

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA**

RAPHAEL CORDEIRO SCHNEIDER

**ANÁLISE DOS EFEITOS DO CAMPO MAGNÉTICO SOBRE A
REPARAÇÃO DE FERIDA CIRÚRGICA NO DORSO DE RATOS**

Vitória

2013

RAPHAEL CORDEIRO SCHNEIDER

**ANÁLISE DOS EFEITOS DO CAMPO MAGNÉTICO SOBRE A REPARAÇÃO DE
FERIDA CIRÚRGICA NO DORSO DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos à obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria José Gomes

Co-Orientadora: Prof.^a Dr.^a Daniela Nascimento Silva

Vitória,

2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

S359a Schneider, Raphael Cordeiro, 1986-
Análise dos efeitos do campo magnético sobre a reparação
de ferida cirúrgica no dorso de ratos / Raphael Cordeiro
Schneider. – 2013.
68 f. : il.

Orientador: Maria José Gomes.
Coorientador: Daniela Nascimento Silva.
Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da
Saúde.

1. Campos magnéticos. 2. Magnetismo. 3. Cicatrização de
feridas. I. Gomes, Maria José. II. Silva, Daniela Nascimento. III.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da
Saúde. IV. Título.

CDU: 616.314

RAPHAEL CORDEIRO SCHNEIDER

**ANÁLISE DOS EFEITOS DO CAMPO MAGNÉTICO SOBRE A
REPARAÇÃO DE FERIDA CIRÚRGICA NO DORSO DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos à obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Aprovado em 30 de julho de 2013.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof.ª Dr.ª Maria José Gomes
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora



Prof.ª Dr.ª Tânia Regina Grão Velloso
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Nyam Florêncio da Silva
Universidade Federal do Espírito Santo

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Jeová Deus, pois sei que, apartado de sua ajuda e força ativa, jamais conseguiria alcançar o objetivo do presente momento, uma vez que ele “dá poder ao cansado; e faz abundar a plena força para aquele que está sem energia dinâmica.” (Isaías 40:29)

Agradeço à minha família que, com erros e acertos, sempre me apoiou emocional e financeiramente. Em especial, agradeço ao meu pai pelo apoio e amizade ao longo desses anos.

Agradeço, especialmente, à minha amada esposa, Thaís, pelo apoio, carinho, atenção e paciência a mim dedicados, bem como por fazer além do que pode, pela disposição de sempre me ajudar, pela compreensão, suporte e amor a todo momento demonstrados.

Agradeço à minha orientadora, Dr.^a Maria José Gomes, por ter sempre me ajudado em vários momentos da graduação e pós-graduação com orientações acadêmicas, profissionais e pessoais, sendo por mim considerada uma grande amiga.

Agradeço à minha co-orientadora, Dr.^a Daniela Nascimento Silva, pela grande contribuição a este trabalho bem como pela companhia e convívio nesses anos onde, sem dúvida, ajudou em meu crescimento tanto pessoal quanto profissional.

Agradeço também aos professores, Dr.^a Tânia Regina Grão Velloso e Dr. Nyam Florêncio da Silva, por gentilmente aceitarem fazer parte de minha banca examinadora e por suas grandes contribuições fornecidas para a realização deste trabalho.

Agradeço à coordenadora do curso de pós-graduação em Clínica Odontológica da UFES, Dr.^a Selva Maria Gonçalves Guerra, por sempre se preocupar com a melhora e bom andamento do curso bem como por se mostrar disposta a ajudar quando solicitada.

Agradeço também a Nayara Cardoso Reis pela amizade e companheirismo que nessa trajetória acabou por se construída e fortalecida pelas peculiaridades dos acontecimentos ao longo do curso. Agradeço também aos demais colegas do mestrado, pelos momentos de alegria e aprendizado tanto em sala de aula quanto em 1 mês de convívio extremo em São Paulo.

Agradeço à coordenadora do biotério, Dr^a Livia Carla de Melo Rodrigues, ao responsável técnico Rodolfo, e aos funcionários João Batista e Mário Armando por serem tão prestimosos e sempre solícitos para o prosseguimento e conclusão do trabalho.

Agradeço imensamente à responsável pelo laboratório de Histologia, Lucienne Bessoni Oliveira, pois sem sua ajuda jamais teria conseguido concluir a tempo e de forma tão satisfatória a confecção das lâminas histológicas.

Agradeço também às professoras doutoras, Rossiene Motta Bertollo, Rosa Maria Lourenço Carlos Maia, Liliana Aparecida Pimenta de Barros e Teresa Cristina Rangel Pereira pelo excelente convívio e aprendizado durante o período prático na disciplina de Cirurgia BucoMaxiloFacial II no ambulatório IV da Odontologia na UFES. Não posso deixar de registrar agradecimento a todos os demais professores do Curso de Odontologia da UFES que sem dúvida contribuíram para a minha formação como Cirurgião Dentista e início da carreira de pesquisador.

Agradeço também à FAPES pelo apoio financeiro dado a esta pesquisa.

RESUMO

Campo magnético é uma região do espaço onde se manifesta o magnetismo, decorrente de materiais com propriedades magnéticas – denominados ímãs. A terapia de campo magnético para diversos tipos de afecções tem-se tornado comum. O estudo tem como objetivo analisar os efeitos do campo magnético sobre a cicatrização de feridas confeccionadas em tecidos moles do dorso de ratos. É um estudo experimental quantitativo com o uso de 54 ratos machos Wistar com 120 dias de vida, pesando entre 250 e 300g, distribuídos em três grupos (C, E1 e E2), nos quais foram confeccionadas feridas cutâneas em seu dorso. Os animais do grupo E1 foram mantidos sob influência do polo norte de um ímã com intensidade de campo magnético de 850G. Já os animais do grupo E2 foram mantidos sob influência do polo sul de um ímã com intensidade de campo magnético de 850G. Em cada um dos períodos de análise (03, 07 e 15 dias pós-operatórios) foram medidas macroscopicamente as áreas das feridas do dorso, as distâncias microscópicas entre os bordos sadios do corte histológico e a contagem das células inflamatórias. Os resultados demonstraram que em relação a área da ferida o grupo E2 apresentou valores maiores que os grupo C e E1 nos períodos de 03 e 07 dias pós-operatórios. Da mesma forma os valores para a distância entre os bordos sadios para o grupo E2 nos períodos de 03 e 07 dias pós-operatórios foram maiores quando comparado aos grupos C e E1. A contagem de células inflamatórias foi menor para ambos os grupos E1 e E2 quando comparados ao C, entretanto mais expressiva para o grupo E2. Pode-se concluir que a exposição ao campo magnético oriundo da utilização de ímãs de intensidade de 850G, pode modificar o processo de reparação e inflamação do tecido no dorso de ratos.

Descritores^a: Terapia de Campo Magnético, Magnetismo, Cicatrização.

^a DeCS – Descritores em Ciências da Saúde. Disponível em www.decs.bvs.br

ABSTRACT

Magnetic field is a region of space where the magnetism is manifested, due to materials with magnetic properties - called magnets. The magnetic field therapy for various types of diseases has become common. The study aims to analyze the effects of the magnetic field on the healing of soft tissue wounds made on the backs of rats. It is a quantitative experimental study using 54 male Wistar rats of 120 days, weighing 250-300g were divided into three groups (C, E1 and E2), which were made in skin wounds in his back. The animals of group E1 were kept under the influence of the north pole of a magnet with magnetic field strength of 850G. The animals of group E2 were kept under the influence of the south pole of a magnet with magnetic field strength of 850G. In each of the periods (3, 7 and 15 postoperative days) were measured macroscopically the wound areas of the back, the microscopic distance between the healthy edges from histological and counting of inflammatory cells. The results showed that over the wound area group E2 showed higher values than group C and E1 in the periods of 3 and 7 postoperative days. In the same way, values for the distance between the healthy edges for the E2 group in periods of 3 and 7 postoperative days were higher when compared to group C and E1. The count of inflammatory cells was lower in both groups E1 and E2 compared to C, but more significantly to the group E2. It can be concluded that exposure to the magnetic field arising from the use of magnets intensity 850G may modify the process of inflammation and repair of tissue in the backs of rats.

Descriptors^a: Magnetic Field Therapy, Magnetism, Healing.

^a DeCS – Descritores em Ciências da Saúde. Disponível em www.decs.bvs.br
MESH - Medical Subject Headings. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Animal anestesiado preparado para cirurgia.....	36
Figura 2. Tricotomia no dorso do animal já anestesiado.....	36
Figura 3. Antissepsia e marcação da área para excisão.....	36
Figura 4. Ferida resultante após a excisão do tecido epitelial.....	36
Figura 5. Imã de 850G com sua face lateral marcada.....	38
Figura 6. Gaiola plástica montada com imãs de 850G.....	38
Figura 7. Marcação da área a ser excisada englobando a ferida cirúrgica e margem de tecido sadio ao redor.....	39
Figura 8. Incisões feitas ao redor da área a ser excisada com cerca de 1cm de tecido sadio ao redor.....	39
Figura 9. Excisão da área para obtenção da peça cirúrgica a ser enviada para análise histológica.....	39
Figura 10. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 3 dias (Grupo C).....	42
Figura 11. Corte histológico da área de cicatrização de 03 dias (Grupo C). Aumento de 0.8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa. (TC) tecido conjuntivo.....	42
Figura 12. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo C). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa. (TG) tecido de granulação.....	43
Figura 13. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo C). Aumento de 40x, coloração em HE. Seta marrom evidencia leucócito presente no tecido de granulação.....	43
Figura 14. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 07 dias (Grupo C)....	43
Figura 15. Corte histológico da área de cicatrização de 07 dias (Grupo C). Aumento de 0.8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa. (TC) tecido conjuntivo.....	43
Figura 16. Fotomicrografia da área de cicatrização de 07 dias (Grupo C) Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa. (E) Epitélio. (TC) tecido conjuntivo.....	44
Figura 17. Fotomicrografia da área de cicatrização de 07 dias (Grupo C). Aumento de 40x, coloração em HE. Seta azul evidencia filamento de queratina. (SE) superfície externa.....	44
Figura 18. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 15 dias (Grupo C). Observe epitelização marcante, sem sinais de inflamação ou crostas.....	44
Figura 19. Corte histológico da área de cicatrização de 15 dias (Grupo C). Aumento de 0.8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam	

os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa.....	44
Figura 20. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo C). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) Superfície externa. (E) Epitélio. (TC) Tecido Conjuntivo.....	45
Figura 21. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo C). Aumento de 40x, coloração em HE. (SE) superfície externa. (E) Epitélio.....	45
Figura 22. Aspecto macroscópico da área cirúrgica após 03 dias (Grupo E1). Observa-se na ferida a formação de crosta bem evidente.....	45
Figura 23. Corte histológico da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E1). Aumento de 0.8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa.....	45
Figura 24. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E1). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa. (TC) tecido conjuntivo.....	46
Figura 25. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E1). Aumento de 40x, coloração em HE. (SE) superfície externa.....	46
Figura 26. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 07 dias (Grupo E1). Observe a ausência de inflamação na ferida.....	46
Figura 27. Corte histológico da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E1). Aumento de 0.8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa. (TC) tecido conjuntivo.....	46
Figura 28. Corte microscópico da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E1). Aumento de 10x, coloração em HE. Seta azul evidencia uma projeção epitelial em direção ao centro da ferida. (SE) superfície externa.....	47
Figura 29. Corte microscópico da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E1). Aumento de 40x, coloração em HE. Seta azul evidencia um aglomerado de hemácias. (SE) superfície externa.....	47
Figura 30. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 15 dias (Grupo E1)..	47
Figura 31. Corte histológico da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E1). Aumento de 0.8x, coloração em HE. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa. (TC) tecido conjuntivo.....	47
Figura 32. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E1). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) Superfície externa.....	48
Figura 33. Figura 33. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E1). Aumento de 40x, coloração em HE. (SE) superfície externa.....	48
Figura 34. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 03 dias (Grupo E2). Observa a formação de crosta irregular e permanência de área cruenta no centro da ferida.....	48

