblastos seriam recrutados, diferenciados em osteoblastos, e se tornariam ativos para a formação de osso. Como o campo eletromagnético consegue esta ativação é fato desconhecido. Sugere que o campo eletromagnético pode atuar de três formas fundamentais, ou seja, modo mensagem o campo eletromagnético

por um tipo de detector biológico, como se fosse um canal de íons. Quando o sinal é aplicado, seja por uma carga de impacto ou por um gerador de eletroestimulação, o detector biológico é capaz de desencadear a resposta. Já no modo hormônio, o campo eletromagnético é capaz de modificar a ação de um hormônio existente através da alteração ou mudança de seu receptor. Finalmente, no modo substrato, o campo eletromagnético pode alterar a disponibilidade do substrato para esta enzima através de modificações na permeabilidade da membrana e concentração de hidrogênio e oxigênio.

Os nucleotídeos cíclicos e os veículos de cálcio trazem mensagens do meio extracelular através da membrana celular. Interações ocorridas na membrana dos osteoblastos ou com as moléculas de cálcio e potássio, podem levar um sinal elétrico para a síntese de DNA e a divisão celular. Sugere ainda um aumento significativo na quantidade de AMPc, como sinal da citodiferenciação (HAAS<sup>29</sup>, 1995).

Acredita-se ainda que o campo eletromagnético é capaz de desencadear a deposição de cálcio que neutraliza os tecidos com carga

negativa possibilitando uma invasão vascular subsequente e iniciando assim o processo da osteogênese.

Segundo HAAS<sup>29</sup>(1995), que analisou o crescimento condilar de gatos após a realização de condilectomia sob ação da eletroestimulação, concluiu que provavelmente ocorreu um aumento no número de osteoblastos e como consequência da osteogênese, por mecanismos até então desconhecidos.

A literatura tem mostrado uma infinidade de trabalhos, realizado tanto em animais como em humanos mostrando resultados favoráveis quando do tratamento, principalmente, de fraturas não consolidadas com a eletroestimulação (BASSETT et al.<sup>7</sup>, 1974; DUARTE<sup>18</sup>, 1983; DYSON & BROOKES<sup>19</sup>, 1983 ; BARKER et al.<sup>6</sup>, 1984).

No entanto, algumas pesquisas invalidaram o método, e acreditaram que a eficácia da eletroestimulação no tratamento de fraturas não consolidadas está mais relacionada com a imobilização do que propriamente com a aplicação da estimulação elétrica (ENZLER et al.<sup>20</sup>, 1984; FREEDMAN<sup>22</sup>, 1985).

Embora o modelo experimental tenha sido perfeitamente compatível com o experimento proposto e os períodos escolhidos tenham sido baseados em achados da literatura, a avaliação histomorfológica não é adequada para comparações quantitativas, uma vez que se baseia em critérios até certo ponto subjetivos.

Os mecanismos específicos pelos quais a eletroestimulação acelera o processo de reparo do tecido ósseo não são ainda perfeitamente conhecidos. Não é tampouco objeto deste estudo elucidar esta questão. No entanto, foi possível avaliar algumas diferenças na qualidade do tecido ósseo que podem ser identificados como um efeito benéfico da eletroestimulação. Sabe-se que este tratamento na intensidade e frequência que foram aqui empregados, não interferiu em qualquer fase do processo de reparação.

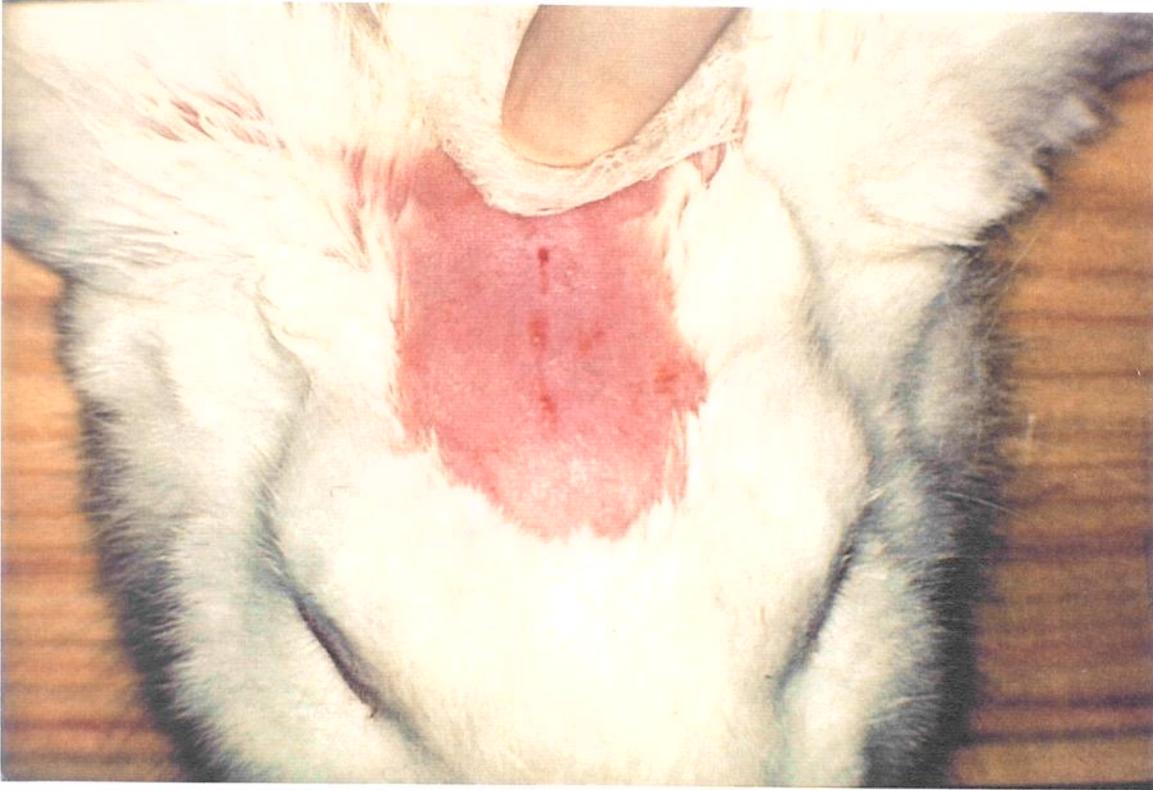
**CONCLUSÃO**

## **9. CONCLUSÃO**

Com base nos resultados obtidos, podemos concluir que :

- 1- Houve interferência nos achados histomorfológicos dos animais dos grupos III e IV em relação aos dos grupos I e II;
- 2- No grupo III foi observada uma predominância de tecido conjuntivo fibroso quando comparado ao grupo I;
- 3- A presença do enxerto favoreceu o processo de reparo ósseo, servindo como substrato para a proliferação de vasos e células ósseas.

