

Efeitos do ultra-som de baixa intensidade em defeito ósseo do ramo da mandíbula. Estudo histológico em ratos

**Renata de Cassia GONÇALVES^a, Rodolfo Luís GONÇALVES^b,
Eleny BALDUCCI-ROSLINDO^c**

^a*Mestre em Ciências Odontológicas, Área de Ortodontia, Faculdade de Odontologia, UNESP, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil*

^b*Cirurgião Dentista pela Faculdade de Odontologia, UNESP, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil*

^c*Departamento de Morfologia, Faculdade de Odontologia, UNESP, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil*

Gonçalves RC, Gonçalves RL, Balducci-Roslindo E. Effects of low level ultrasound in bony defect of the mandible ramus. Histological study in rats. Rev Odontol UNESP. 2007; 36(3):193-199.

Resumo: O ultra-som de baixa intensidade pode gerar um campo piezoelétrico no osso, possibilitando, assim, a sua utilização no tratamento da consolidação de fraturas ósseas. O objetivo deste trabalho histológico foi avaliar os efeitos do ultra-som de baixa intensidade no processo de reparo de defeitos ósseos realizados experimentalmente no colo do côndilo de ratos (n = 40). Os animais foram separados em dois grupos: grupo controle e grupo experimental, distribuídos nos seguintes períodos de observação 7, 15, 30 e 45 dias. Foi criado um defeito ósseo no colo do côndilo, em todos os ratos. Após 24 horas da cirurgia, o grupo experimental foi estimulado com ultra-som de baixa intensidade pelo período de 20 minutos por dia. De acordo com os resultados obtidos, concluiu-se que: 1) nos defeitos ósseos tratados com ultra-som ocorreu uma aceleração de neoformação óssea; e 2) o ultra-som de baixa intensidade promoveu proliferações angioblástica, fibroblástica e osteoblástica na região do defeito ósseo, no colo do côndilo do grupo experimental, maiores que no grupo controle.

Palavras-chave: *Ultra-som; defeito ósseo; ramo mandibular; reparação óssea.*

Abstract: The low level ultrasonics can generate a piezoelectric field in the bone, therefore, it can be used on tissue repair of osseous fracture. The aim of this histological study was to assess the effects of ultrasonics on tissue repair of condyle-parcial-fracture in rats (n = 40) at periods of 7,15, 30 and 45 days. It was made a parcial fracture on condyle mandibular base, in all rats. After 24 hours of surgery, the experimental group was stimulated with low level ultrasound for 20-minutes-period in each day. According to obtained results, it was concluded that: 1) the fracture zone treated with ultrasound (experimental group) showed a tissue repair more differentiated than those of control group; and 2) the ultrasound promoted angioblastic, fibroblastic and osteoblastic proliferation.

Keywords: *Ultrasound; osseous fracture; mandibular ramus; osseous repair.*

Introdução

A articulação temporomandibular (ATM) é formada pelo côndilo da mandíbula e pelas eminências articulares do osso temporal da base craniana. As duas articulações, localizadas bilateralmente, uma à direita e outra à esquerda, estão unidas por um único osso, a mandíbula, e atuam como uma unidade¹⁻⁴. Os movimentos excursivos da mandíbula promovidos pelas articulações temporomandibulares e pelos

músculos mastigatórios podem ser dependentes ou afetados pela oclusão dos dentes⁵.

A reparação óssea da ATM tem sido estudada por vários pesquisadores tanto após a condilectomia unilateral⁶⁻¹⁰ como sob o efeito de drogas¹¹. A dinâmica do tecido ósseo, reabsorção ou neoformação, está diretamente ligada à presença de estímulos físicos, químicos ou bacterianos. Assim, a atrofia

óssea na osteoporose por desuso, a neoformação provocada por discretas tensões e reabsorções ocasionadas por compressões durante tratamento ortodôntico, ou mesmo a atividade clástica ante uma agressão ou fraturas ósseas parecem ser fatores passíveis de mediação por potenciais elétricos¹⁴.

