

ESTUDO HISTOLÓGICO DOS EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO ULTRA-SÔNICA SOBRE A REPARAÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR EM RATOS

Jamil Elias DIB*

Paulo Villela dos SANTOS JÚNIOR**

Yasmin Rodarte CARVALHO***

- **RESUMO:** Este trabalho teve como objetivo o estudo histológico dos efeitos da estimulação ultra-sônica sobre o processo de reparo em feridas de extração dental em ratos. Foram utilizados 42 ratos divididos em dois grupos, um controle (I) e um experimental (II), de 21 animais cada, dos quais foi extraído o dente incisivo superior direito. O grupo tratado recebeu estímulo ultra-sônico com frequência de repetição de 100 Hz, largura de pulso de 10 μ s, de modo contínuo durante 5 minutos diários, por animal, desde o dia da exodontia até 24 horas antes do sacrifício. Os animais foram sacrificados aos 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 dias pós-operatórios. Os resultados mostraram que não houve alteração na cronologia do processo de reparo alveolar, o qual se completou aos 21 dias, tanto no grupo experimental como no controle.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Processos alveolares; extração dentária; ultra-som.

Introdução

A cronologia do processo de reparo em ferida de extração dental em ratos está bem definida em condições biológicas normais. O preenchimento do alvéolo por tecido ósseo, iniciado por volta do sexto dia pós-operatório, completa-se aproximadamente aos 21 dias.

A partir deste conhecimento, vários autores têm se preocupado em verificar o processo de reparo em ferida de extração dental nas mais diversas condições que

* Cirurgião-dentista.

** Departamento de Diagnóstico e Cirurgia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12245-000 – São José dos Campos – SP.

*** Departamento de Patologia – Faculdade de Odontologia UNESP – 12245-000 – São José dos Campos – SP.

possam comprometê-lo. Trabalhos experimentais têm sido realizados na tentativa de se conseguir a redução do tempo de reparo, bem como de conhecer o seu mecanismo de integração com os vários controles metabólicos do organismo.

O processo de reparo ósseo alveolar foi estudado sob a ação de diversas substâncias, como hormônios^{1, 18} e antibióticos.^{10, 12} O efeito de alterações metabólicas sobre esse processo também tem sido pesquisado.^{4, 11}

Com relação à utilização de substâncias aloplásticas, Saad Neto¹⁷ e Santos Júnior & Melhado²⁰ observaram retardo na cronologia do reparo alveolar com a colocação de Proplast no interior do alvéolo.

Mais recentemente, alguns autores têm utilizado a aplicação de raio *laser* em feridas de extração dental em ratos.^{15, 22}

A partir dos estudos de Fukada & Yassuda⁹ sobre o efeito piezelétrico do osso, iniciaram-se as experiências com a utilização de corrente elétrica na reparação tecidual. Brighton⁵ realizou estimulação elétrica do calo ósseo, tendo obtido bons resultados em pseudartrose hipertrófica e em consolidação retardada de fraturas. Lavine et al.¹⁴ observaram recalcificação de ossos longos com utilização de corrente elétrica de baixa intensidade.

Duarte⁶ utilizou a estimulação ultra-sônica em fraturas de tibia, fêmur e costela de coelho e obteve uma redução de 50% no tempo de reparação das fraturas. Em humanos, Xavier & Duarte²³ estudaram clinicamente a estimulação ultra-sônica do calo ósseo em pseudartroses e o retardo de consolidação de fraturas, tendo obtido resultados satisfatórios.

Aguiar² obteve aceleração do processo de reparo de fratura experimental em arco zigomático de rato, com aplicação diária de ultra-som.

No âmbito odontológico, Santos Júnior & Melhado¹⁹ estudaram histologicamente os efeitos do ultra-som em feridas de extração dental em ratos, e concluíram que houve aceleração na cronologia do processo de reparo alveolar.