Figura 35. Corte histológico da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E2). Aumento de 0.8x, coloração em HE. As setas evidenciam os limites dos bordos saudios. (SE) superfície externa.....	48
Figura 36. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E2). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa.....	49
Figura 37. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E2). Aumento de 40x, coloração em HE. Células do infiltrado inflamatório com seus núcleos corados em azul mais escuro.....	49
Figura 38. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 07 dias (Grupo E2). Observar a irregularidade da crosta e da permanência de área cruenta na ferida.....	49
Figura 39. Corte histológico da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E2). Aumento de 0.8x, coloração em TG. As setas evidenciam os limites dos bordos saudios. (SE) superfície externa.....	49
Figura 40. Fotomicrografia da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E2). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa.....	50
Figura 41. Fotomicrografia da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E2). Aumento de 40x, coloração em HE. (SE) superfície externa.....	50
Figura 42. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 15 dias (Grupo E2). Notar a ausência de crosta e inflamação da ferida.....	50
Figura 43. Corte microscópico da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E2). Aumento de 4x, coloração em HE. As setas evidenciam os limites dos bordos saudios. (SE) superfície externa.....	50
Figura 44. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E2). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa. (E) Epitélio. (TC) tecido conjuntivo.....	51
Figura 45. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E2). Aumento de 40x, coloração em HE. As setas evidenciam as papilas dérmicas bem definidas. (SE) superfície externa.....	51

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

Tabela 1. Distribuição dos ratos de acordo com o tratamento instituído e o período de observação.....	35
Tabela 2. Comparação entre as áreas macroscópicas das feridas dos grupos Controle (C) e 850G Norte (E1).....	52
Tabela 3. Comparação entre as distâncias microscópicas das feridas dos grupos Controle (C) e 850G Norte (E1).....	53
Tabela 4. Comparação entre as contagens de células inflamatórias dos grupos Controle (C) e 850G Norte (E1).....	53
Tabela 5. Comparação entre as áreas macroscópicas das feridas dos grupos Controle (C) e 850G Sul (E2).....	54
Tabela 6. Comparação entre as distâncias microscópicas das feridas dos grupos Controle (C) e 850G Sul (E2).....	54
Tabela 7. Comparação entre as contagens de células inflamatórias dos grupos Controle (C) e 850G Sul (E2).....	55
Tabela 8. Comparação entre as áreas macroscópicas das feridas dos grupos 850G Norte (E1) e 850G Sul (E2).....	55
Tabela 9. Comparação entre as distâncias microscópicas das feridas dos grupos 850G Norte (E1) e 850G Sul (E2).....	56
Tabela 10. Comparação entre as contagens de células inflamatórias dos grupos 850G Norte (E1) e 850G Sul (E2).....	56
Gráfico 1. Valor médio das áreas macroscópicas das feridas em mm ² dos grupos Controle (C), 850G Norte (E1) e 850G Sul (E2) nos períodos de 03, 07 e 15 dias.....	57
Gráfico 2. Valor médio das distâncias microscópicas entre bordos saudáveis em mm dos grupos Controle (C), 850G Norte (E1) e 850G Sul (E2) nos períodos de 03, 07 e 15 dias.....	57
Gráfico 3. Valor médio da contagem de células inflamatórias em cél/10µm ² dos grupos Controle (C), 850G Norte (E1) e 850G Sul (E2) nos períodos de 03, 07 e 15 dias.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	por cento
®	Marca registrada
µm	Micrometro
µm ²	micrometro quadrado
Á/m	Ampére por metro
AST	aspartato aminotransferase
C	Controle
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
cm	Centímetros
COBEA	Conselho Brasileiro de Experimentação Animal
DHL	desidrogenase láctica (do inglês, <i>lactate dehydrogenase</i>)
DNA	Ácido Desoxirribonucléico (do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>)
E1	Experimental 1
E2	Experimental 2
EUA	Estados Unidos da América
G	Gauss
g	Gramas
h	Hora
HE	Hematoxilina-Eosina
Hz	Hertz
Kg	Kilograma
M	Molar
mg	Miligrama
min	Minutos
ml	Mililitros
mm ²	milímetro quadrado
mT	Militesla
N	Norte
NeFeB	neodímio-ferro-boro
°C	grau Celsius
S	Sul
-SH	grupos sulfidril livres
SRAT	substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
T	Tesla
TG	Tricômio de Gomori
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
X	Vezes

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 REPARAÇÃO	18
2.2 CAMPO MAGNÉTICO	20
3. OBJETIVOS	33
3.1 OBJETIVO GERAL	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4. MATERIAL E MÉTODO	34
4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	34
4.2 DELINEAMENTO DA PESQUISA	34
4.3 PROBLEMA	35
4.4 HIPÓTESE	35
4.5 ANIMAIS	35
4.6 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	36
4.7 GAIOLAS	37
4.8 COLETA DE MATERIAL PARA ANÁLISE HISTOLÓGICA	38
4.9 CONFECÇÃO DAS LÂMINAS HISTOLÓGICAS	39
4.10 MEDIDAS E CONTAGEM DE CÉLULAS	41
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
5. RESULTADOS	42
5.1 GRUPO CONTROLE (C)	42
5.1.1 Pós-operatório aos 03 dias	42
5.1.2 Pós-operatório aos 07 dias	43
5.1.3 Pós-operatório aos 15 dias	44
5.2 GRUPO 850G POLO NORTE (E1)	45
5.2.1 Pós-operatório aos 03 dias	45
5.2.2 Pós-operatório aos 07 dias	46
5.2.3 Pós-operatório aos 15 dias	47
5.3 GRUPO 850G POLO SUL (E2)	48
5.3.1 Pós-operatório aos 03 dias	48
5.3.2 Pós-operatório aos 07 dias	49
5.3.3 Pós-operatório aos 15 dias	50
5.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS	52

5.4.1 Grupo Controle (C) x Grupo 850G Norte (E1) _____	52
5.4.2 Grupo Controle (C) x Grupo 850G Sul (E2) _____	53
5.4.3 Grupo 850G Norte (E1) x Grupo 850G Sul (E2) _____	55
6. DISCUSSÃO _____	59
7. CONCLUSÃO _____	63
REFERÊNCIAS _____	64

1. INTRODUÇÃO

Campo magnético é uma região do espaço onde se manifesta o magnetismo, através das chamadas ações magnéticas (TIPLER; MOSCA, 2006; YOUNG; FREEDMAN, 2009). Os materiais com propriedades magnéticas são chamados de ímã. Um ímã é composto basicamente de materiais ferromagnéticos com a insurgência de dois polos – norte e sul – em decorrência dos spins dos elétrons que compõem esse material (DUTRA, 2005).

Os avanços tecnológicos na área das ciências da saúde proporcionaram o desenvolvimento de biomateriais para o diagnóstico e procedimentos clínicos, o que permitiu extrapolar o seu uso para procedimentos terapêuticos. Entre esses biomateriais encontram-se os magnetos ou ímãs (SOBRINHO et al., 2006), empregados como terapia complementar para as desordens vasculares, músculo-esqueléticas e injúrias em tecidos moles (MORRIS; SKALAK, 2007). Assim a aplicação de ímãs para diversos tipos de tratamento (artrite, síndromes de dor crônica, cicatrização, insônia, dores de cabeça) aumentou gradativamente, com gastos de cerca de 350 milhões de dólares nos EUA, segundo Colbert *et al.* (2009). Este fato demonstra o crescimento exponencial do uso da terapia magnética em processos inflamatórios diversos.

Como resultado do emprego da magnetoterapia em afecções do joelho como: osteoartrite, condromalácia, sinovite, trauma, periartrite, fibrose pós-cirúrgica, Doença de Hoffa e Síndrome Sinovial Patológica, Salinas e Viamontes (1996) constataram que o campo magnético é efetivo, bem aceito pelos pacientes devido a sua aplicação indolor, com posterior ausência de dor, desaparecimento da inflamação e manutenção dos resultados por no mínimo três meses. Em acréscimo, não requer nenhuma terapêutica adicional, o que implica numa considerável economia em medicamentos.

Os efeitos de um campo magnético estático na modulação da microcirculação capilar em músculos também foi objetivo da pesquisa de Xu, Okano e Ohkubo (2000). Esse estudo permitiu observar que a exposição a um campo magnético estático pode ser considerado com fator de modulação e aprimoramento da microcirculação.

O processo de cicatrização da pele de ratos brancos foi avaliado por Paz, Deben e Ceballos (2001). Observou-se que não houve modificações na pele intacta com a aplicação do campo, entretanto, foi observado mudanças histológicas evidentes da aceleração do processo reparativo na zona de cicatrização dos animais submetidos ao campo magnético.

Na Odontologia os imãs começaram a ser utilizados a partir das mudanças de ligas de alumínio-níquel-cobalto (AlNiCo5) para ligas de samário-cobalto (SmCo5, SmCo7) sendo estas mais biocompatíveis do que aquelas (SOBRINHO et al., 2006). Porém, observa-se que os estudos com esses materiais, investigaram seus efeitos terapêuticos, os quais ainda em fase pré-clínica.

Face ao exposto e devido aos poucos de estudos sobre o tema, o presente estudo propõe contribuir para o entendimento dos efeitos biológicos do campo magnético sobre a reparação em feridas cirúrgicas confeccionadas no dorso de ratos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 REPARAÇÃO

Uma capacidade inerente aos seres vivos é a reparação tecidual. Esta pode ser dividida em dois eventos distintos – regeneração e cicatrização. Regeneração é quando a reposição tecidual é realizada por células do mesmo tipo das que foram perdidas. Assim, quando possível, os parênquimas regeneram. Já a cicatrização ocorre quando a reposição tecidual é feita de modo inespecífico, com produção de um tecido conjuntivo próprio: a cicatriz. Ambos os processos estão entremeados, ocorrendo conjuntamente, mas conceitualmente ocorrem de forma diferenciada (ALMEIDA-LOPES, 1999).