A aplicação terapêutica do ultra-som pode ser realizada de duas maneiras: uma por meio de estimulação elétrica com eletrodos (método invasivo), pela qual esses dispositivos são introduzidos na intimidade dos tecidos moles e duros para promover a ativação ou a aceleração da osteogênese, podendo porém, propiciar riscos de infecção ao paciente; outra, pela indução eletromagnética (processo não-invasivo), pela qual se emprega um dispositivo de ultra-som, aplicado sobre a pele tricotomizada dos animais, um meio que necessita de um período longo de tratamento^{12,13}.

Há evidências de que os tecidos constituídos de colágeno, quando estimulados pelo ultra-som, desenvolvem propriedades piezoelétricas similares às dos materiais cristalinos e induzem a estimulação da síntese de proteínas, acelerando o processo de reparo tecidual em áreas de injúria². O fenômeno piezoelétrico ocorre quando há uma deformação mecânica da estrutura óssea e, conseqüentemente, o aparecimento de cargas elétricas do lado oposto¹⁴. O ultra-som de baixa intensidade pode gerar um campo piezoelétrico no tecido ósseo, podendo, assim, ser utilizado no tratamento de consolidação de fraturas ósseas^{3,15,16}.

O efeito da estimulação ultra-sônica na regeneração óssea tem sido investigado por muitos autores^{3,4,8-11,24,28,30}. Todavia, são menos estudados os processos de reparo de fraturas ou lesões dos ossos da face realizadas de forma sistemática e experimental¹⁹. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da estimulação ultra-sônica sobre o reparo de defeito ósseo no colo do côndilo mandibular por meio de um estudo histológico em ratos.

Material e método

Foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus albinus Holtzman*) com peso médio de 160 g. Os animais foram mantidos em ambiente climatizado, com regime hídrico e alimentar “ad libitum”, separados em dois grupos, controle e experimental, e distribuídos nos seguintes períodos de observação 7, 15, 30 e 45 dias. Após anestesia com hidrato de cloral por via intraperitoneal, na proporção de 0,4 mL.(100 g)⁻¹ de peso corporal, foi realizada a tricotomia no lado direito da face e uma incisão vertical 2 mm à frente do meato acústico externo, com seu limite superior ligeiramente acima do arco zigomático. A partir deste ponto fez-se uma outra incisão em direção anterior, perpendicular à primeira, seguindo o longo eixo do mesmo arco. O tecido foi divulsionado, os retalhos rebatidos, o campo operatório foi exposto e, com o auxílio de um micromotor de baixa rotação contendo uma fresa esférica nº ¼, foi realizado um defeito ósseo no colo do côndilo.

Os animais do grupo experimental foram submetidos à estimulação ultra-sônica com um aparelho de ultra-som de baixa intensidade, montado e cedido pelo Departamento de Bioengenharia da Escola de Engenharia de São Carlos – USP (Figura 1). O sinal elétrico produzido pelo equipamento tem as seguintes características: sinal senoidal pulsado com frequência fundamental de 1,5 MHz, largura de pulso de 200 µs e frequência de repetição de 1 KHz. A amplitude do sinal elétrico foi ajustada para produzir uma intensidade acústica entre 20 e 30 mW.cm⁻². Foram realizadas dosimetrias quinzenais do equipamento utilizando-se uma “Balança de Radiação Ultra-sônica” (UPM-DT1, Ohmic Instruments, EUA).

O tratamento com ultra-som foi iniciado 24 horas após o ato cirúrgico, com aplicação diária e duração de 20 minutos em cada animal do grupo experimental. O aparelho de ultra-som foi posicionado na região da articulação temporomandibular direita (Figura 2). Nessa região, aplicou-se



Figura 1. Aparelho de ultra-som de baixa intensidade.



Figura 2. Aplicação do ultra-som na região da articulação temporomandibular direita.

uma fina camada de gel hidrossolúvel para melhor difusão das ondas ultra-sônicas do transdutor do aparelho na pele do animal e atingir a articulação. Para se executar a estimulação ultra-sônica, o animal foi contido com pressão digital sobre uma mesa cirúrgica.