**ANEXO**



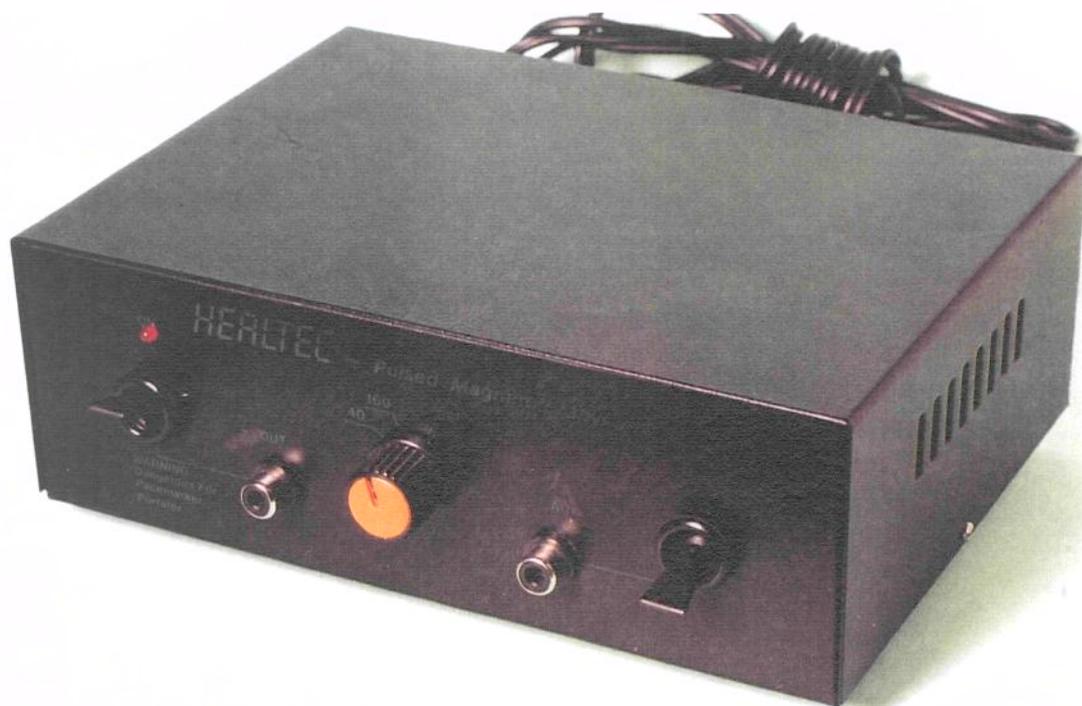
**Figura 1 - Tricotomia da Calvária**



**Figura 2 - Osteotomia nos parietais**



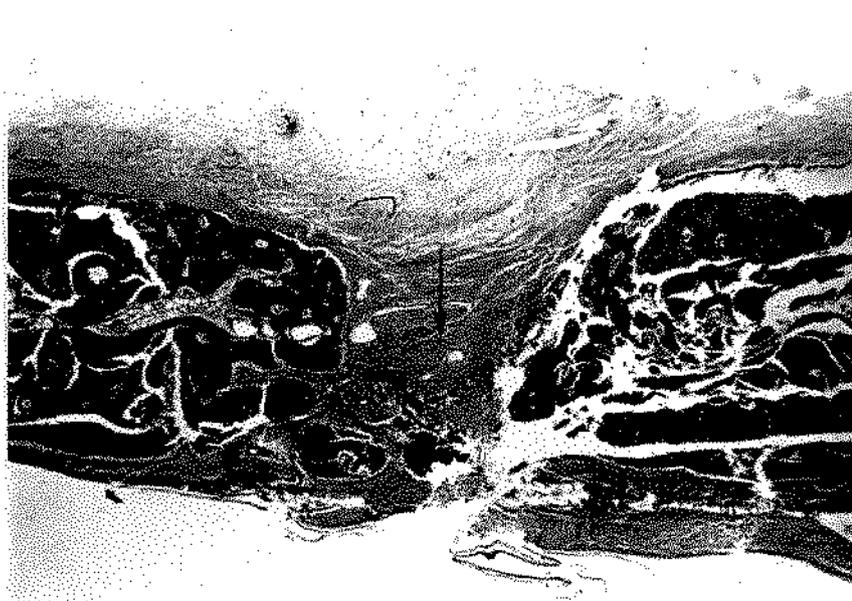
**Figura 3 - Estimulação elétrica dos animais**



**Figura 4 - Aparelho de Estimulação elétrica**



**Figura 5** - Região limite entre o osso pré-existente com corticais bem definidas rodeando uma área de tecido medular e o osso neoformado com aspecto difuso e desorganizado (on). Grupo I, 4 semanas. H.E. 112X.