Danos de qualquer natureza (física, química ou biológica) causados nos tecidos levam a uma série de eventos. Como decorrência do próprio trauma ou da ativação celular, o microambiente tem sua composição físico-química alterada (baixa tensão de O₂, diminuição de pH, presença de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio) (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

No tecido lesado há infiltração de células inflamatórias e a migração de células das áreas adjacentes - células epiteliais e fibroblastos. Estas últimas, em cooperação com as células locais anteriormente ativadas, serão responsáveis por um fenômeno conhecido como fibroplasia (produção de colágeno pelos fibroblastos) e deposição de matriz extracelular, cicatrização (SINGER; CLARK, 1999). O reparo é classicamente dividido em três etapas: (1) inflamação, (2) formação de tecido de granulação com deposição de matriz extracelular e (3) remodelação (CLARK, 1993; KUMAR et al., 2010). É importante lembrar que estas etapas não são estanques nem individuais, mas ocorrem de maneira gradual e sobrepostas no decorrer de todo o processo cicatricial.

A alternância sucessiva entre processos de catabolismo e anabolismo no processo de reparo tem como um de seus protagonistas os leucócitos (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005). Essas células, além de suas conhecidas atividades imunes, estão intimamente envolvidas com as reações catabólicas de degradação de tecidos, pela produção de proteases e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e,

também, com as reações anabólicas de formação de tecidos pela produção de fatores de crescimento responsáveis pela recomposição da celularidade regional ou restabelecimento da sua homeostasia pela formação da cicatriz (RICHES, 1996).

Durante a fase inflamatória os neutrófilos que são os leucócitos mais abundantes no sangue, são passivamente coletados pelo trombo provisório durante o rompimento dos vasos. Esta fase ocorre independentemente da presença ou não de bactérias no leito da ferida. Logo após, os neutrófilos migram para a superfície da ferida para formar uma barreira contra a invasão de microorganismos formando a crosta e promovendo concomitantemente o recrutamento ativo de mais neutrófilos a partir dos vasos adjacentes não lesados (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005) para a limpeza e descontaminação do leito da ferida. Os neutrófilos oriundos da circulação são as primeiras células a alcançarem a região de inflamação, sendo os tipos celulares predominantes nos primeiros dias. Sua função principal neste processo é de eliminação de possíveis microorganismos pela fagocitose. Após a diapedese, cessam a migração passando a residir difusamente no coágulo.

As próximas células que surgem na região são os macrófagos derivados de monócitos que, ao contrário do papel desempenhado pelos neutrófilos, é o elemento mais crítico na indução do processo de reparo. De acordo com Kumar *et al.* (2010), os macrófagos possuem múltiplos papéis no processo de cura de feridas, como: atividade antimicrobiana, quimiotaxia e proliferação de fibroblastos e queratinócitos, promoção da angiogênese e estimulação de deposição de matriz extracelular. Além disso, é a célula mais eficiente na eliminação de fragmentos teciduais inclusive removendo pela fagocitose os neutrófilos que perderam função (DI PIETRO, 1995; KUMAR *et al.*, 2010).

Todo processo lesivo promove a perda de massa tecidual o qual necessariamente precisa ser preenchido e para isto são operadas duas estratégias diferentes. A própria natureza anatômica da ferida proporciona um estímulo – “efeitos de vizinha livre” – para a migração e proliferação das células (fibroblastos e células epiteliais) a partir das suas margens Montesano e Orci (1988) *apud* Balbino, Pereira e Curi (2005). Nessa situação as células basais próximas à região da ferida por não estarem mais em contato umas com as outras são ativadas, e acabam por adquirir propriedades mitóticas e proliferar em direção ao centro da lesão. É esse o

fator desencadeante para o início do processo de epitelização da borda externa da lesão.

A baixa tensão de oxigênio é característica que ocorre no centro de uma ferida (KNIGHTON; SILVER; HUNT, 1981). Durante o processo de reparação, a baixa tensão de O₂ auxilia a migração e proliferação centrípeta das células das margens da ferida, bem como indução da angiogênese.

Durante a fixação dos fibroblastos e seu amadurecimento para células produtoras de colágeno, o processo de contração da ferida alcança a sua eficiência máxima. Isto ocorre devido à mudança de característica dos fibroblastos das margens da ferida para miofibroblastos. Em um processo inicialmente descrito por Gabbiani *et al.* (1970) *apud* Balbino, Pereira e Curi (2005), os fibroblastos destas regiões marginais começam a exibir características funcionais similares às células do músculo liso, o que leva à aproximação das bordas da ferida.

À medida que a região da lesão vai sendo coberta pelas células epidermais é acionado o mecanismo de “inibição por contato”. As células tendem a se apresentar com características mais próximas de um tecido sadio, a membrana basal é refeita e os hemidesmosomos e desmosomos são reconstituídos. Ao final desta etapa, o leito da ferida está totalmente preenchido pelo tecido de granulação, a circulação é restabelecida pela neovascularização e a rede linfática está passando por regeneração. Lentamente o tecido de granulação é enriquecido com mais fibras colágenas e amadurecendo a cicatriz (SINGER; CLARK, 1999).

2.2 CAMPO MAGNÉTICO

Os estudos envolvendo efeitos biológicos do campo magnético datam do início do século XX, entre elas o estudo de Kimbal (1937) que pesquisou sobre o crescimento de leveduras sob influência de um campo magnético de 4G (Gauss). Segundo o autor foi possível observar que mesmo em um meio de cultura favorável, o crescimento das leveduras foi inibido na ordem de 20 – 30%, quando exposto ao campo por um período que variou de 20 a 150 minutos. O autor cogitou que o

mecanismo de ação para esses resultados poderia ser explicado pela movimentação de moléculas essenciais, com interrupção do processo anabólico normal.

Camilleri e McDonald (1993) pesquisaram os efeitos do campo magnético de 1500G sobre a remodelação óssea na sutura sagital em ratos. Um total de 160 animais foram utilizados sendo estes, separados em 4 grupos (controle, norte, sul e não-operados) onde a atividade óssea foi avaliada pela fluorescência de tetraciclina e captação de timidina. Os resultados demonstraram que quanto à fluorescência de tetraciclina, pouco havia mudado; mas quando avaliada a captação de timidina, esta foi significativamente inibida logo após a colocação de ímãs de neodímio para ambos os polos, com seu máximo efeito aos três dias. Os autores apenas questionaram a potencialidade do campo magnético em interferir na atividade mitótica celular.

Avaliando o emprego da magnetoterapia em afecções do joelho como: osteoartrite, condromalácia, sinovite, trauma, periartrite, fibrose pós-cirúrgica, Doença de Hoffa e Síndrome Sinovial Patológica, Salinas e Viamontes (1996) realizaram um experimento em 165 pacientes com o uso do equipamento *Teramag 200* de campo magnético com frequência de 28 Hz, tempo de 10 min, intensidade de 160G em regime descontínuo, podendo ser de sessões diárias ou de dias alternados de acordo com a intensidade de cada caso. O número de sessões variou de 10 a 15. Os autores observaram que o campo magnético foi efetivo em 97% dos casos, sendo este método bem aceito pelos pacientes, com aplicação indolor. Os resultados considerados bons estão dentro da faixa de ausência de dor, mobilidade articular normal, desaparecimento da inflamação e manutenção dos resultados por no mínimo três meses. Também foi interessante o fato de não requerer nenhuma terapêutica adicional, o que implicaria numa considerável economia em medicamentos.

Utilizando equipamento, frequência e intensidade do campo magnético semelhantes ao estudo anterior, Salinas, Rodríguez e Viamontes (1996) avaliaram os resultados obtidos no tratamento de pacientes com diversas artropatias, enfermidades ortopédicas e reumatológicas durante um tratamento experimental. O tempo médio de aplicação foi de 06 min, com sessões diárias ou de dias alternados de acordo com a gravidade de cada caso. O número de sessões durante o estudo

variou de 06 a 15. O campo magnético foi efetivo em 94,5% dos casos, sendo aqueles resultados classificados como 'bons' estando dentro da faixa de ausência de dor, mobilidade articular normal, desaparecimento da inflamação e manutenção dos resultados por no mínimo três meses.

Os efeitos de um campo magnético estático na modulação da microcirculação capilar foram objeto de estudo de Xu, Okano e Ohkubo (2000) através da mensuração da velocidade sanguínea (pré, durante e após a exposição) no músculo tibial anterior de ratos anestesiados com pentobarbital. Durante e após a exposição de todo o corpo ao campo magnético estático de intensidade de 10mT, o pico da velocidade sanguínea aumentou significativamente quando comparado a exposição *sham* (sem magnetização do equipamento de teste). Os achados sugeriram que a exposição a um campo magnético estático pode ser considerado com fator de modulação e aprimoramento da microcirculação muscular.

Paz, Deben e Ceballos (2001) estudaram o efeito do campo magnético de baixa frequência sobre o processo de cicatrização da pele. Para tal utilizaram-se de 30 ratos brancos Balb-C distribuídos em 6 grupos (2 grupos para se conhecer as características da pele intacta na região dorsal com e sem a aplicação do campo; e, 4 grupos para se determinar as particularidades macro e microscópicas após a realização de ferida cirúrgica e aplicação de campo magnético com intensidade de 100G). Foi possível observar que não houve modificações na pele intacta com a aplicação do campo; entretanto, na ferida cirúrgica puderam ser observadas modificações histológicas da aceleração do processo reparativo na zona de cicatrização dos animais submetidos ao campo magnético.

Em um estudo piloto em 44 indivíduos diagnosticados com hipertensão arterial com o objetivo de comprovar a efetividade do campo magnético descontínuo no tratamento dessa condição, Morera *et al.* (2003) fizeram aferições prévias da pressão arterial e suspenderam os medicamentos de controle da pressão durante as 15 sessões de 15min de tratamento com o campo magnético. O estudo ainda determinou as diferenças de valores das pressões máxima e mínima antes e após o experimento, bem como calculou a economia representada pelos grupos de pacientes tratados com esta terapia. Constatou-se boa efetividade na redução dos valores de pressão arterial com o uso do campo magnético (93% dos pacientes

reduziram a pressão máxima e 87% deles a pressão mínima). Houve reduções bastante significativas da ordem de 80mmHg para a máxima e 30mmHg para a mínima. A maior efetividade encontrou-se na faixa etária de 40 a 60 anos de idade. Houve um impacto socioeconômico favorável com economia de cerca de US\$ 480,00 no uso de medicamentos.

Também sobre os efeitos anti-hipertensivos de exposição de corpo todo ao campo magnético em coelhos com hipertensão induzida farmacologicamente, Okano e Ohkubo (2003) descobriram que essa exposição ao campo magnético de 5,5 mT por 30 minutos atenuou significativamente a vasoconstrição de uma artéria central no lobo auricular dos coelhos, suprimindo a elevação da pressão arterial decorrente da indução farmacológica. Os autores também afirmaram que este efeito hipotensor do campo magnético pode ser observado por um longo período após sua retirada.

Em aplicação local de magnetos, Mayrovitz e Groseclose (2005) demonstraram um efeito direto na perfusão sanguínea na pele humana, através do uso de ímãs de neodímio com intensidade de campo de 4.024G na palma dos 2º e 4º dedos da mão não dominante de 12 voluntários por um período de 15 minutos para ambos os polos. O efeito observado foi a redução da perfusão sanguínea na pele após a exposição ao campo, não havendo variação em relação ao polo utilizado.