Os animais do grupo controle foram submetidos aos mesmos procedimentos utilizados para os animais do grupo experimental, com exceção da aplicação do ultra-som de baixa intensidade.

Decorridos os períodos experimentais, todos os animais foram sacrificados com dose excessiva de hidrato de cloral via intraperitoneal. A área contendo a ATM foi removida e fixada em Bouin durante 72 horas e, em seguida, descalcificada em solução de citrato de sódio e ácido fórmico em partes iguais²¹. Após a descalcificação, as peças receberam tratamento histológico de rotina para inclusão em parafina. Cortes semi-seriados foram feitos paralelamente ao longo eixo do processo condilar com 6 µm de espessura e, em seguida, foram corados pelo método da hematoxilina e eosina para análise histológica em microscopia óptica.

Resultado

Grupo controle

A loja cirúrgica localizada na região do defeito ósseo, aos 7 dias, apresenta-se parcialmente preenchida por restos de tecido de granulação, por tecido conjuntivo em organização com numerosos fibroblastos e delgadas trabéculas ósseas neoformadas (Figura 3). No período de 15 dias, a loja cirúrgica mostra um padrão de normalidade característico da reparação óssea com trabéculas ósseas mais espessas, contornando espaços medulares amplos, indefinidos, e uma discreta proliferação angioblástica (Figura 4). Nos

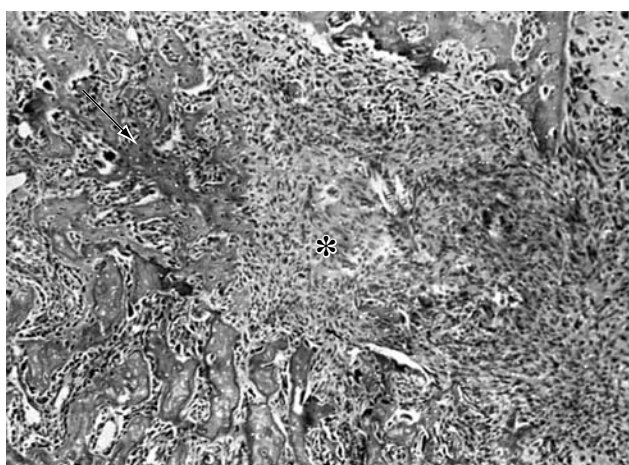


Figura 3. Grupo controle, 7 dias. Loja cirúrgica preenchida por tecido de granulação (*) e delgadas trabéculas ósseas neoformadas (seta). HE 100x.

períodos de 30 e 45 dias, os animais apresentam o padrão de osteogênese uniforme, variando apenas a quantidade de tecido formado, culminando com o preenchimento da loja cirúrgica por tecido ósseo maduro, com espaços medulares pequenos e definidos (Figuras 5 e 6).

Grupo experimental

A loja cirúrgica localizada na área do defeito ósseo aos 7 dias contém tecido conjuntivo mais organizado, com numerosos fibroblastos e trabéculas ósseas neoformadas, algumas delgadas e outras mais espessas, em relação ao grupo controle. Observa-se a presença de osteoblastos justapostos à superfície óssea, osteócitos e alguns osteoclastos (Figura 7).