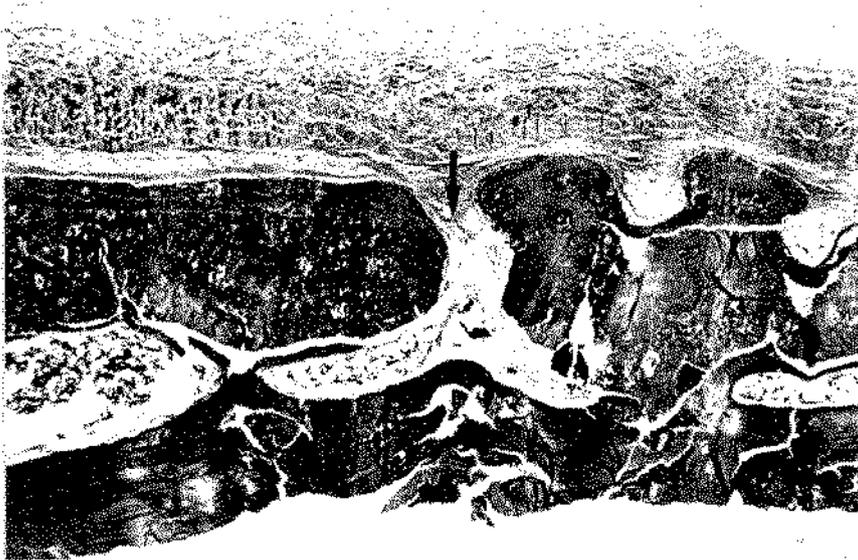
**Figura 6** - Região limite com tentativa de interposição de tecido conjuntivo fibroso (seta) em conexão direta entre os dois bordos ósseos. Grupo I, 4 semanas. T.M. 112X.



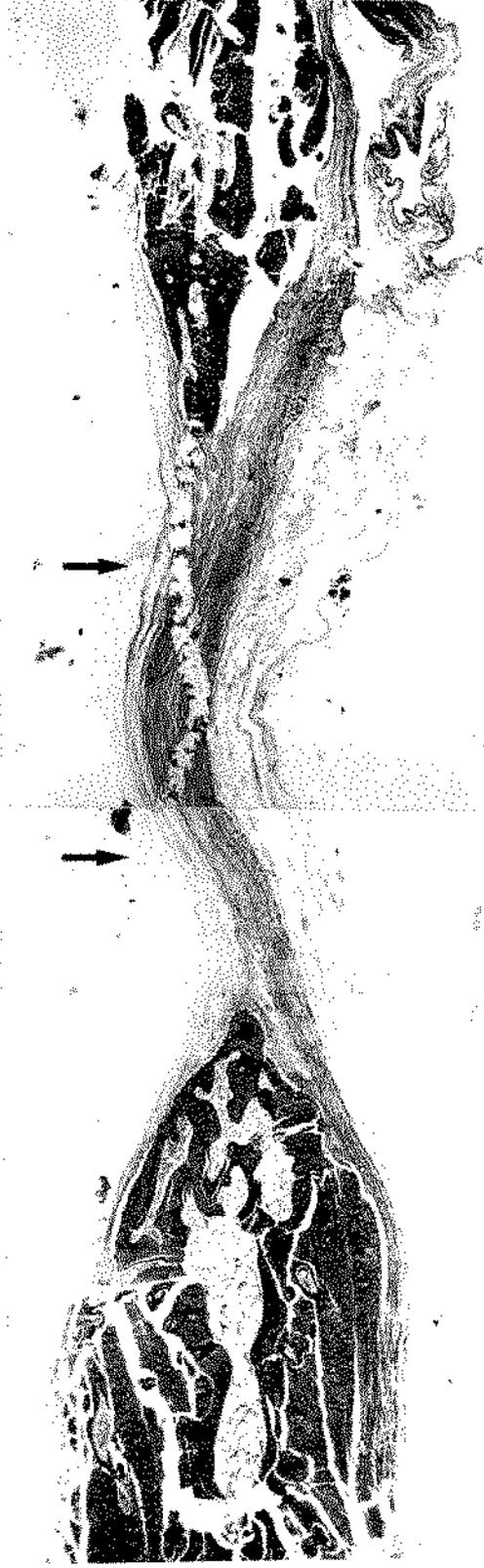
ura 7 - Visão panorâmica da região osteotomizada. Observar região limite entre o osso neoformado (on) e o osso pré-existente, sem conexão entre os bordos (seta). Grupo I, 4 semanas. T.M. 112X.



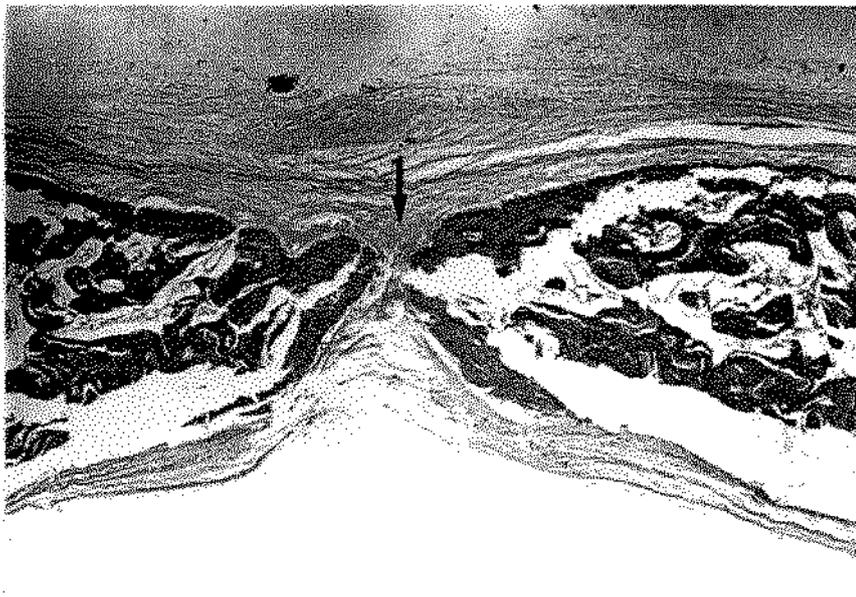
Figura 8 - Visão panorâmica da região osteotomizada. Observar enxerto iniciando processo de revascularização. Grupo II, 4 semanas. T.M.  
112X.



**Figura 9** - Região limite entre o osso pré-existente e o osso neoformado, com duas corticais nítidas (seta) ,invaginação de tecido conjuntivo fibroso e bastante osso na porção central. Grupo II, 4 semanas. T.M. 175X.