Mckay, Prato e Thomas (2007) realizaram uma revisão de literatura sobre os efeitos da exposição ao campo magnético sobre o fluxo sanguíneo e os vasos sanguíneos na microcirculação. Os autores observaram que, em relação à microcirculação, quase metade dos experimentos citados referem ter um efeito vasodilatador, aumento do fluxo de sangue, ou aumento da pressão arterial. Por outro lado, outros estudos indicam um decréscimo na perfusão sanguínea/pressão ou nenhum efeito. Em uma terceira linha de estudos verificou-se que a exposição ao campo magnético poderia desencadear a vasodilatação ou vasoconstrição, dependendo do tônus inicial do vaso. Em relação aos vasos sanguíneos, também houve variância nos resultados encontrados, sugerindo em alguns o aumento da angiogênese, e em outros, seu decréscimo.

O estudo de Morris e Skalak (2007) teve como objetivo medir, pela primeira vez, a resposta microvascular adaptativa a uma exposição crônica de campo

magnético contínuo por 7 dias. Câmaras dorsais cutâneas de murina foram utilizadas em um rato onde, no dia 0, ímãs de neodímio estáticos (com tamanho e peso pareados para *shams*) foram afixados até o dia 7. A análise separada dos diâmetros arteriolares e venular revelaram que a aplicação crônica do campo magnético significativamente anulou a expansão do diâmetro luminal observada em *sham* tratados com redes. O diâmetro arteriolar também foi significativamente reduzido por tratamento com ímã no dia 7 (50%), mas não significativamente ao dia 4 (31,6%), embora a mesma tendência tenha sido evidente. Densidade de comprimento venular funcional também foi significativamente reduzida (60%) por aplicação de campo crônica. Estes resultados sugerem que a exposição crônica ao campo magnético estático pode alterar a resposta adaptativa da remodelação microvascular a lesão mecânica. Já em 2008, esses mesmos autores, observaram que a aplicação de um campo magnético estático de 10- a 70-mT, por 15 ou 30 min imediatamente ao edema induzido por histamina resultou numa redução significativa na ordem de 20–50% na formação do edema.

Pacini *et al.* (2003) estudaram os efeitos da exposição de fibroblastos humanos a um campo de 0,2 T gerado por um tomógrafo convencional por um período de 1 hora. Os resultados mostraram mudanças peculiares na morfologia celular com redução do diâmetro das células e surgimento de expansões citoplasmáticas a partir do corpo celular. Até mesmo a adesão célula a célula ao nível basal foi descontinuada. Foram observados também reduções na expressão de alguns resíduos de carboidratos glicoconjugados, bem como na proliferação celular, incorporação de timidina e formação de segundos mensageiros. Entretanto, a viabilidade celular não foi alterada.

Sobre a qualidade da cicatrização óssea sob efeito de um campo magnético permanente, sepultado *in vivo*, com intensidade de 41,16G, Ulbrich (2003) utilizou 24 ratos Wistar de 6 meses de idade e peso médio de 450 g divididos em 5 grupos (4 testes e 1 controle). Os animais foram submetidos à cirurgia de fixação de um par de dispositivos metálicos no fêmur esquerdo tangenciando a cavidade óssea criada, posicionados de forma a exercerem forças de atração mútua. Os animais foram sacrificados aos 15, 30, 45 e 60 dias pós-operatórios e as peças foram submetidas à análise histológica para verificação da neoformação óssea cortical e medular, bem como a presença de infiltrado inflamatório e reação de corpo estranho em cada

etapa. Os resultados mostraram que entre os dias 15 e 30 a cicatrização dos grupos teste mostrou-se acelerada em relação ao grupo controle. Aos 45 dias os grupos revelaram resultados pouco divergentes. Aos 60 dias houve marcada neoformação óssea no grupo teste propondo um efeito de estimulação magnética continuada.

Outro estudo sobre os efeitos magnéticos sobre a cicatrização óssea foi realizado por Dutra (2005) onde se avaliou a qualidade do reparo de cavidades cirúrgicas com enxertos ósseos sob efeito de um campo magnético permanente, sepultado, *in vivo*. Trinta ratos *Norvegicus albinus* da linhagem Wistar, foram divididos em 6 grupos: 3 controle (arruelas não-ímantadas) e 3 testes (arruelas ímantadas). Os animais foram submetidos à cirurgia de acesso ao fêmur direito para confecção de uma cavidade e fixação de um par de dispositivos metálicos que tangenciariam as margens da cavidade. O campo magnético variou de 25,36G a 51,52G. O osso removido foi reimplantado e os animais sacrificados aos 15, 45 e 60 dias pós-operatórios. Ao comparar os grupos teste e controle observou-se a ação do campo magnético por estimulação favorável à neoformação óssea.

Azambuja (2007) avaliou histologicamente a aplicação do campo magnético sepultado, estático e permanente de intensidade de 250G em área de enxerto ósseo alógeno liofilizado e dento-alveolar associada a defeito cirúrgico em mandíbulas de 21 ratos machos divididos em 3 grupos de tempos experimentais de 07, 21 e 45 dias. Foram realizadas ostectomias associadas a odontosseções, na faceta lateral externa do corpo e ramo mandibulares, atingindo transversalmente a raiz do incisivo inferior e os ápices dos molares, onde adaptou-se dispositivos metálicos magnetizados (grupo teste) e não-magnetizados (grupo controle) associados com enxertos alógenos liofilizados. Observou-se em ambos os grupos a gradativa integração óssea dos enxertos, a manutenção da vitalidade pulpar dos molares e do coto proximal do incisivo inferior além da contínua erupção do incisivo inferior. No grupo teste observou-se uma diferenciada neoformação óssea centrípeta em direção aos dispositivos metálicos ímantados.

Em 2009, Calcagnotto avaliou histológica e bioquimicamente o reparo ósseo em crânios de ratos sob campo magnético, permanente e estático, após enxerto ósseo autógeno ou implantes de cimento de fosfato de cálcio. Em 65 ratos Wistar foram confeccionados defeitos ósseos de 5 mm, nos quais foram feitos 4

intervenções (enxerto ósseo autógeno e implante de fosfato de cálcio, ambos sem e com campo magnético sepultado, permanente e estático com intensidade variável de 43,72G; 66,20G e 73,40G). Foi realizada uma análise histomorfométrica (longitudinal e transversal) da quantidade de tecido ósseo neoformado em 15, 30 e 60 dias pós-operatório. Foi realizada também a análise da atividade sistêmica da fosfatase alcalina. Não houve diferença histológica no reparo ósseo entre os grupos com e sem campo magnético estático em relação à quantidade de tecido ósseo neoformado na análise transversal. Longitudinalmente evidenciou diferenças na quantidade de tecido ósseo entre os grupos de 15 e 60 dias com enxerto ósseo autógeno sob estimulação magnética. O campo magnético permanente e estático acelerou o reparo ósseo nos grupos de enxerto ósseo autógeno. A enzima fosfatase alcalina teve sua atividade diminuída em 30 dias pós-operatórios nos grupos sob influência magnética.

Outro estudo que avaliou histológica e bioquimicamente o efeito de enxerto ósseo autógeno e implante de hidroxiapatita sintética sob influência de campo magnético estático no reparo ósseo da calvária de ratos foi o de Schwengber (2009). Em 60 ratos Wistar com defeitos críticos de 5mm, foram realizadas 4 intervenções: enxerto ósseo autógeno e implante de hidroxiapatita com e sem a presença de campo magnético estático de intensidade entre 40 e 70G. Foi também realizada análise histomorfométrica aos 15, 30 e 60 dias pós-operatório, bem como a análise enzimática da fosfatase alcalina nos mesmos tempos pós-operatórios. Segundo a análise histomorfométrica o reparo ósseo foi mais acelerado quando sob influência do campo magnético. Na análise histológica descritiva verificou-se a presença de matriz óssea e núcleos de angiogênese junto aos limites do defeito crítico e das lojas dos ímãs. Os grupos sob influência do campo magnético apresentaram menor atividade enzimática da fosfatase alcalina.

Hsu e Chang (2010) revelaram pela primeira vez que a exposição ao campo magnético estático pode aumentar o potencial de células progenitoras/células estaminais em polpa dentária a se diferenciar em células semelhantes a osteoblastos, os quais podem contribuir para aumentar a eficácia da reparação do defeito ósseo através da transplantação de células da polpa dental na engenharia de tecido ósseo.

Öcal e Günay (2004) propuseram-se a observar o efeito do campo magnético de corrente alternada nos parâmetros de contração e relaxamento dos anéis aórticos torácicos isolados em ratos saudáveis e diabéticos. Sessenta ratos Wistar foram utilizados sendo divididos em quatro grupos: 1- Controle, 2- Controle + Campo magnético, 3- Experimental diabético, 4- Experimental diabético + Campo magnético. Um campo magnético de 5mT de intensidade foi aplicado nos grupos 2 e 4 por duas horas diárias durante um mês. Após esse período os ratos foram mortos por decapitação e a aorta fora dissecada. Os resultados demonstraram atenuada resposta de contração à fenilefrina e elevada resposta de relaxamento à acetilcolina dos anéis aórticos torácicos dos ratos dos grupos 2 e 4 quando comparados ao 1 e sem mudanças nas respostas de relaxamento ao Nitroprussiato de Sódio das aortas relativas aos grupos 1 e 3. Os pesos dos ratos dos grupos 2 e 4 decaiu quando comparado aos grupos 1 e 3.

Também comparando o metabolismo entre ratos saudáveis e diabéticos, Öcal, Kalkan e Günay (2008) pesquisaram os efeitos do campo magnético alternado nesses animais, onde foram utilizados 80 ratos Wistar divididos em 2 grupos testes e 2 grupos controles para os tipos saudáveis. Nos grupos testes saudáveis foram aplicados campos magnéticos de intensidade de 5mT e 8mT durante três semanas, mantendo-os em ambiente controlado e mesma alimentação. O grupo de ratos diabético foi dividido em apenas 1 grupo controle e 1 teste com campo de 5mT de intensidade. As condições do grupo diabético foram semelhantes ao do grupo saudável. Os ratos de todos os grupos eram pesados 1 vez por semana durante um mês. No final do mês o sangue foi coletado dos ratos para analisar os parâmetros plasmáticos. Na comparação dos pesos dos ratos observou-se um ganho de peso para os grupos saudáveis quando expostos ao campo magnético (5mT e 8mT) em relação aos grupos controles. Para o grupo diabético observou-se a diminuição da perda de peso do grupo exposto ao campo magnético (5mT) quando comparado ao grupo controle. Nos parâmetros plasmáticos, os níveis de colesterol, triglicerídeos e de glicose foram significativamente reduzidos em todos os grupos expostos ao campo magnético quando comparados a seus grupos controles.

Em 2010, Jing *et al.* demonstraram que um campo magnético de 180 mT acelerou o processo de cicatrização de ratos diabéticos, o que foi evidenciado pelas observações de planimetria quantitativos, resultados histológicos e exames de

resistência à tração da ferida. Os resultados indicaram que a terapia magnética, como um método de baixo custo, não-invasivo e acessível, pode tornar-se um método alternativo na aceleração da reparação tecidual em pacientes com diabetes.