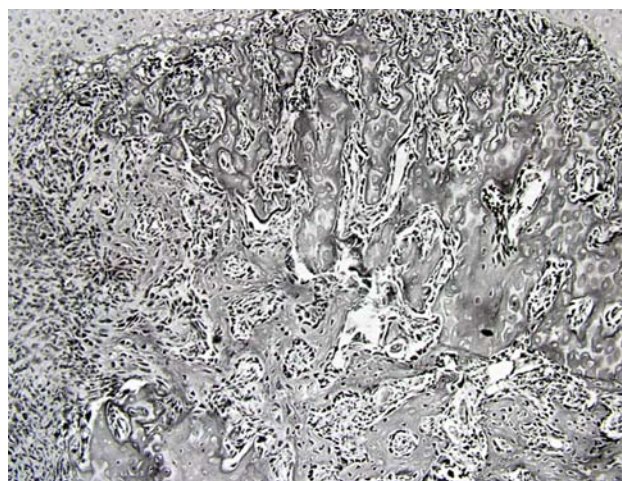


Figura 4. Grupo controle, 15 dias. Loja cirúrgica apresenta trabéculas ósseas mais espessas permeando espaços medulares amplos e indefinidos. HE 100x.

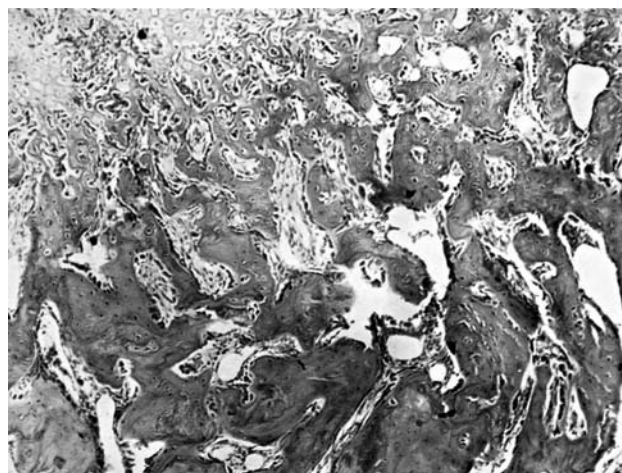


Figura 5. Grupo controle, 30 dias. Loja cirúrgica preenchida uniformemente por tecido ósseo com variação na maturação do tecido. HE 100x.

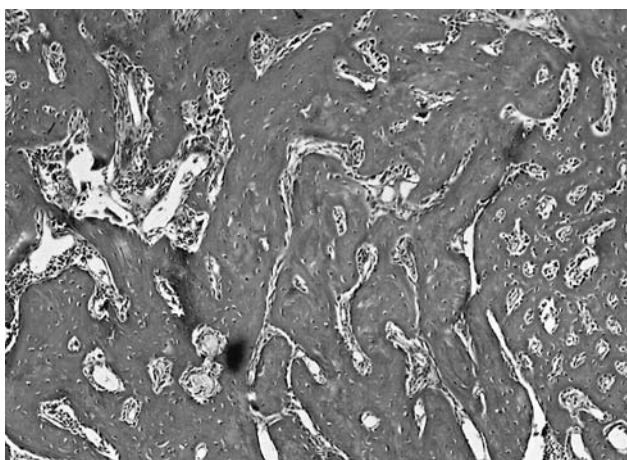


Figura 6. Grupo controle, 45 dias. Loja cirúrgica preenchida por tecido ósseo maduro. HE 100x.

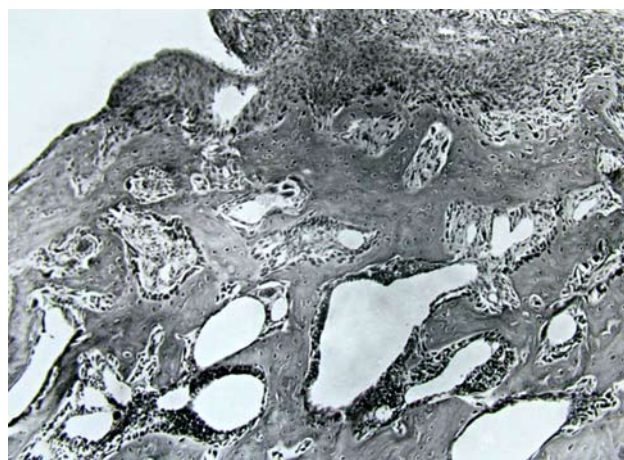


Figura 8. Grupo experimental, 15 dias. Loja cirúrgica preenchida por tecido ósseo neoformado com maturação variável. HE 100x.