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de aprofundar os estudos a respeito dos efeitos da estimulação ultra-sônica sobre o processo de reparo ósseo alveolar em ratos, utilizando a frequência para 100 Hz e a largura de pulso de 10 μ s, de modo contínuo, por períodos de 5 minutos diários.

Material e método

No presente estudo foram utilizados 42 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) machos, pesando entre 130 e 150 g.

Os animais foram anestesiados com éter sulfúrico e submetidos à extração do incisivo superior direito. Após a cirurgia, as bordas das feridas foram suturadas. Em

seguida foi aplicada intraperitonealmente dose única de 0,2 ml de Pentabiótico,* diluído em 5 ml de água destilada.

Os ratos foram divididos em dois grupos de 21 animais cada, sendo grupo I controle e grupo II tratado.

Nos animais do grupo tratado foi realizada a tricotomia de toda a área dorsal do focinho. Em seguida eles foram levados ao estimulador de crescimento ósseo ultrassônico, regulado com frequência de repetição de 100 Hz e largura de pulso de 10 μ s, de modo contínuo, por um período de 5 minutos diários por animal, desde o dia da exodontia até 24 horas antes do sacrifício. Na região dorsal do focinho foi colocado gel de transmissão hidrossolúvel, para melhor distribuição das ondas ultra-sônicas sobre o alvéolo.

De cada grupo, três animais foram sacrificados nos seguintes tempos pós-operatórios: 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 dias. Em seguida, foi removida a maxila direita de cada animal, da qual foi separada uma peça contendo o alvéolo dentário intacto. As peças foram fixadas em formol neutro no mínimo por 24 horas, em seguida descalcificadas e incluídas em parafina. Cortes semi-seriados dos alvéolos em seu sentido longitudinal, com espessura de 6 μ m, foram corados com hematoxilina e eosina. O material foi então analisado por microscopia de luz.

Resultado

Para descrição dos resultados, o alvéolo dentário foi dividido em três terços: cervical, médio e apical, considerados a partir da crista óssea alveolar, em direção ao fundo do alvéolo.

- *3 dias*: o grupo controle mostra o alvéolo dentário preenchido por coágulo sanguíneo. Em toda a sua extensão observa-se discreta proliferação fibroblástica junto das corticais, com alguns macrófagos associados e células endoteliais que começam a delinear pequenos vasos sanguíneos.

No grupo tratado, o alvéolo está praticamente preenchido por coágulo sanguíneo. Nos terços apical e médio observa-se tecido de granulação junto da cortical alveolar, por vezes preenchendo o fundo do alvéolo e outras vezes ocupando parte da região central do terço médio.

- *6 dias*: o grupo controle exhibe, no terço apical do alvéolo, tecido de granulação com discreta formação de trabéculas ósseas imaturas com áreas osteóides, junto das corticais. No terço médio verifica-se menor quantidade de tecido de granulação, junto das paredes alveolares. A porção central dos terços apical e médio e o terço cervical estão preenchidos por coágulo sanguíneo (Figura 1).

* Fontoura Wyeth.

No grupo tratado nota-se discreta formação de tecido osteóide e de trabéculas ósseas imaturas junto das corticais alveolares, especialmente nos terços apical e médio. Na porção mais central destes dois terços observa-se tecido de granulação e coágulo sanguíneo. Junto da cortical palatina notam-se algumas células gigantes multinucleadas (Figura 2).

- *9 dias*: tanto no grupo controle, como no tratado, os terços cervical, médio e apical do alvéolo encontram-se parcialmente ocupados por tecido ósseo.

Junto das corticais alveolares as trabéculas são mais maduras do que as localizadas no centro. Algumas áreas de coágulo sanguíneo remanescente e tecido de granulação ainda são observadas na região mais central do alvéolo.