**ura 10** - Visão panorâmica da região central osteotomizada. Presença de grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso (seta) e bordas ósseas (★) tendendo ao afinamento e vascularização. Grupo III, 4 semanas T.M. 112X.



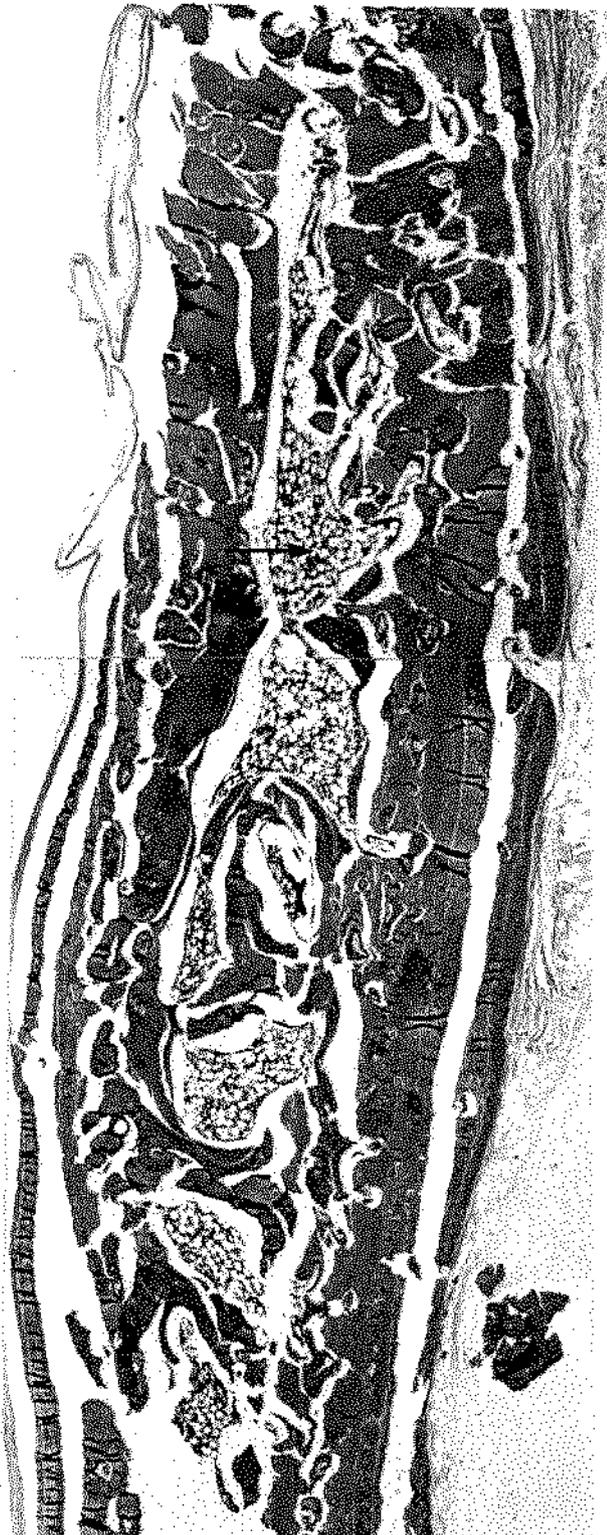
**Figura 11** - Região limite entre o osso pré-existente e o osso neoformado (seta). Observar tecido ósseo neoformado revascularizado, interposto por tecido conjuntivo fibroso. Grupo III, 4 semanas. H.E. 112X.



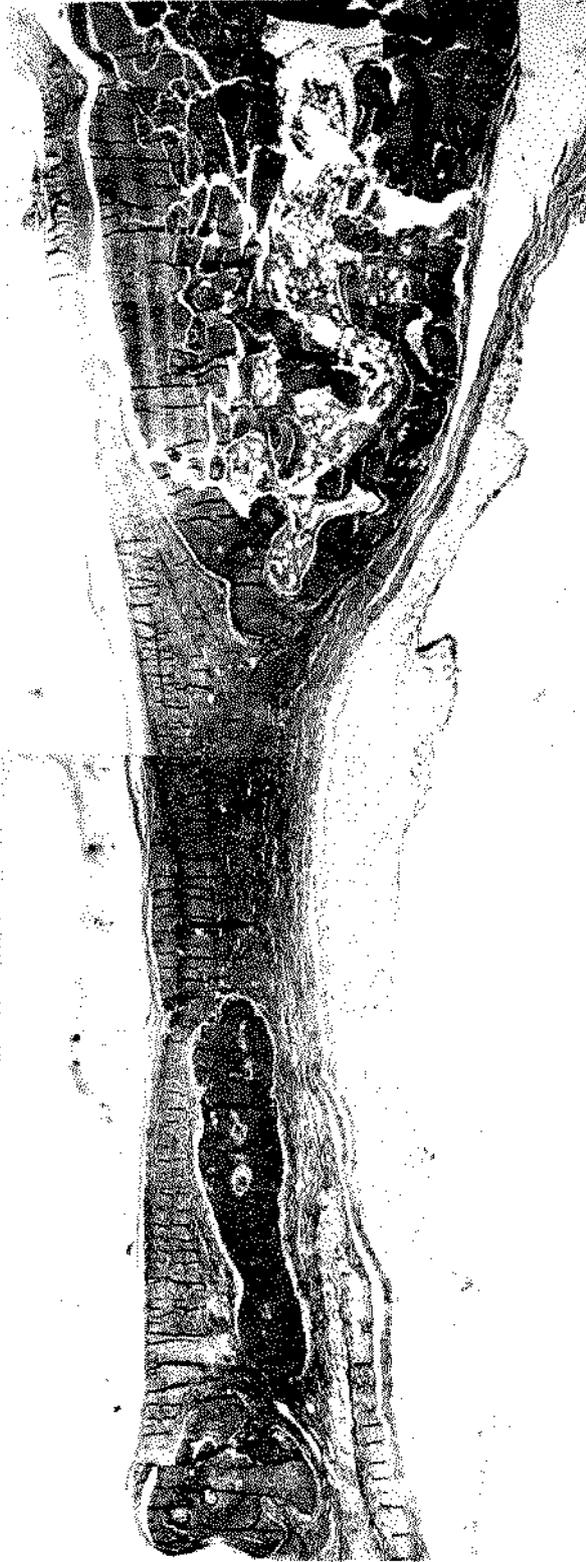
**Figura 12** - Visão panorâmica da região osteotomizada.. Toda a região central do enxerto (seta ) encontra-se revascularizada, recalcificada e remodelada. Grupo IV, 4 semanas. T.M. 112X.