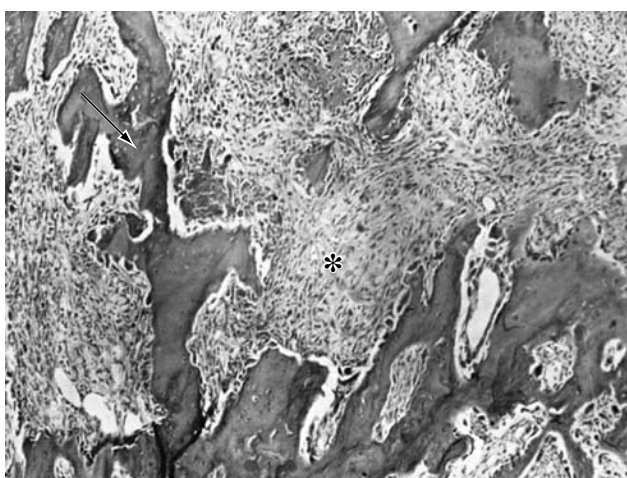


Figura 7. Grupo experimental, 7 dias. Loja cirúrgica mostra tecido conjuntivo em organização (*), com trabéculas ósseas neoformadas (seta). HE 100x.

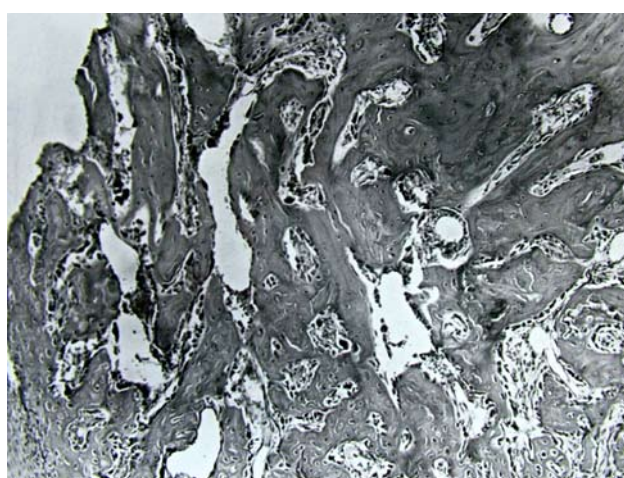


Figura 9. Grupo experimental, 30 dias. Loja cirúrgica preenchida por tecido ósseo maduro delimitando espaços medulares indefinidos. HE 100x.

A loja cirúrgica, aos 15 dias, está preenchida parcialmente por tecido ósseo neoformado com grau de maturação variável e com amplos espaços medulares. Há proliferação angioblástica mais evidente que no período anterior, tanto em relação ao grupo controle quanto ao experimental (Figura 8).

Nos períodos de 30 e 45 dias, observa-se que a loja cirúrgica apresenta-se remodelada por tecido ósseo compacto, circundando espaços medulares pequenos e definidos, preenchido por tecido conjuntivo frouxo. O processo de reparação tecidual é semelhante ao do grupo controle, porém a neoformação e a maturação óssea são mais intensas no grupo experimental. (Figuras 9 e 10).

Discussão

Durante o período experimental, nos animais do grupo controle, foram realizados procedimentos semelhantes aos do grupo experimental, com exceção da aplicação do ultrassom, com a finalidade de comparar a reparação óssea em ambos os grupos.