- *12 dias*: nos grupos controle e tratado nota-se formação óssea alveolar, porém, persistem tecido de granulação e coágulo sanguíneo na região central do alvéolo (Figuras 3 e 4).
- *15 dias*: tanto no grupo controle como no tratado, prossegue a formação óssea, principalmente junto das corticais alveolares, com remanescentes de coágulo sanguíneo e tecido de granulação na região central do alvéolo.
- *18 dias*: nos grupos controle e tratado as cristas alveolares mostram-se remodeladas. Os três terços do alvéolo estão praticamente preenchidos por trabéculas ósseas, que se apresentam mais maduras junto das corticais e mais imaturas no centro do alvéolo. Discretos remanescentes de coágulo sanguíneo e tecido de granulação são observados na região central.
- *21 dias*: os grupos controle e tratado exibem o alvéolo preenchido por tecido ósseo maduro, com espaços medulares pequenos e discreta atividade osteoblástica (Figuras 5 e 6).

Discussão

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que, tanto no grupo controle como no tratado, as etapas do processo de reparo alveolar ocorreram de maneira semelhante à descrita por vários autores, como Euler,⁸ Okamoto,¹⁶ Santos Pinto²¹ e Amler.³

No terceiro dia os alvéolos estão parcialmente preenchidos por coágulo sanguíneo, com discreta formação de tecido de granulação junto das corticais. O aspecto é compatível com o descrito por Amler.³ A partir do sexto dia já se pode notar a formação de osteóide nos alvéolos de ambos os grupos. As modificações prosseguem até as fases finais do processo de reparo, de maneira que não há sinais de formação e reparação óssea predominante, em um ou outro grupo.