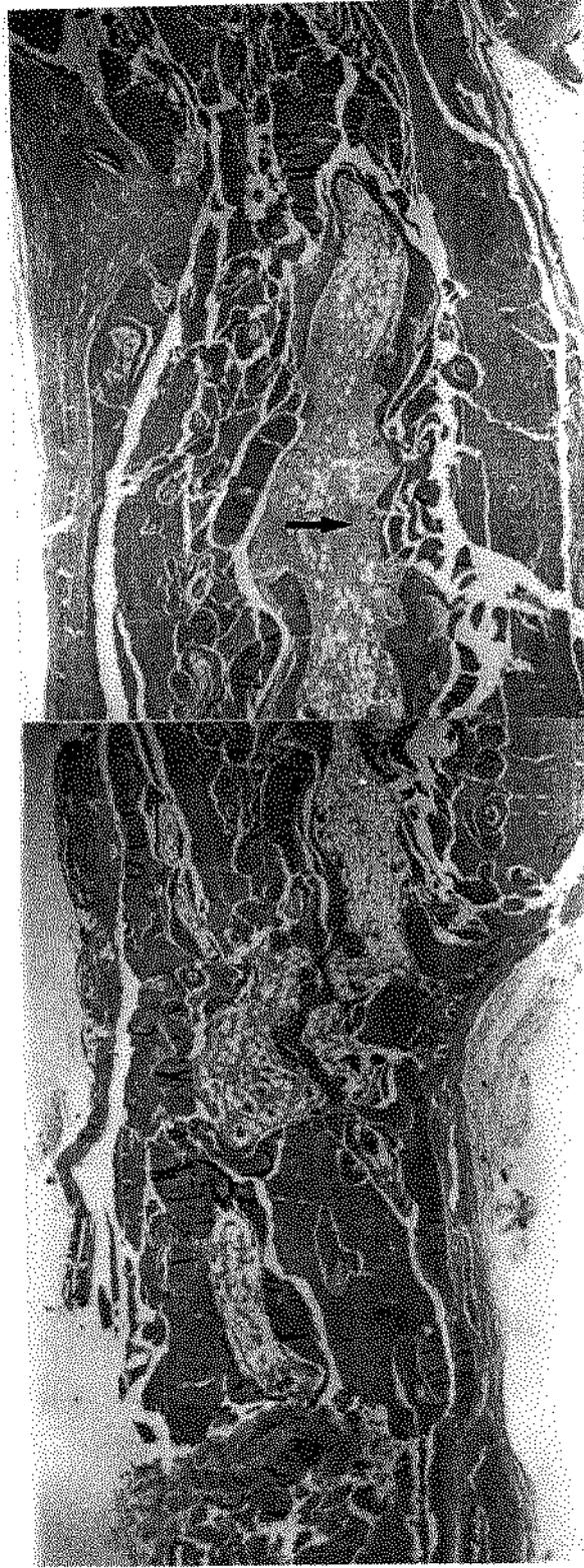
**Figura 13** - Visão panorâmica da região central da osteotomia. Notar interposição de tecido conjuntivo fibroso (seta) e trabéculas de tecido ósseo neoformado (t). Grupo I, 8 semanas. T.M. 112X.



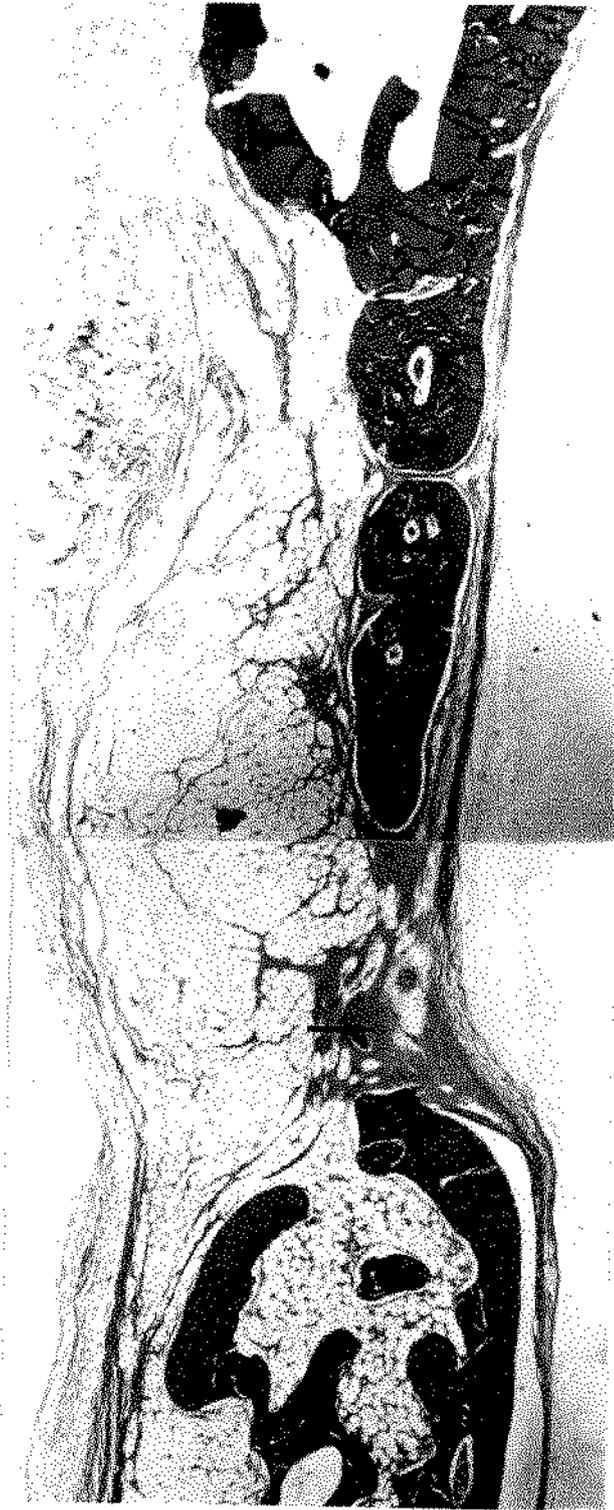
**ira 14 -** Visão panorâmica da região osteotomizada . Observar revascularização do enxerto (seta) mostrando um estágio mais avançado do processo de reparo. Grupo II, 8 semanas. H.E. 112X.