No grupo controle, aos 7 dias, observamos que a loja cirúrgica localizada na região do defeito ósseo no colo do côndilo estava parcialmente preenchida por restos de tecido de granulação, por tecido conjuntivo em organização, com numerosos fibroblastos e delgadas trabéculas ósseas neoformadas. Resultados semelhantes aos de estudos histológicos com ratos¹⁴, camundongos^{10,22}, macacos^{9,23}, nos quais foram

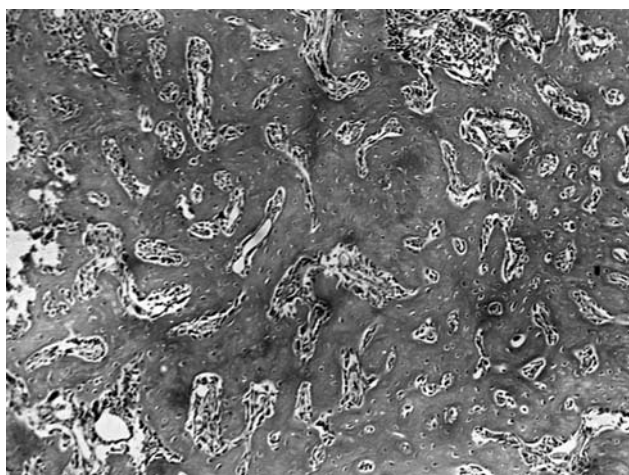


Figura 10. Grupo experimental, 45 dias. Loja cirúrgica preenchida por tecido ósseo maduro permeando espaços medulares pequenos e definidos. HE 100X.

observadas proliferação osteoblástica e formação de delgadas trabéculas ósseas.

No período de 15 dias, a loja cirúrgica do grupo controle mostrava um padrão de normalidade característico, com maior deposição de tecido ósseo e uma discreta proliferação angioblástica. No mesmo período, Martins et al.¹⁰ observou, na condilectomia unilateral em camundongos, que o espaço cirúrgico era preenchido parcialmente ou quase totalmente por cordões de células osteogênicas. Nos períodos de 30 e 45 dias, notamos uma progressão no padrão de neoformação óssea, variando apenas a quantidade de tecido formado, culminando com o preenchimento da loja cirúrgica por tecido ósseo maduro, com espaços medulares pequenos e definidos. Estes resultados são condizentes com os observados por autores que realizaram condilectomia unilateral em camundongos^{10,11}, em cães²⁵ e em macacos⁹. Nos estudos de Martins²², o processo de reparo após condilectomia mandibular unilateral em camundongos, nos períodos de 30 e 45 dias, era caracterizado pela presença de tecido ósseo com sinais de remodelação, proporcionando a regeneração total do côndilo. Em um estudo com macacos⁹, foi verificada, após condilectomia unilateral, a formação de um novo côndilo e a ocorrência de modificações na articulação temporomandibular e nos componentes do sistema estomatognático.

Os tecidos com colágeno na sua constituição, como, por exemplo, o tecido ósseo, mediante uma deformação mecânica (fratura óssea), desenvolvem cargas elétricas geradas pelo efeito piezoelétrico^{13,17,18,24}. Essas cargas bioelétricas formadas nos ossos são totalmente alteradas nos períodos iniciais durante o reparo de uma fratura óssea, estimulando tanto a neoformação quanto a reabsorção de osso¹⁶. Como o ultra-som de baixa intensidade pode gerar um campo piezoelétrico no tecido ósseo, acredita-se que tenha influenciado

o desencadeamento de variações na piezoletrecidade do osso fraturado, na bioquímica das células osteogênicas ou no meio extracelular^{26,27}.

No tecido ósseo fraturado, as cargas elétricas ultra-sônicas atuam alterando o comportamento das células mesenquimais e aumentando a atividade mitótica, o que resulta num aumento local das células precursoras de fibroblastos e osteoblastos²⁰. O ultra-som, também, aumenta a síntese protéica, interferindo favoravelmente na polimerização dos precursores do colágeno^{18,27-29} e, conseqüentemente, promovendo maior deposição óssea²⁵.

Considerando essas características, a análise dos resultados do grupo experimental aos 7 dias mostrava tecido conjuntivo mais organizado, com numerosos fibroblastos e neoformação óssea com presença maior de osteoblastos e osteócitos, quando comparado ao grupo controle, resultados semelhantes aos de Becker, Murray¹⁶.