Miyakoshi (2005; 2006) revisou a literatura acerca dos efeitos de campos magnéticos estáticos em nível celular. Os estudos demonstraram que um campo magnético estático por si só não tem um efeito letal sobre as propriedades básicas do crescimento e sobrevivência celular sob condições de cultura normais, independentemente da sua densidade magnética. Em acréscimo, mostrou-se que a distribuição do ciclo celular não é influenciada pelos campos magnéticos estáticos extremamente fortes (até um máximo de 10T). Uma das possibilidades era o fato de o campo magnético estático causar danos no DNA, o qual pode ser avaliado pela determinação da frequência de formação de micronúcleos. A presença ou ausência de micronúcleos pode confirmar se um tratamento em particular causa danos ao DNA celular. No entanto, a frequência da formação de micronúcleos muda significativamente quando determinados tratamentos (por exemplo, raios X) são aplicados durante a exposição a um campo magnético estático forte. Também tem sido relatado que o tratamento com pequenas quantidades de íons ferrosos no meio de cultura celular e a exposição a um campo magnético estático aumenta o dano do DNA. Vários relatos sugerem que um campo magnético forte estático pode afetar o transporte de íons (especialmente o Ca^{2+}) e a expressão gênica. Além disso, muitos estudos têm encontrado que um campo magnético forte pode induzir fenômenos de orientação em cultura de células e fibras colágenas, porém, tal efeito não ocorre em todas as células.

Em um estudo sobre os efeitos da exposição ao campo magnético nos parâmetros hematológicos e bioquímicos em ratos, Amara *et al.* (2006) investigaram os efeitos do campo magnético estático nas taxas de crescimento, hematopoiese, concentrações de proteínas plasmáticas, glicemia, da desidrogenase láctica (DHL) e transaminases (alanina aminotransferase - ALT e aspartato aminotransferase - AST). Para isso, usaram 12 ratos machos Wistar divididos em grupos de exposição subaguda por 5 dias consecutivos (1 h/dia a 128mT), exposição subcrônica por 30 dias consecutivos (1 h/dia a 128mT) e grupo controle. Após as exposições uma coleta de amostra sanguínea era feita (0,5 ml) e posteriormente analisadas em laboratório. Os resultados demonstraram que após a exposição de modo subagudo

durante 5 dias consecutivos (1 h/dia, a 128mT), houve aumento em 38% na concentração de DHL ($p < 0.05$), porém não houve mudanças nos índices hematimétricos, nas proteínas plasmáticas e nas transaminases. Duas semanas após a exposição por 30 dias consecutivos (Campo Magnético Estático - 1 h/dia, a 128mT) houve diminuição significativa das taxas de crescimento e aumento significativo das concentrações de proteínas (+62%, $p < 0.05$), da hemoglobina (+10%, $p < 0.05$), eritrócitos (+7%, $p < 0.05$), leucócitos (+17%, $p < 0.05$) e plaquetas (+10%, $p < 0.05$). A exposição subcrônica induziu aumento da DHL (+43%, $p < 0.05$), AST (+41%, $p < 0.05$) e ALT (+95%, $p < 0.05$). Em contraste, não houve aumento da glicemia. Concluíram que o campo magnético pode afetar a proliferação celular e a produção enzimática no sangue indicando alterações teciduais.

Nursal *et al.* (2006) estudaram os efeitos que os campos eletromagnéticos pulsados podem ter na cicatrização de feridas em anastomose colônica experimental em ratos. Cinquenta ratos Wistar machos foram utilizados onde dez serviram como controle para testes de resistência mecânica, e os outros 40 foram submetidos à ressecção do cólon descendente e anastomose. Vinte dos 40 animais (grupo M) tinham ímãs de neodímio-ferro-boro (NeFeB) colocados em contato com o local da anastomose (intensidade do campo magnético no local 390-420 G). Os outros 20 animais sham (S grupo) tinham barras de NeFeB não magnetizadas com as mesmas dimensões e peso implantados. Metade dos animais em cada grupo foram sacrificados e avaliados no dia pós-operatório 3 (M3 e grupos S3) e a outra metade no dia pós-operatório 7 (M7 e grupos S7). Quatro tipos de avaliações foram realizados: a cicatrização, resistência mecânica, a deposição de hidroxiprolina, e histopatologia. Não houve diferenças entre os animais M e S com relação aos parâmetros de cicatrização. A resistência mecânica também não foi diferente entre os grupos. Da mesma forma, a deposição de hidroxiprolina não foi diferente entre os grupos. No 3º dia, o grupo M teve escores significativamente mais elevados do que o grupo S para a infiltração de fibroblastos e formação capilar. Os resultados sugeriram que o campo magnético estático não teve qualquer efeito sobre a cicatrização de ferida experimental do cólon em ratos.

Goraca, Ciejka e Piechot (2010) analisaram se campos magnéticos de frequência extremamente baixa podem afetar a geração de oxigênio reativo (radical livre) no tecido cardíaco e a capacidade antioxidante do plasma. Foram utilizados 21

ratos machos Wistar com 2-3 meses de idade divididos em 3 grupos contendo 7 animais cada. O grupo I era o controle. Os grupos testes foram expostos por 14 dias a campos de igual valor (7 mT), porém variando no tempo de exposição diária (Grupo II – 40 min; Grupo III – 60 min). Após a exposição uma coleta de sangue (0,5ml) foi efetuada para mensuração de alguns parâmetros. Os efeitos da exposição foram medidos baseados nos valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRAT), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), total de grupos sulfidril livres (-SH) e concentração reduzida de glutathione. Os resultados demonstraram que a exposição de 40 minutos não resultou em variação dos valores mensurados, porém em 60 minutos causou aumento dos valores de SRAT e H_2O_2 ; e, redução dos grupos -SH e concentração de glutathione. Concluiu-se que o campo magnético de frequência extremamente baixa influencia a geração de oxigênio reativo no tecido cardíaco bem como a defesa antioxidante do organismo.

Lee, Hung e Huang (2010) em um estudo feito com nematódeos, investigou os efeitos de um campo magnético de intensidade de 200mT no desenvolvimento e envelhecimento desses animais. Os nematódeos foram criados em laboratório na presença do campo magnético e a regulação dos genes associados ao desenvolvimento e ao envelhecimento foi aferida por quantificação em tempo real por RT-PCR. Os resultados mostraram que o tempo de desenvolvimento foi reduzido entre 20 – 30% e o tempo de vida reduziu em 20%.

Para descobrir o efeito que um dispositivo magnético estático intramedular implantado no fêmur de coelhos teve na consolidação da fratura, Aydin e Bezer (2011) utilizaram-se de 20 coelhos machos brancos neozelandeses com implantes intramedulares magnéticos/não-magnéticos onde eram examinados histológica e radiologicamente, e, também para a densidade mineral óssea. Três grupos foram formados de acordo com os polos dos ímãs. Durante a cirurgia o dispositivo intramedular foi conduzido para a medula óssea. As radiografias foram obtidas nas segunda e quarta semanas. O exame histológico e a densidade mineral óssea foram avaliados na quarta semana. Os resultados deste estudo verificaram que um implante intramedular com um campo magnético estático de intensidade de 220 – 260G melhora a cicatrização óssea nas primeiras duas semanas radiológicas e que a diferença na configuração dos polos magnéticos tem um efeito sobre a qualidade

do osso, e que, campos magnéticos estáticos tem efeitos menores sobre os valores de densidade mineral óssea.

Jaberi *et al.* (2011) buscaram determinar os efeitos de uma intensidade moderada de campo magnético permanente de 40mT na reparação da cartilagem do côndilo femoral medial direito de 30 coelhos. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos iguais (ímã, *sham* e controle). No grupo de magnetos, ímãs cilíndricos permanentes foram implantados subcutânea e medialmente ao côndilo femoral, enquanto que no grupo placebo a cerâmica cilíndrica não era magnetizado, e nada foi implantado no grupo controle. Após 12 semanas de observação, os escores microscópicos de Mankin foram aferidos em todas as amostras, e irregularidade das características de superfície, a colonização celular, hipocelularidade, formação de matriz de cartilagem e presença de lacunas vazias foram investigados. Cada uma destas características mostraram diferenças significativas em relação grupo ímã para grupos controle e *sham*. Os escores microscópicos de Mankin retrataram melhoria histológica na cartilagem do grupo ímã quando comparado aos grupos controle e *sham*.

Em um estudo randomizado duplo cego, Özdemir *et al.* (2011) investigaram a eficiência do tratamento com campo magnético em úlceras de pressão em 40 pacientes. O grupo teste (20 pacientes) recebeu magnetoterapia (1x/dia), durante 30 minutos com intensidade magnética de 150G. No grupo controle, 20 pacientes foram tratados com curativo apenas 1x/dia. As áreas de superfície das feridas de pressão foram avaliadas nos períodos de 1, 7 e 15 dias. Em comparações entre os grupos, uma diferença significativa na área da cicatriz foi observada entre os dias 1 e 7, 7 e 15 dia, e 1 e 15 dias em ambos os grupos. O tempo de cicatrização médio para o grupo de tratamento foi $10,80 \pm 4,06$ dias, e para o grupo controle foi de $18,85 \pm 9,75$ dias. Houve uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. Além disso, não havia uma diferença significativa na área cicatricial entre os dois grupos na medida 15 dias. Os autores puderam concluir que o processo de cura do tecido pode ser acelerado com a utilização da magnetoterapia no tratamento de úlceras de pressão de fase II e III.

Os efeitos de um campo magnético estático (CME) de intensidade moderada na coluna lombar com osteoporose foram estudados em ratas ovariectomizadas por

Xu *et al.* (2011). Um pequeno disco magneto (máxima densidade de fluxo magnético de 180 mT) foi implantado no lado direito da apófise espinhosa da terceira vértebra lombar. Ratas em fase de crescimento (10 semanas de idade) foram divididas aleatoriamente em quatro grupos: (1) ovariectomizadas e implantado com um ímã, (2) ovariectomizadas e implantado com um disco não-magnetizado (sham), (3) ovariectomizadas apenas e (4) não operadas (controle). As concentrações de 17- β -estradiol (E_2) no soro sanguíneo foram medidas por radioimunoensaio, e a densidade mineral óssea (DMO) das vértebras lombares foram avaliados por absorciometria de dupla energia de raios-X. As concentrações de E_2 foram significativamente mais baixas estatisticamente para todos os três grupos operados do que aqueles do grupo controle na semana 6. Embora não tenha havido diferenças estatísticas significativa nas concentrações de E_2 nos grupos 2 e 3, os valores de DMO da coluna lombar proximal à área do grupo 2 foi significativamente maior que no grupo 3. Estes resultados sugerem que o CME aumentou os valores de DMO da coluna lombar com osteoporose nas ratas ovariectomizadas.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos do campo magnético sobre a reparação de ferida cirúrgica confeccionada em tecidos moles do dorso de ratos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Mensurar a atividade anti-inflamatória do campo magnético pela contagem das células do infiltrado inflamatório (neutrófilos, plasmócitos e linfócitos);
- b. Avaliar a atividade moduladora cicatricial do campo magnético pelas mensurações macroscópica (área da ferida confeccionada no dorso de ratos) e microscópica (distância entre os dois extremos sadios dos cortes histológicos).
- c. Avaliar se há diferenças na atividade biológica tecidual quando utilizados polos magnéticos diferentes (Norte ou Sul).

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O aporte para o desenvolvimento deste estudo foi concedido junto ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), dentro da Linha de Pesquisa Propriedades físicas, químicas e biológicas dos materiais odontológicos, sendo desenvolvido após aprovação dos protocolos experimentais pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFES sob o protocolo nº 100/2011.