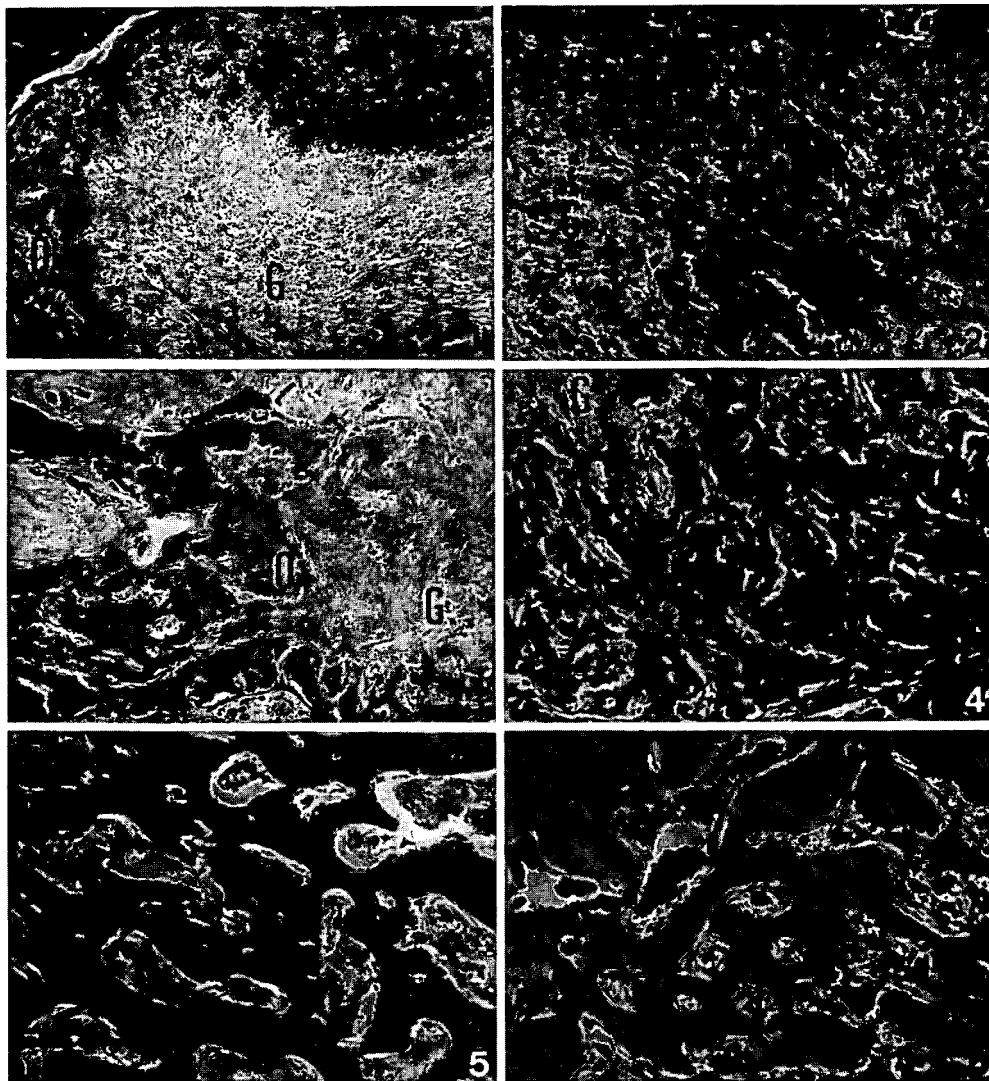


FIGURA 1 - Controle, 6 dias. Terço apical do alvéolo, com formação de tecido ósseo (O) junto da cortical alveolar, tecido de granulação (G) na porção central e remanescentes de coágulo sanguíneo (S). Coloração: H.E.; aumento $\pm 85X$.

FIGURA 2 - Tratado, 6 dias. Terço apical do alvéolo, com formação de tecido ósseo imaturo (O), tecido de granulação (G) e vasos sanguíneos congestos. Coloração: H.E.; aumento $\pm 100X$.

FIGURA 3 - Controle, 12 dias. Terço médio do alvéolo, mostrando formação de tecido ósseo com trabéculas imaturas (O) na porção central e áreas de tecido de granulação (G). Coloração: H.E.; aumento $\pm 70X$.

FIGURA 4 - Tratado, 12 dias. Terço apical do alvéolo, preenchido por tecido ósseo (O) e discreta área de tecido de granulação (G). Coloração: H.E.; aumento $\pm 100X$.

FIGURA 5 - Controle, 21 dias. Terço médio do alvéolo, preenchido por tecido ósseo maduro. Coloração: H.E.; aumento $\pm 100X$.

FIGURA 6 - Tratado, 21 dias. Terço cervical, junto da crista óssea vestibular. Área preenchida por tecido ósseo maduro. Coloração: H.E.; aumento $\pm 95X$.

Há evidência de que todos os tecidos contendo colágeno, estimulados pelo ultra-som, desenvolvem cargas elétricas pelo efeito piezométrico.⁶ No tecido ósseo, o aparecimento de tais cargas origina um campo elétrico que, agindo sobre as células mesenquimais, aumenta sua atividade mitótica e resulta num acréscimo local da população de células precursoras de fibroblastos e osteoblastos.²³

É possível que o ultra-som, agindo sobre os fibroblastos do ligamento periodontal remanescente no alvéolo e sobre as células osteogênicas das corticais ósseas, estimule esses elementos celulares, levando à substituição precoce do coágulo sanguíneo, bem como ao início de formação de trabéculas ósseas.¹⁹ Dyson & Suckling⁷ e Harvey et al.¹³ relatam que o ultra-som aumenta a síntese protéica e interfere na polimerização dos precursores do colágeno.

Santos Júnior & Melhado¹⁹ estudaram os efeitos da estimulação ultra-sônica sobre o processo de reparo em feridas de extração dental em ratos, utilizando o estimulador de crescimento ósseo na frequência de 1.000 Hz, com largura de pulso de 2.000 μ s, de modo contínuo, durante 5 minutos diários. Concluíram que houve formação maior e precoce de tecido de granulação, maior proliferação osteoblástica e maior formação de trabéculas ósseas no processo de reparo alveolar. Além disso, houve remodelação antecipada das cristas ósseas alveolares e aceleração da cronologia do processo de reparo.