A capacidade de o ultra-som de baixa intensidade estimular a angiogênese e a microcirculação local pode ser evidenciada pela proliferação vascular. No entanto, o efeito eletromecânico relacionado com potenciais de corrente está embasado na existência de fluidos que preenchem os vasos sanguíneos dos ossos¹³. Todavia, há dificuldade para se saber qual a menor intensidade do ultra-som capaz de causar vibrações dos fluidos no interior dos vasos sanguíneos para gerar cargas elétricas no local das deformações ósseas. A importância da proliferação angioblástica para a irrigação sanguínea das células e para a difusão das cargas elétricas oriundas da estimulação ultra-sônica foi realçada por vários autores^{12-14,16,27}.

Observamos que a loja cirúrgica do grupo experimental, no período de 15 dias, estava preenchida parcialmente por tecido ósseo neoformado com grau de maturação variável e com amplos espaços medulares, além de uma proliferação angioblástica mais evidente que no período anterior, tanto em relação ao grupo controle quanto ao experimental, o que está de acordo com os relatos descritos na literatura^{12,16,18,27,30}.

Em nossos resultados nos períodos de 30 e 45 dias, nos animais do grupo experimental, observamos que o padrão de formação óssea manteve-se semelhante ao do grupo controle, porém com maior formação de tecido ósseo maduro permeando espaços medulares pequenos e definidos. Assim, tornou-se evidente que os efeitos da estimulação ultra-sônica sobre o processo de reparo ósseo proporcionaram maior formação de trabéculas ósseas e aceleração no processo reparador, resultados condizentes com os citados por outros autores^{12-14,20,24}.

A análise histológica dos resultados demonstrou que a região do defeito ósseo submetida ao tratamento com ultra-som de baixa intensidade apresentou um processo de osteogênese mais acelerado e evoluído do que na região do defeito ósseo do grupo controle, não submetida ao ultra-som. Essa diferença é caracterizada pelas maiores

proliferações vascular, fibroblástica e osteoblástica. Esses eventos histológicos foram evidenciados principalmente nos períodos iniciais, corroborando os resultados de outros pesquisadores^{6,7,11}.

Conclusão

Nas condições experimentais utilizadas e baseadas nos resultados obtidos, concluiu-se que:

- Os defeitos ósseos tratados com ultra-som (grupo experimental) mostraram ter ocorrido, no processo de reparação óssea, uma aceleração de neoformação quando o grupo foi comparado com o grupo controle;
- O ultra-som propiciou a proliferação angioblástica, fibroblástica e osteogênica na região do defeito ósseo no colo do côndilo do grupo experimental, maior que no grupo controle.

Agradecimento

Os autores manifestam seus agradecimentos aos técnicos do Laboratório de Histologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, Luis Antonio Potenza e Pedro Sérgio Simões, pelo processamento histológico e pelos cuidados com os animais e ao biólogo Nelson Ferreira da Silva Júnior, da Escola de Engenharia de São Carlos - USP por ter cedido o aparelho de ultra-som de baixa intensidade.