**ura 15** - Visão panorâmica da região osteotomizada. Porção central com grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso (seta) interposto com algumas porções de tecido ósseo neoformado (on). Grupo III, 8 semanas. T.M. 140X



**ura 16 -** Visão panorâmica da região osteotomizada. Presença do enxerto totalmente revascularizado, mostrando avançado grau de reparação (seta). Grupo IV, 8 semanas. H.E. 140X.



ura 17 - Visão panorâmica da região limite entre o osso pré existente e o neoformado. Na região central grande quantidade de tecido conjuntivo interposto (seta) com áreas de osso neoformado (on) sem união de um lado a outro. Grupo I, 15 semanas. T.M.140X.



**ura 18** - Visão panorâmica da região osteotomizada com osso pré existente bilateral. Na porção central (seta) grande quantidade de tecido ósseo vascularizado que não atravessa de um lado a outro, interposto com tecido conjuntivo fibroso (setas). Grupo I, 15 semanas H.E. 175X.



**ira 19** - Visão panorâmica da região osteotomizada. Região central com grande quantidade de tecido conjuntivo fibroso (seta), associado a ilhotas de tecido ósseo (on) e bordas ósseas com extremidades afiladas. Grupo I (★), 15 semanas. H.E. 175X



**Figura 20** - Visão panorâmica da região osteotomizada. Observar enxerto (seta) totalmente revascularizado e com tecido medular. Pequena quantidade de tecido conjuntivo fibroso interposto (seta). Grupo II, 15 semanas. T.M. 112X.



**ira 21** - Visão panorâmica da região osteotomizada. Tendência a formação de duas corticais (c), com intensa revascularização (seta).  
Grupo III, 15 semanas. H.E. 175X.



**ira 22** - Visão panorâmica da região osteotomizada. Não há diferença significativa entre o osso pré-existente e o enxerto. Presença de trabéculas (t) e calo ósseo (c.o). Grupo IV, 15 semanas. H.E. 112X.



**23** - Visão panorâmica da região central do enxerto. Grandes áreas de revascularização e o osso com aspecto maduro (seta). Grupo IV, 15 semanas. T.M. 140X.

... .. **SUMMARY**

## 10. SUMMARY

The purpose of this research was to histologically evaluate the healing process in bone defects surgically created in calvaria of rabbits, with or without bone grafts under the action of eletrotherapy or not.

It were utilized 18 rabbits with 2 perfurations in each calvaria. In the right parietal bone perforation the fragment removed was immediately grafted in its place. In the left parietal bone the fragment was thrown away. The animals in the treated group received 1 hour of eletrotherapy daily, during 21 days. The animals in the control group were submitted to the same stress conditions, but the stimulator was turned off. The sacrifice periods were 4, 7 and 15 weeks, with 6 sacrificed animals in each group.

The analysis of the specimens under optical microscopy revealed bone formation in all animals. In the animals with the bone grafted there was a more noticeable healing when compared to the animals in the control group. With regard the eletrotherapy it seems to affect the bone healing mildly.

**Key Words:** Bone; Osteogenesis; Graft; Electrotherapy; Rabbits as laboratory animals

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>9</sup>

1. ALBERIUS, P., JOHNELL, O. Repair of intramembranous bone fractures and defects in rats. Immunolocalization of bone and cartilage proteins and proteoglycans. J. Cranio maxillofac. Surg., Boston, v.19, n.1, p.15-20, Jan. 1991.
2. \_\_\_\_\_, KLINGE, B., ISAKSSON, S. Management of craniotomy in young rabbits. Lab. Animals., London, v.23, n.1, p. 70-72, Jan. 1989.
3. \_\_\_\_\_, et al. Regeneration of cranial suture and bone plate lesions in rabbits. J. Cranio maxillofac. Surg., Boston, v 18, n.6, p.271-279, Aug. 1990.
4. ATHENSTAEDT, H. Permanent longitudinal electric polarization and pyroelectric behavior of collagenous structures and nervous tissue in

<sup>9</sup> De acordo com a NBR - 6023 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) de 1989. Abreviaturas de periódicos conforme o "World List of Scientific Periodicals."

man and other vertebrates. Nature, London, v.228, n.5274, p.830-834, Nov. 1970.

5. BARCLAY, V., COLLIER, R.J., JONES, A. Treatment of various hand injuries by pulsed electromagnetic energy (Diapulse). Physiotherapy, London, v.69, n.6, p.186-188, June. 1983.
6. BARKER, A.T., et al. Pulsed magnetic field therapy for tibial non - union: interim results of a double - blind trial. Lancet, London, v.1, n.8384, p. 994-996, May. 1984.
7. BASSETT, C.A.L., PAWLUK, R.J., PILLA, A.A. Augmentation of bone repair by inductively coupled eletromagnetic fields. Science, Washington, v.184, n.4136, p.575-577, May. 1974.
8. \_\_\_\_\_, VALDES, M.G., HERNANDEZ, E. Modification of fracture repair with selected pulsing electromagnetic fields. J. Bone Jt Surg, Boston, v.64 A , n.6, p.888-895, July. 1982.