Tais achados não foram notados no presente trabalho, no qual usamos frequência de repetição de 100 Hz e largura de pulso de 10 μ s, com o tempo de aplicação de 5 minutos diários. Isso provavelmente significa que a intensidade do estímulo aplicado não foi suficiente para promover os efeitos encontrados por Santos Júnior e Melhado.¹⁹

De acordo com Duarte,⁶ os estímulos de ultra-som produzem cargas elétricas que são naturalmente drenadas através do meio condutor e depositam-se na superfície da célula. Desse modo, um aumento das cargas negativas (elétrons) num local ou no outro acarretará uma diferença de potencial entre eles, e haverá uma corrente elétrica entre estes sítios, podendo estabelecer um gradiente de pH regulado pela diferença de densidade de cargas. Dessa forma, se um local torna-se negativo, e outro, positivo, em relação ao primeiro, o sítio que é negativo torna-se alcalino, e o positivo torna-se ácido. Sob o estímulo do ultra-som, o potencial induzido pelo efeito piezométrico é negativo. Com o campo elétrico assim formado, poderá haver maior atividade mitótica das células estimuladas, as quais se agrupam no sítio de sinal elétrico com pH compatível com a sua natureza. Com isso, aumenta o número de células especializadas, e há uma aceleração do processo de reparo.⁶

Os osteoblastos contêm grande quantidade de fosfatase alcalina intracitoplasmática, e os osteoclastos, além da fosfatase ácida, contêm outras enzimas operando em pH ácido. Quando ocorre agressão ao tecido ósseo, os osteoblastos agrupam-se de preferência nos locais de potencial negativo, e os osteoclastos, nos de potencial positivo.⁶

Seguindo esse raciocínio, nos processos de reparo alveolar estabeleceu-se um potencial positivo apenas junto das cristas alveolares, área onde, às vezes, observam-se osteoclastos em atividade de reabsorção óssea, e apenas nas fases iniciais do processo de reparo.¹⁹

Nossos resultados, mostrando que o reparo alveolar nos animais tratados ocorreu de forma semelhante ao dos controles, em comparação com os resultados do trabalho de Santos Júnior & Melhado,¹⁹ foram provavelmente devidos a estímulo insuficiente para que houvesse aceleração do processo de reparo.¹⁹

Conclusão

Nas condições experimentais deste trabalho concluímos que:

- Não houve alterações significativas no processo de reparo ósseo alveolar.
- O estímulo aplicado não foi suficiente para promover alterações no processo de reparo ósseo alveolar.

DIB, J. E., SANTOS JÚNIOR, P. V. dos, CARVALHO, Y. R. Histological study of the ultrasound stimulation effects on the alveolar repair in rats. *Rev. Odontol. UNESP*, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 221-229, 1994.

- **ABSTRACT:** *The purpose of the present study was to investigate histologically the effects of ultrasound stimulation on the socket wound healing process in rats. The right upper incisor was extracted from 42 rats that were divided in two groups, one control (I) and one experimental (II). The rats from group II were treated with ultrasound stimulation which was applied with the frequency of repetition of 100 Hz and pulse length of 10 µs continuously, during five minutes daily since the extraction day until 24 hours before the sacrifice. The animals were sacrificed at 3, 6, 9, 12, 15, 18 and 21 post operative days. There was no alteration considering socket wound healing process in the treated group, and in both groups (I and II) the healing was completed after 21 days.*
- **KEYWORDS:** *Alveolar process; tooth extraction; ultrasonics.*

Referências bibliográficas

1. ABREU, E. M. *Reparação alveolar em cães: estudo clínico, radiográfico e histopatológico em condições normais e sob ação hormonal*. Piracicaba, 1970. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade de Campinas.