Foram adotados os Princípios Éticos em Experimentação Animal, preconizados pelo Conselho Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), instituição filiada ao *International Council for Laboratory Animal Science* e respeitados os preceitos apresentados pela Legislação Brasileira de Animais de Experimentação, Lei n.º 11.794, de 09 de outubro de 2008.

4.2 DELINEAMENTO DA PESQUISA

Trata-se de um estudo quantitativo experimental cujo delineamento foi adaptado de Campbell, Stanley (1979):

R	X_C	O_1	O_2	O_3
R	X_{850N}	O_1	O_2	O_3
R	X_{850S}	O_1	O_2	O_3 ; onde:

R= randomizado, X_C = grupo controle; X_{850N} = grupo experimental de 850G pólo norte; X_{850S} = grupo experimental de 850G pólo sul; O = observação (pós-teste), O_1 =3 dias, O_2 =7 dias, O_3 =15 dias.

4.3 PROBLEMA

O campo magnético de diferentes polos de um mesmo imã influencia o processo de reparo de ferida cirúrgica no dorso de ratos?

4.4 HIPÓTESE

A exposição ao campo magnético pode melhorar o processo de reparo, bem como favorecer os efeitos anti-inflamatórios que serão avaliados pela contagem do infiltrado inflamatório e da medida da contração da ferida.

4.5 ANIMAIS

Foram utilizados 54 ratos machos Wistar, com 120 dias de vida, com peso entre 250 e 300g, distribuídos em três grupos com 18 ratos cada, em função do tratamento instituído (Tabela 01):

Tabela 1. Distribuição dos ratos de acordo com o tratamento instituído e o período de observação.

Grupo	Períodos de análise	Tratamento Instituído
Controle (C) n = 18	3 dias (n=6) 7 dias (n=6) 15 dias (n=6)	Confecção de ferida cirúrgica em dorso de rato sem exposição a campos magnéticos
Experimental 1 (E1) n = 18	3 dias (n=6) 7 dias (n=6) 15 dias (n=6)	Confecção de ferida cirúrgica em dorso de rato e exposição ao pólo norte de um imã com intensidade de campo magnético de 850 G
Experimental 2 (E2) n = 18	3 dias (n=6) 7 dias (n=6) 15 dias (n=6)	Confecção de ferida cirúrgica em dorso de rato e exposição ao pólo sul de um imã com intensidade de campo magnético de 850 G
Total = 54		

4.6 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Os procedimentos cirúrgicos obedeceram aos princípios de biossegurança e controle de infecção, com cada procedimento acontecendo de forma independente sobre uma mesa ou bancada protegida com campo cirúrgico (TNT – Tecido-não-tecido) estéril descartável, trocado juntamente com o material utilizado para cada animal individualmente.

Os ratos foram primeiramente pesados em balança de precisão e posteriormente anestesiados por via intraperitoneal com Ketamina (100mg/kg)^a e Xilazina (10mg/kg)^b. Após a confirmação da anestesia, por meio de teste de reflexo caudal, os animais eram tricotomizados com uma máquina de aparar^c pelos, para exposição da área cirúrgica, situada no dorso de cada animal (Figura 01). Após a tricotomia (Figura 02), a antissepsia da área foi realizada com gaze estéril embebida em iodopovidona spray^d (Figura 03).



Figura 1. Animal anestesiado preparado para cirurgia

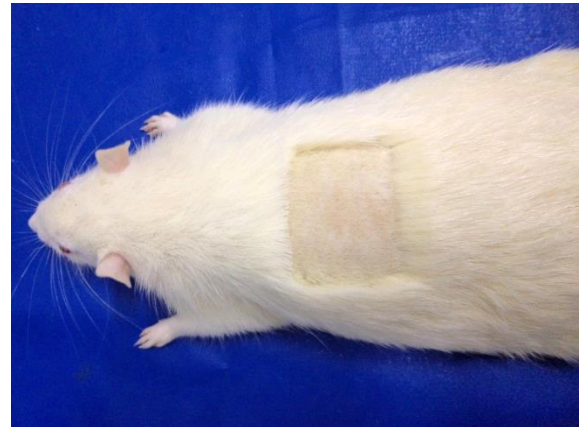


Figura 2. Tricotomia no dorso do animal já anestesiado

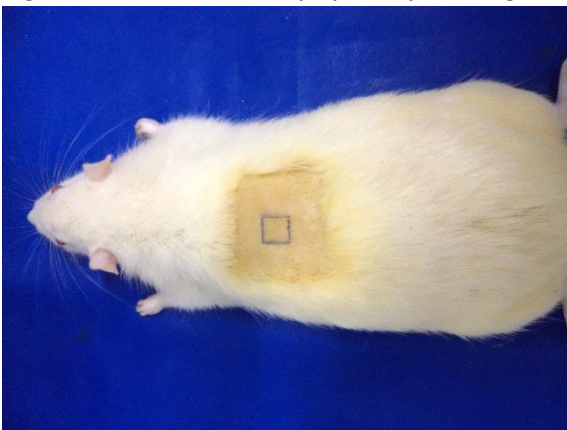


Figura 3. Antissepsia e marcação da área para excisão

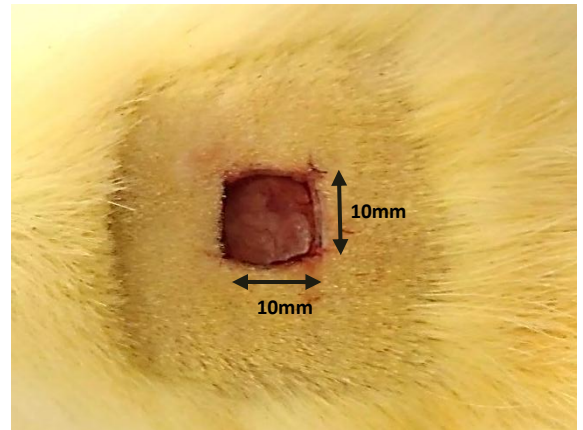


Figura 4. Ferida resultante após a excisão do tecido epitelial

^a Dopalen[®] - Vetbrands

^b Kensol[®] - König do Brasil Ltda.

^c Pro 300 – Lizz[®]

^d Riodeine[®]

Com a utilização de uma lâmina de bisturi n.º 15 montada em cabo de bisturi n.º 3, foi excisado um fragmento cutâneo de 1cm x 1cm com formato quadrado no centro da área tricotomizada previamente marcado com caneta para marcação da pele^a (Figura 3) até a exposição da fáscia muscular dorsal (Figura 4), (MORRIS; SKALAK, 2007; SEGUNDO et al., 2009). A hemostasia foi realizada por compressão com gaze estéril. Todos os animais receberam nos 3 primeiros dias pós-operatórios, uma dose de analgésico Paracetamol (80mg/kg) para controle da dor por via intraperitoneal.

4.7 GAIOLAS

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em estantes ventiladas com temperatura controlada (22º C) em ciclos de claro-escuro de 12h, com limpeza a cada dois dias. A alimentação e água foram irrestritas.

As gaiolas utilizadas para acondicionamento dos animais foram individuais e confeccionadas de material não condutor (plástico) para não interferir na intensidade dos campos magnéticos testados. O grupo controle (C) foi alocado em gaiolas que não continham nenhuma intensidade de campo magnético.

Para os grupos E1 e E2, foram afixados nas gaiolas um total de 26 imãs (6 imãs em cada face longitudinal e 4 imãs em cada face transversal dispostos na porção média com distâncias iguais das extremidades) de intensidade de 850 G com os polos – ‘marcado’ no E1 e ‘não-marcado’ no E2 – voltados para o interior da gaiola (Figuras 5 e 6). A fixação dos imãs foi feita com o auxílio de cola-quente aplicada com uma pistola específica para esse material^b.

^a Texta Opaque 700 Preta

^b Ferrari



Figura 5. Imã de 850G com sua face lateral marcada

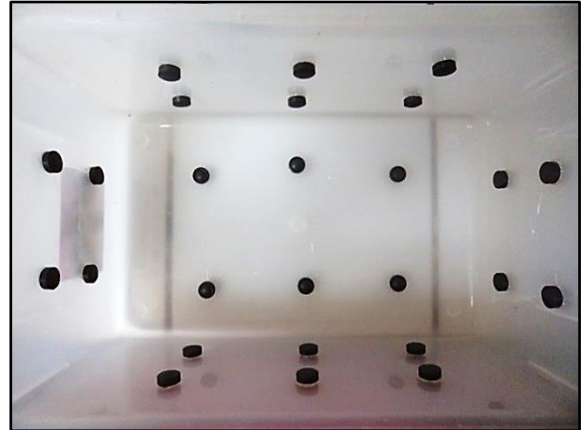


Figura 6. Gaiola plástica montada com imãs de 850G

Após o período de experimentação e análise dos resultados, com o auxílio de uma bússola^a os polos 'marcado' e 'não-marcado' puderam ser identificados como Norte (N) e Sul (S), respectivamente.

4.8 COLETA DE MATERIAL PARA ANÁLISE HISTOLÓGICA

A coleta de material aconteceu em três momentos distintos, a saber: aos 3 dias, aos 7 dias e aos 15 dias pós-operatórios. Para tal foram escolhidos aleatoriamente 6 animais para cada período.

No dia pré-estabelecido, inicialmente os animais foram mortos com sobredose anestésica letal (3x a dose anestésica utilizada). A ferida foi mensurada com paquímetro digital^b e fotografada com câmera digital^c em resolução fixada em 14 megapixel sobre tripé à distância constante de 36 cm.

Posteriormente a ferida foi excisada com margem de 1 cm de pele íntegra ao redor da lesão com profundidade até a fáscia muscular. O tecido removido foi imediatamente acondicionado em frasco devidamente identificado contendo solução de formaldeído a 3,7% tamponado a pH 7,2 com fosfato de sódio 0.1M para posterior confecção das lâminas histológicas.

^a Coleman Lensatic

^b PD 115 Eccofer

^c Sony Cyber-shot® DSC-W610

As feridas não foram suturadas, sendo deixadas cicatrizar por segunda intenção.