9. BECKERR, R.O., MURRAY, D.G. A method for producing cellular differentiation by means of very small electrical currents. Trans. N.Y. Acad. Sci., New York, v.29, n.5, p.606-615, Mar. 1967.
10. BRIGHTON, C.T. The treatment of non-union with electricity. J. Bone Jt Surg. Am., Boston, v.63A, n.5, p.847-851, May. 1981.
11. \_\_\_\_\_, CRONKEY, J., OSTERMAN, A.L. In vitro epiphyseal plate growth in various constant electrical fields. J. Bone Jt Surg. Am., Boston, v.58A, n.7, p.971-978, Oct. 1976.
12. \_\_\_\_\_. et al. A multicenter study of the treatment of non-union with constant direct current. J. Bone Jt Surg. Am., Boston, v.63A, n.1, p.2-13, Jan. 1981.
13. \_\_\_\_\_. et al. Tibial nonunion treated with direct current, capacitive coupling, or bone graft. Clin.Orthop., Philadelphia, v.321, p.223-234, Dec. 1995.

14. CHAPMAN, M.W. Induction of fracture repair: osteoinduction , osteoconduction, and adjunctive care. In: LANE, J.M. Fracture healing. London: Churchill Livingstone, 1987, p.81-86.
15. CIESZYNSKI, T. Studies on the regeneration of ossal tissue. II. Treatment of bone fractures in experimental animals with electric energy. Archs Immun. Ther. exp.,v.11, p.199-217, 1963.
16. CONNOLLY, J.F. Selection, evaluation and indications for electrical stimulation of ununited fractures. Clin. Orthop., Philadelphia, v.161, p.39-53, Nov./Dec. 1981.
17. CUNDY, P.J., PATERSON, D.C. A ten year review of treatment of delayed union and nonunion with an implanted bone growth stimulator. Clin. Orthop., Philadelphia, v.259, p.216-222, Oct. 1990.
18. DUARTE, L.R. The stimulation of bone growth by ultrasound. Arch Orthop. trauma Surg., New York, v.101, n.3, p.153-159, 1983.

19. DYSON, M., BROOKES, M. Stimulation of bone repair by ultrasound.  
Ultrasound med. Biol., England, p.61-66,1983.[Supplement 2]
20. ENZLER, M.A. et al. Treatment of nonuniting osteotomies with pulsating electromagnetic fields: a controlled animal experiment.  
Clin. Orthop., Philadelphia, v.187, p.272-276, July./Aug. 1984.
21. ESTERHAI, J.L. et al. Detection of synovial pseudoarthrosis by tc. scintigraphy: application to treatment of traumatic nonunion with constant direct current. Clin. Orthop., Philadelphia, v.161, p.15-23, Nov./Dec.1981.
22. FREEDMAN, L.S. Pulsating electromagnetic fields in the treatment of delayed and non - union of fractures: results from a district general hospital. Injury., England, v.16, n.5, p.315-317, 1985.
23. FRIEDENBERG, Z.B. The cellular origin of bioelectric potentials in bone. Calcif.Tissue.Res., Secaucus, v.13, n.1, p.53-62, 1973.

24. \_\_\_\_\_. Stimulation of fracture healing by direct current in the rabbit fibula. J. Bone Jt Surg. Am., Boston, v.53A, n.7, p.1400 - 1408, Oct, 1971.
25. \_\_\_\_\_. Bioelectric potenciales in bone. J. Bone Jt Surg. Am., Boston, v.48A, n.5, p.915-923, Jul, 1966.
26. FUKADA, E., YASUDA, I. On the piezoelectric of bone. J. phys. Soc. Japan., Tokyo, v.12, n.10, p.1158-1162, 1957.
27. GARRATT, A.C. Electrophysiology and electrotherapeutics. Boston: Trickner and Fields.1861.
28. GONÇALVES, J.R. Influência do ultra-som em transplante autógeno de cartilagem hialina de costela para o processo zigomático de ratos. Estudo histológico. Revta. Odont. UNESP, São Paulo, v.18, n. 1/2, p.175-89, 1989.

29. HARRIS, W.H. et al. Differentic response to electrical stimulation: a distinction between induced osteogenesis in intact tibiae and the effect on fresh fracture defects in radii. Clin.Orthop., Philadelphia, v.124, p.31-40, May. 1977.
30. HARTSHONE, R. On the causes and treatment of pseudartrosis and specially of that from of it sometimes called superumerary joint. Am. J. med. Sci., Philadelphia, v.1, p.121-156, 1841.
31. HASS, D.W. Stimulation of condylar growth in the cat with pulsating eletromagnetic currents. Am. J. Orthod. dentofac. Orthop., Saint Louis, v.108, n.6, p.599-606, Dec. 1995.
32. ISAKSSON, S. Aspects of bone healing and bone substitute incorporation - An experimental study in rabbit skull defects. Swedish. Dent.J., Malmo, v.84, p.4-72,1992.[Supplement]

33. ISAKSSON, S., ALBERIUS, P. Comparasion of regenerative capacity elicited by demineralized bone matrix of different embryonic origins. J. Cranio maxillofac. Surg., Boston, v.20, n.2, p.73-80, Feb./Mar. 1992.
34. \_\_\_\_\_ . et al. Contribution of autogenic membranous bone chips and bone paste to healing of rabbit skull defects. Scand. J. dent. Res., Copenhagen, v.100, n.5, p.274-278, Oct. 1992.
35. JEE, W.S.S. et al. The role of bone cells in increasing metaphyseal gard tissue in rapidly growing rats treated with prostaglandin E2. Bone., England, v.8, n.3, p.171, 1987.
36. JOYCE, M.E. et al. Platelet - derived growth factor regulates the initiation of fractures repair. Trans. Ors., v.15, p.94, 1990.
37. \_\_\_\_\_ . et al. Transforming growth factor - B initiates bone and cartilage formation in rat periosteum. Trans. Ors., v.15, p.113, 1990.