2. AGUIAR, S. A. *Efeito da estimulação ultra-sônica sobre processo de reparação de fratura de arco zigomático: estudo histológico em ratos*. Araçatuba, 1984. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
3. AMLER, M. H. The sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 27, p. 309-18, 1969.
4. BARROSO, J. S. *Processo de reparo em ferida de extração dental, após administração do 6-propil-2 tiouracil, em ratos*. Bauru, 1970. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
5. BRIGHTON, C. T. Healing of non union of the medical melleous by means of direct current. *Trauma*, v. 11, p. 883, 1971.
6. DUARTE, L. R. *Estimulação ultra-sônica do calo ósseo*. São Carlos, 1977. Tese (Livre-Docência) – Escola de Engenharia São Carlos, Universidade de São Paulo.
7. DYSON, M., SUCKLING, J. Stimulation of tissue repair by ultrasound: a survey of the mechanism involved. *Physiotherapy*, v. 64, p. 105-8, 1978.
8. EULER, H. Die Heilung von Extractionswunden. *Dt. Mschr. Zahnheilk*, v. 41, p. 685-99, 1923.
9. FUKADA, E., YASSUDA, I. On the piezoelectric effect of bone. *J. Physiol. Soc. Japan*, v. 12, p. 1158-62, 1957.
10. FURUSE, T. A. et al. Processo de reparo em feridas de extração dental após administração de ciclofosfamida: estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odontol. Araçatuba*, v. 3, p. 197-205, 1974.
11. GRANDINI, A. A., MIGLIORINI, R. H., OKAMOTO, T. Processo de reparo em feridas de extração dental em ratos com diabete aloxânico: estudo histológico. *Bol. Fac. Farm. Odontol. Ribeirão Preto*, v. 7, p. 47-71, 1970.
12. HADDAD, A. et al. A tetraciclina no processo de reparo de ferida de extração dental de ratos. *Rev. Fac. Odontol. Araçatuba*, v. 1, p. 33-40, 1965.
13. HARVEY, W. et al. The *in vitro* stimulation of protein synthesis in human fibroblasts by therapeutic levels of ultrasound. In EUROPEAN CONGRES ON ULTRASONICS IN MEDICINE, 2, 1975, Amsterdam. *Proceedings...* Amsterdam, 1975. p. 10-21. (Excerpta Medica Internacional Congress Series, n. 363)
14. LAVINE, L. S. et al. Eletric enhancement of bone healing. *Science*, v. 175, p. 1118-21, 1972.
15. NICCOLI FILHO, W. D. *Efeitos dos raios laser tipo Hélio-Neônio (He-Ne) no processo de reparo em feridas de extração dental*. Estudo histológico em ratos. Araçatuba, 1991. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
16. OKAMOTO, T. *Estudo histoquímico da reatividade do tecido conjuntivo alveolar após extrações dentais*. Araçatuba, 1964. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
17. SAAD NETO, M. *Implante de “Proplast” em alvéolo dentário*. Estudo histológico em ratos. Araçatuba, 1979. Tese (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

18. SANCHES, M. G., OKAMOTO, T., CARVALHO, A. C. P. Efeito da prednisolona no processo de reparo em feridas de extração dental: estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odontol. Araçatuba*, v. 4, p. 195-205, 1975.
19. SANTOS JÚNIOR, P. V., MELHADO, R. M. Efeito da estimulação ultra-sônica sobre o processo de reparo em ferida de extração dental: estudo histológico em ratos. *Rev. Odontol. UNESP, São Paulo*, v. 19, p. 291-9, 1990.
20. _____. Implante de "Proplast" em alvéolo dental após exodontia por alveolectomia total: estudo histológico em ratos. *Rev. Odontol. UNESP, São Paulo*, v. 21, p. 147-59, 1992.
21. SANTOS PINTO, R. *Mineralização no processo de reparo em feridas de extração dental em cães*. Estudo radiográfico e microscópico. Araçatuba, 1964. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
22. TAKEDA, Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction: experimental study in rats. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v. 17, p. 388-91, 1988.
23. XAVIER, C. A. M., DUARTE, L. R. Estimulação ultra-sônica do calo ósseo. *Rev. Bras. Ortop.*, v. 18, p. 73-80, 1983.

Recebido em 14.12.1993.