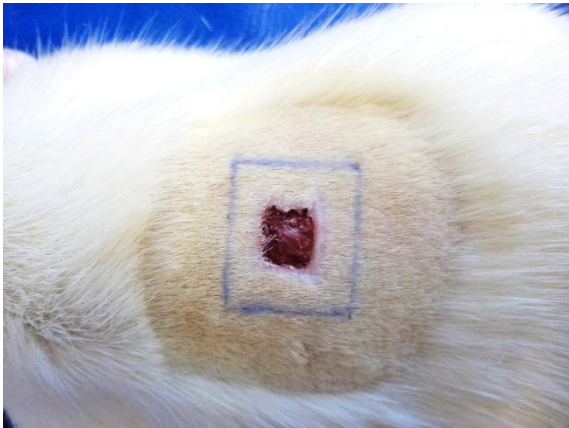


Figura 7. Marcação da área a ser excisada englobando a ferida cirúrgica e margem de tecido sadio ao redor

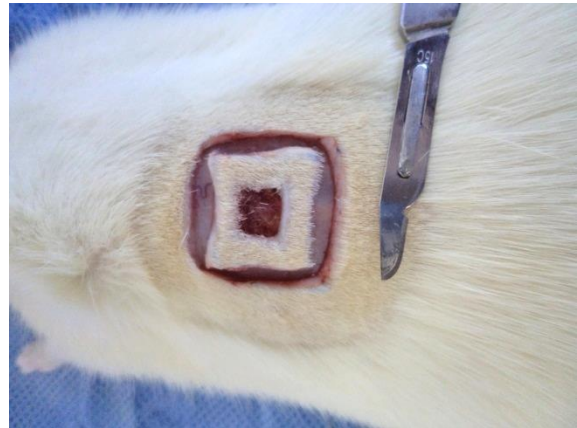


Figura 8. Incisões feitas ao redor da área a ser excisada com cerca de 1cm de tecido sadio ao redor

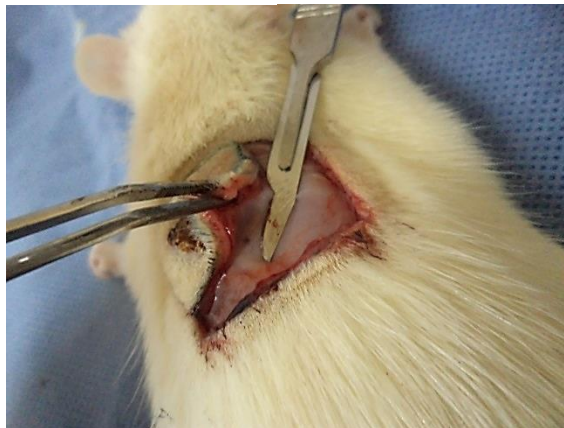


Figura 9. Excisão da área para obtenção da peça cirúrgica a ser enviada para análise histológica

4.9 CONFECÇÃO DAS LÂMINAS HISTOLÓGICAS

Os tecidos previamente coletados e já acondicionados nos frascos passaram pelas seguintes etapas de processamento laboratorial:

01 – Desidratação → Remoção da água do tecido com banhos sequenciais em soluções de álcool com concentração crescente (70% - 1 hora, 95% - 1 hora e 100% - 1 hora por 3 vezes) e soluções de Xilol com períodos de 1 hora em três sequências.

02 – Inclusão → Substituição do xilol presente no tecido por parafina fundida a 60° Celsius.

03 – Microtomia → O material obtido fora previamente cortado no meio na direção de crescimento do pelos para padronização. As metades obtidas do material foram cortadas com espessura de 10 µm, sendo postos 5 cortes em cada lâmina para análise, onde, para cada corte obtido eram excluídos os outros 3 subsequentes.

04 – Remoção da parafina nos cortes → processo inverso à desidratação com banhos sequenciais em xilol em períodos de 30 min em três etapas. Após banhos em soluções de álcool com concentração decrescente (100% - 1 min, 95% - 1 min e 70% - 1min).

05 – Coloração → Para esta etapa metade das lâminas obtidas foi hidratada por 2 minutos. Depois corado com hematoxilina de 5 a 10 minutos, lavado em água corrente por 10 minutos, corado com eosina de 5 a 10 minutos, lavado em água e desidratado em álcool 70% rapidamente. A coloração em H.E foi preconizada para a contagem das células inflamatórias. A outra metade das lâminas foi corada com Tricômico de Gomori (TG) para a mensuração das distâncias microscópicas entre os bordos sadios da ferida. Todas as lâminas após as colorações foram novamente desidratadas.

06 – Montagem das lâminas → deposição de uma gota de resina líquida no corte, cobertura com lamínula e identificação.

Os cortes selecionados foram analisados em microscópio óptico trinocular^a, equipado com uma câmera de vídeo digital^b. Foram capturadas imagens digitais dos cortes corados em hematoxilina-eosina (HE). As imagens adquiridas foram devidamente identificadas e armazenadas em disco rígido para posterior avaliação. A análise histomorfométrica foi realizada a partir das imagens adquiridas com o auxílio de um computador e do programa de domínio público Image J^c. Os critérios histológicos avaliados foram: contagem de células inflamatórias e mensuração da distância entre os bordos sadios dos cortes histológicos.

^a Zeiss Primo Star

^b Zeiss AxioCam ERc5s

^c disponível em: <http://rsbweb.nih.gov/ij/>

4.10 MEDIDAS E CONTAGEM DE CÉLULAS

Para a medida macroscópica da área da ferida, antes da remoção do tecido lesionado para confecção das lâminas histológicas, foi utilizado o paquímetro digital para posterior transcrição em uma tabela de resultados.

Com relação a mensuração da distância entre os bordos sadios dos cortes histológicos, cada lâmina corada com Tricômio de Gomori (TG) contendo 5 cortes de espessura de 10 μm , foi fotografada na lupa estereoscópica^a em aumento de 0.8X. As distâncias entre bordos sadios das imagens resultantes foram medidas no software Image J® – já previamente calibrado com uma lâmina contendo uma escala de 100 μm – e suas médias para cada lâmina foram anotadas na tabela de resultados.

Da mesma forma, a contagem das células inflamatórias foi também auxiliada pelo Image J, onde em cada corte corado com H.E. foi escolhida a área de 10 μm^2 mais central entre os bordos sadios da ferida e mais próximo da borda externa, logo abaixo da camada basal ou da área de crosta quando a camada basal ainda não estava formada., em aumento auxiliado por uma lente objetiva de 40x.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a realização da análise estatística dos dados obtidos no experimento, foi utilizado o software IBM® SPSS Statistics versão 20.0.0.

O teste estatístico utilizado para verificação da diferença entre as médias dos valores das áreas das feridas, das células do infiltrado inflamatório e a distância entre os bordos sadios dos cortes histológicos dentro de cada período de análise (03, 07 e 15 dias) foi o Teste T de Amostras Independentes, o qual traz resultados do teste de igualdade de variâncias de Levene que devem ser analisados previamente ao Teste T. O grau de significância do Teste T é de 95% com $p < 0,05$.

Cada lâmina foi avaliada pelo examinador e seus resultados foram anotados para posterior comparação com 10 outras lâminas escolhidas aleatoriamente a fim de se avaliar o grau de concordância intra-examinador através do teste Kappa.

^a Zeiss Stereo Discovery

5. RESULTADOS

Os resultados descritivos apresentados a seguir, são derivados das medidas macroscópicas das áreas das feridas, da contagem das células do infiltrado inflamatório no microscópio; e, da mensuração da distância entre os bordos saudios dos cortes histológicos com emprego de uma lupa estereoscópica. O grau de concordância intra-examinador encontrado foi de 0,73.

5.1 GRUPO CONTROLE (C)

5.1.1 Pós-operatório aos 03 dias

Para os animais desse grupo, foi observada a contração inicial da ferida com redução média de 21,8%. O valor médio da área da lesão para este grupo foi de 78,2mm² com desvio padrão de 7,31 (Fig. 10). A formação de crosta foi evidente com uma ligeira inflamação ao redor das bordas da ferida e permanência de área cruenta em seu centro.

Histologicamente, foi possível mensurar que a distância média entre os bordos saudios foi de 7,74mm (Fig. 11). Foi evidente a grande concentração de células inflamatórias com uma contagem média de 83,5 células/10 µm² (Fig 13). Ainda há pouca evidência de organização tecidual e evidente preenchimento com tecido de granulação e crosta na borda externa da ferida (Fig. 12).



Figura 10. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 3 dias (Grupo C)

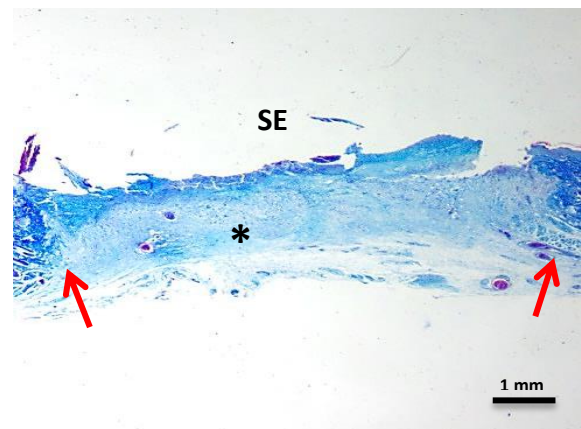


Figura 11. Corte histológico da área de cicatrização de 03 dias (Grupo C). Aumento de 0.8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos saudios. (SE) superfície externa. (*) tecido de granulação.

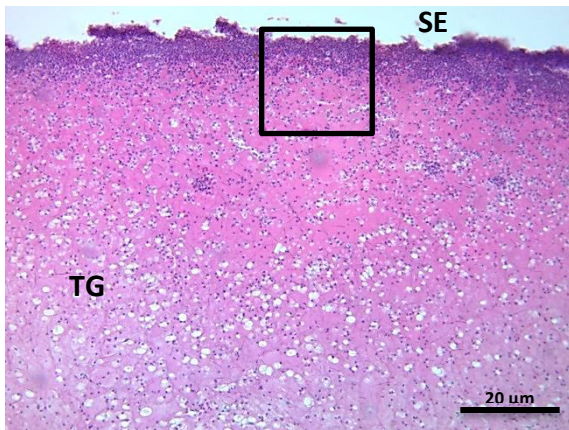


Figura 12. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo C). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa. (TG) tecido de granulação.

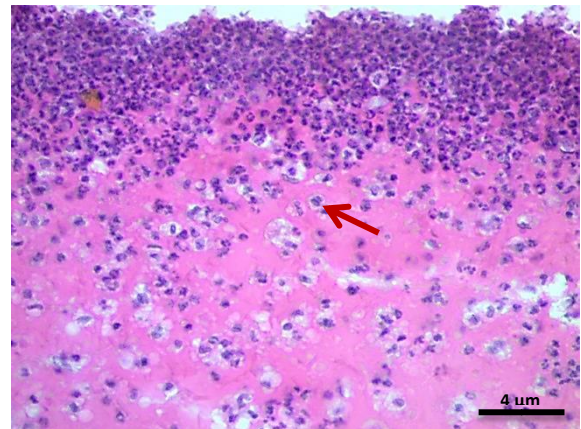


Figura 13. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo C). Aumento de 40x, coloração em HE. Seta marrom evidencia leucócito presente no exsudato inflamatório.

5.1.2 Pós-operatório aos 07 dias

Os animais deste grupo tiveram uma redução da área da lesão em torno de 60,88%, com valor médio de $39,12\text{mm}^2$ com desvio-padrão de 9,66 (Fig. 14). Não houve sinais de inflamação e foi perceptível a epitelização da ferida.

Ao microscópio, pode-se perceber uma diminuição da quantidade de células inflamatórias, com uma média de 23,33 células/ $10\ \mu\text{m}^2$ (Fig. 17). A distância média entre os bordos sadios foi de 4,32mm (Fig. 15). Observou-se presença de fibroblastos jovens, e proliferação epitelial das bordas em direção ao centro (formação da lingueta epitelial) com 2 espécimes ainda com área cruenta permanente. Já era possível identificar as camadas epiteliais, como as camadas córnea, granulosa e espinhosa, porém sem formação de papilas dérmicas nesse período (Fig. 16).



Figura 14. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 07 dias (Grupo C).