38. JUHN, A. et al. Prostaglandin E2 enhanced fracture callus formation. Calcif. tissue Int., New York, v.32a, p.127, 1988.
39. KAMEGAI, A., MORI, M., INOVE, S. Mandibular reconstruction electrically stimulated periosteum. J. Cranio maxillofac. Surg., Boston, v.18 , n.1, p. 8-13, Jan, 1990.
40. KLAPPER, L., STALLARD, R.E. Mechanism of electrical stimulation of bone formation. Ann. N.Y. Acad. Sci., New York, v.238P, p.530-542, 1974.
41. KLECZYNSKI, S. Electrical stimulation to promote the union of fractures. Int. Orthop., New York, v.12, n.1, p.83-87, 1988.
42. KLUG, W., FRANKE, W.G., KNOCK, H.G. Scintigraphic control of bone fracture healing under ultrasonic stimulation: an animal experimental study. Eur. J. Nucl. Med., New York, v.11, n.12, p.494-497, 1986.

43. KUBOTA, K. et al. Overview of effects of electrical stimulation on osteogenesis and alveolar bone. J. Periodont., Chicago, v.66, n.1, p.2-6, Jan. 1995.
44. LAVINE, L., GRODZINSKY, A.J. Currents concepts review electrical stimulation of bone. J. Bone Jt. Surg. Am., Boston, v.69a, n.4, p.626-629, Apr., 1987.
45. LENTE, F.D. Cases of ununited fracture treated by electricity. N. Y. J. Med., New York, v.5, n., p.317-321, 1850.
46. LYNCH, S.E. et al. Effects of the platelet - derived growth factor/insulin like grow factor - I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. J. Periodont., Chicago, v.62, n.11, p.710-716, Nov. 1991.

47. MAMMI, G.I. et al. The electrical stimulation of tibial osteotomies: double-blind study. Clin.Orthop., Philadelphia, v.288, p.246-53, Mar, 1993.
48. Mc LEOD, K.J., RUBIN, C.T. The effect of Low - frequency electrical fields on osteogenesis. J. Bone Jt Surg., Boston, v.74A, n.6, p.920-929, July, 1992.
49. PARK, J.B., YONG, S.O., KENNER, G.H. Dental implant fixation by electrical mediated process. Biomater. Med. Devices Artif. Organs., New York, v.6, n.4, p.291, 1978
50. PELTIER, L. A brief historical note on the use of electricity in the treatment of fractures. Clin. Orthop., Philadelphia, v.161, p.4-7, Nov./Dec. 1981.

51. PIENKOWSKI, D. et al. Comparasion of asymmetrical and symmetrical pulse waveforms in Electromagnetic stimulation. J. Orthop. Res., New York, v.10, n.2, p.247-255, Mar. 1992.
52. REDDI, H., ANDERSON, W.A. Collagenous bone matrix - induced endochondral ossification and hemopoiesis. J. Cell Biol., New York, v.69, n.3, p.557-72, Jun, 1976.
53. REID, C.A., Mc CARTHY, J.G., KOLBER, A.B. A study of regeneration in parietal bone defects in rabbits. Plastic.reconstr. Surg., Baltimore, v.67, n.5, p.591-596, May, 1981.
54. RIJAL, K.P., KASHIMOTO, O., SAKURAI, M. Effect of capacitively coupled electric fields on an experimental model of delayed union of fracture. J. Orthop. Res., New York, v.12, n.2, p.262-267, Mar, 1994.

55. RUBIN, C.T., LANYON, L.E. Osteoregulatory nature of mechanical stimuli: function as a determinant for adaptive remodeling in bone. J Orthop. Res., New York, v.5, n.2, p.300-310, 1987.
56. SEDEL, L. et al. Results of non unions treatment by pulsed electromagnetic field stimulation. Acta Orthop. Scand., Copenhagen, v.196P, p.81-91, 1982. [Supplement].
57. SHARRARD, W.J.W. A double - blind trial of pulsed electromagnetic field for delayed union of tibial fractures. J. Bone Jt Surg., Boston, v.72b, n.3, p.347-355, May, 1990.
58. \_\_\_\_\_ et al. The treatment of fibrous non-union of fractures by pulsing eletromagnetic stimulation. J. Bone Jt Surg., London, v.64b , n.2, p.189-93, 1982.

59. SOMJEN, D., et al. Bone remodeling induced by physical stress is prostaglandin E2 mediated. Biochem. biophys. Acta, Amsterdam, v.627, p.91, 1980.
60. STEFAN, S., SANSEN, W., MULIER, J.C. Experimental study on the electrical impedance of bone and the effect of direct current on the healing of fractures. Clin Orthop., Philadelphia, v.00, n.120, p.264-267, 1976.
61. STEINER, M., RAMP, W.R. Electrical stimulation of bone and its implications for endosseous dental implantation. J. oral Implant., Abington, v.16, n.1, p.20-27, 1990.
62. TONNA, E.A., CRONKITE, E.P. Histochemical and autoradiographic studies on the effects of aging on the mucopolysaccharides of the periosteum. J. biophys. biochem. cytol., New York, v.6, p.171, 1961.

63. URIST, M.R. et al. Bone regeneration under de influence of a bone morphogenetic protein (BMP) beta tricalcium phosphate (TCP) composite in skull trephine defects in dog. Clin. Orthop., Philadelphia, v.214, p.295-304, 1987.
64. WEINMANN, J.P., SICHER, Bone and bones. 2. ed. St.Louis: Mosby, 1955.
65. WITTBJER, J., ROHLIN, M., THORNGREN, K.G. Bone formation in demineralized bone transplants treated with biosynthetic human growth hormone. Scand. J. Plastic. reconstr. Surg., Stockholm, v.17, n.2, p.109-117, 1983.
66. WOLFF, S. Das gesetz der transformation dor knochen. Hirchwold., Berlin, 1882.
67. XAVIER, C.A.M., DUARTE, L.R. Estimulação ultrasônica do calo ósseo: aplicação clínica. Revta bras.Ortop.,v.18, p.73-80, 1983.

68. XIANG, W. et al. The effect of bone morphogenetic protein on osseointegration of titanium implants. J. oral maxillofac. Surg., Orlando, v.51,n.6, p.647-51, June, 1993.
69. YASUDA, I. Fundamental aspects of fracture treatment. J. Kyoto med. Soc., v.4, p. 395-406, 1953.
70. ZICHNER, L. Repair of nonunions by electrically pulsed current stimulation. Clin. Orthop., Philadelphia, v.161, n., p.115-121, Nov/dec, 1981.