Referências

1. Bhussry BR. Articulação temporomandibular. In: Bhaskar, SN. Histologia e embriologia oral de Orban. 8ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 1978. p.405-14.
2. Katchburian E, Arana V. Articulação temporomandibular. Histologia e embriologia oral. São Paulo: Ed Panamericana; 1999. p.355-74.
3. Silva O, Duarte LR. A proposed mechanism for ultrasonic bone growth stimulation. Transactions of the 9th Annual Meeting of the Bioelectrical Repair and Growth Society, Sept 17-20; Cleveland; 1989.
4. Ten Cate AR. Oral histology: development, structure and function. 4th ed. St. Louis: Mosby, 1994.
5. Mjör IA, Fejerskov O. Human oral embryology and histology. Copenhagen: Munksgaard; 1986. p.285-95.
6. Jarabak JR. Regeneration of the mandibular condyle in the rat. J Dent Res. 1950; 29: 692-3.
7. Jarabak JR, Vehe K. Condylar regeneration in the rat. J Dent Res. 1952; 31: 510.
8. Jolly M. Condilectomy in the rat. An investigation of the ensuing repair processes in the region of the temporomandibular articulation. Aust Dent J. 1961; 6: 243-56.
9. Martins AA. Influência da condilectomia unilateral da mandíbula sobre a forma e arquitetura do crânio e dos músculos da mastigação do macaco-prego (*Cebus apella*) [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1982.
10. Martins AA, Matheus MTG, Hetem S. Influência do disco articular na reorganização do processo condilar da articulação temporomandibular após condilectomia unilateral em camundongos (*Mus musculus*). Rev Odontol UNESP. 1986/1987; 15/16: 65-81.
11. Balducci-Roslindo E, Roslindo NC, Hetem S, Maruyama NT, Vilarinho S. Reorganização do processo condilar da articulação temporomandibular após condilectomia unilateral, em camundongos tratados com Zidovudina (AZT). Rev Cienc Biomed. 1996;17(1):55-66.
12. Duarte LR. Estimulação ultra-sônica do calo ósseo [tese]. São Carlos: Universidade de São Paulo; 1977.
13. Duarte LR. The stimulation of bone growth by ultrasound. Arch Orthop Trauma Surg. 1983;101:153-9.
14. Fukada E, Yasuda I. On the piezoelectric effect of bone. J Physiol Soc Japan. 1957;12:1158-62.
15. Basset CAL, Pawluk RJ, Pilla AA. Augmentation of bone repair by inductively coupled electromagnetic fields. Science. 1974;184:575-7.
16. Becker RO, Murray DG. A method for producing cellular dedifferentiation by means of very small electrical currents. Trans N Y Acad Sci. 1967;29:606-15.
17. Dyson M, Pond JB, Joseph J, Warwick R. The stimulations of tissue regeneration by means of ultrasound. Clin Sci. 1968;35:273-85.
18. Dyson M, Suckling J. Stimulation of tissue repair by ultrasound: a survey of the mechanism involved. Physiotherapy. 1978;64:105-8.
19. Richman PT, Laskin D.M. The healing of experimentally produced fractures of the zygomaticomaxillary complex. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1964;17:701-11.
20. Xavier CAM, Duarte LR. Estimulação ultra-sônica do calo ósseo. Rev Bras Ortop. 1983;18:73-80.
21. Morse A. Formic acid-sodium citrate decalcification and butyl alcohol dehydration of tooth and bone for sectioning in paraffin. J Dent Res. 1945;24:143-53.
22. Martins AA. Estudo histológico do processo de reparo pós condilectomia unilateral em camundongos (*Mus musculus*) [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da UNESP; 1978.
23. Sarnat BG. Facial and neurocranial growth after removal of the mandibular condyle in the *Macaca rhesus* monkey. Am J Surg. 1957;94:19-30.
24. Santos RM. Estudo anatômico e funcional da articulação temporomandibular após condilectomia unilateral com enxerto autógeno de processo coronóide [dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica; 1992.
25. Santos-Júnior PV, Melhado RM. Efeito da estimulação ultra-sônica sobre o processo de reparo em ferida de extração dental: estudo histológico em ratos. Rev Odontol UNESP. 1990;19:291-9.
26. Aguiar SA. Processo de reparo em fratura de osso zigomático sob a ação do ultra-som. Estudo histológico

- em ratos [tese]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da UNESP; 1984.
27. Dib JE, Santos-Júnior PV, Carvalho YR. Estudo histológico dos efeitos da estimulação ultra-sônica sobre a reparação óssea alveolar em ratos. *Rev Odontol UNESP*. 1994;23:221-9.
28. Hayes A.M. Changes in the mandibular fossa of the rat following unilateral condylectomy. *J Can Dent Assoc*. 1961;27:647-57.
29. Hayes A.M. Histological study of regeneration of the mandibular condyle after unilateral condylectomy in the rat. *J Dent Res*. 1967;46:483-91.
30. Brighton CT. Healing of non union of the medial malleolus by means of direct current. *J Trauma*. 1971;11:883.