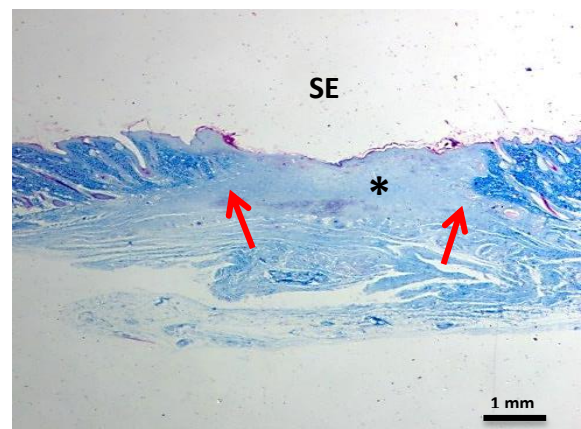


Figura 15. Corte histológico da área de cicatrização de 07 dias (Grupo C). Aumento de 0.8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa. (*) tecido de granulação.

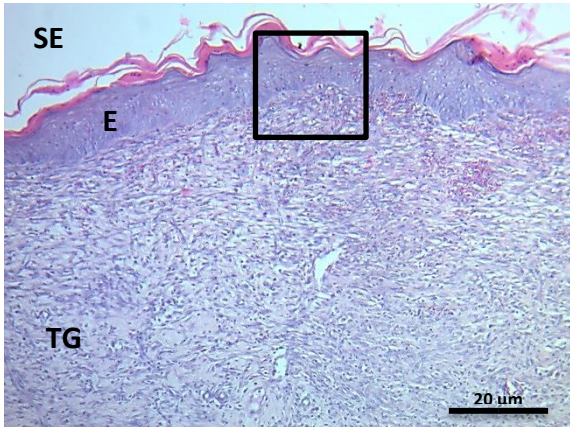


Figura 16. Fotomicrografia da área de cicatrização de 07 dias (Grupo C) Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa. (E) Epitélio. (TG) tecido de granulação

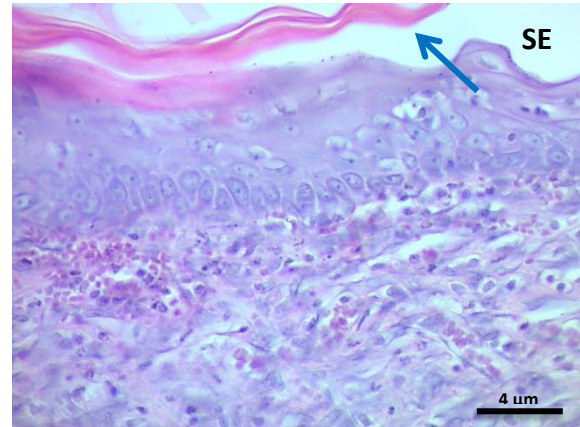


Figura 17. Fotomicrografia da área de cicatrização de 07 dias (Grupo C). Aumento de 40x, coloração em HE. Seta azul evidencia filamento de queratina. (SE) superfície externa

5.1.3 Pós-operatório aos 15 dias

Para este período de análise, foi observada a maior redução da área da ferida cirúrgica do grupo, de 88,28%. A média do tamanho da área da ferida foi de 11,72mm² com desvio-padrão de 4,97. Não puderam ser evidenciadas áreas de crostas, nem inflamação ou área cruenta. A epitelização foi marcante neste período (Fig. 18).

Ao microscópio, pode-se perceber uma diminuição da quantidade de células inflamatórias, com uma média de 6,13 células/10 μm² (Fig. 21). A distância média entre os bordos saudáveis foi de 3,13mm (Fig. 19). O tecido epitelial demonstrava grande concentração de fibroblastos, sem nenhuma amostra com área cruenta (Fig. 20). A superfície da ferida estava completamente epitelizada e seu tecido de granulação com vasos neoformados e ligeira formação de papilas dérmicas.



Figura 18. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 15 dias (Grupo C). Observe epitelização marcante, sem sinais de inflamação ou crostas.

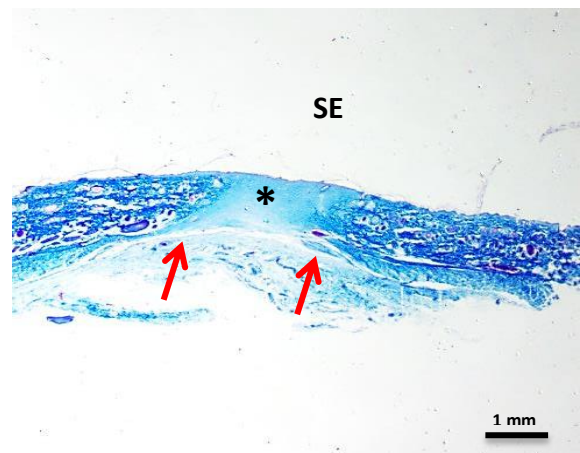


Figura 19. Corte histológico da área de cicatrização de 15 dias (Grupo C). Aumento de 0.8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos saudáveis. (SE) superfície externa. (*) tecido de granulação

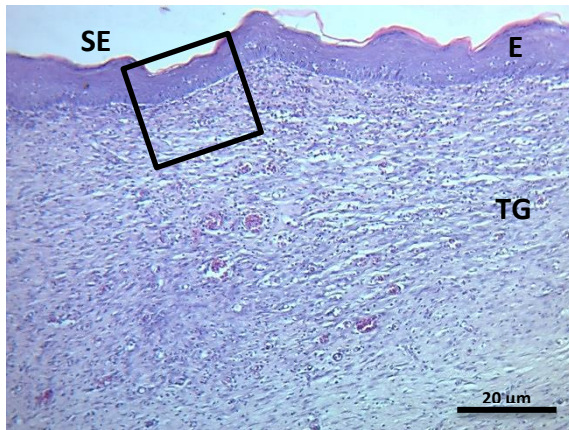


Figura 20. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo C). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) Superfície externa. (E) Epitélio. (TG) tecido de granulação

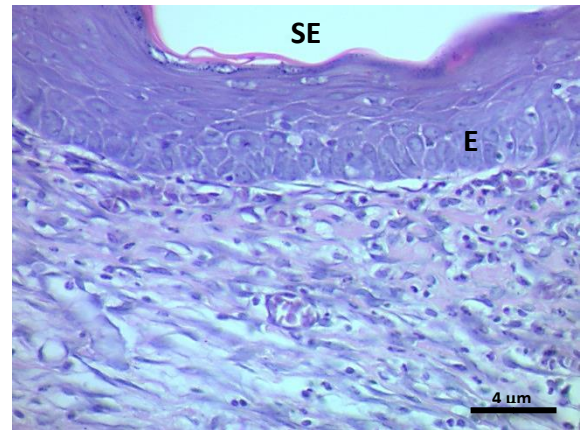


Figura 21. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo C). Aumento de 40x, coloração em HE. (SE) superfície externa. (E) Epitélio

5.2 GRUPO 850G POLO NORTE (E1)

5.2.1 Pós-operatório aos 03 dias

Para este período de análise, a redução da área da ferida cirúrgica foi em média de 18,08% com tamanho médio da área da ferida de 81,92mm² e desvio-padrão de 6,58. Foi visível a formação de crosta, com pouca inflamação ao redor dos bordos da ferida e área cruenta em seu centro (Fig. 22).

Na análise microscópica foi observada uma maior formação de crosta bem delimitada na região externa à área de cicatrização, com uma distância entre os bordos sadios de 7,43mm (Fig. 23). A matriz de preenchimento mostrou uma contagem de células inflamatórias de 45,16 células/10 μm² (Fig. 25), ainda com nenhuma evidência de organização tecidual (Fig. 24).



Figura 22. Aspecto macroscópico da área cirúrgica após 03 dias (Grupo E1). Observa-se na ferida a formação de crosta bem evidente.

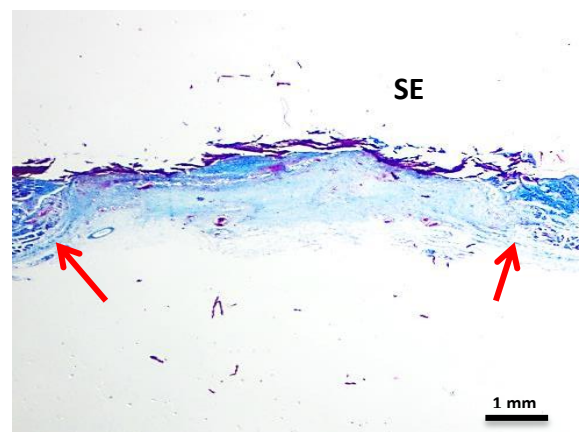


Figura 23. Corte histológico da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E1). Aumento de 0.8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa

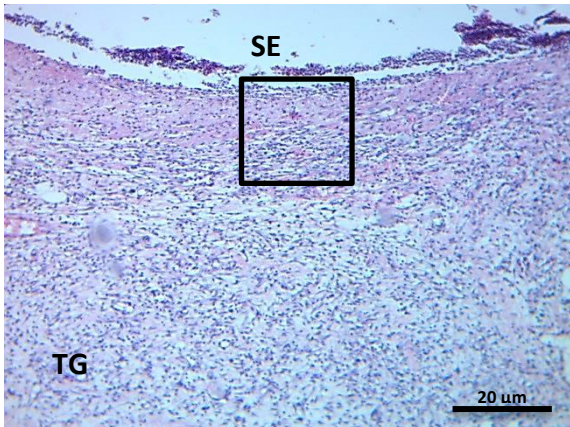


Figura 24. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E1). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa. (TG) tecido de granulação

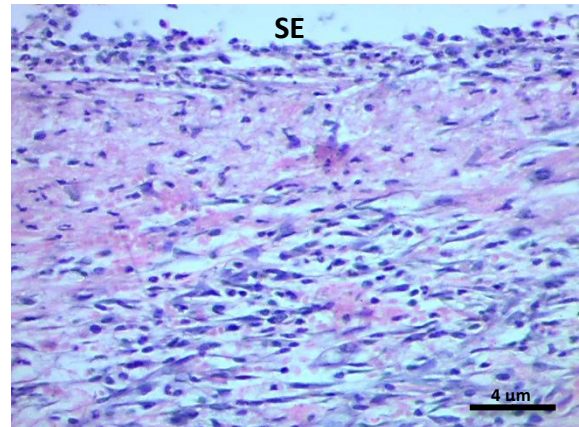


Figura 25. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E1). Aumento de 40x, coloração em HE. (SE) superfície externa

5.2.2 Pós-operatório aos 07 dias

Os animais deste grupo tiveram uma redução da área da lesão em torno de 69,31%, com valor médio de $30,69\text{mm}^2$ com desvio-padrão de 2,88. Não houve sinais de inflamação nem de permanência de área cruenta; e, foi perceptível a epitelização da ferida (Fig. 26).

Histologicamente, pode-se observar uma formação significativa da lingueta epitelial da borda sadia da ferida para seu centro (Fig. 28). A distância medida entre os bordos sadios da ferida foi de 3,96mm (Fig. 27). A inflamação foi notadamente reduzida em relação ao período de 03 dias com uma contagem de 13,33 células/ $10\ \mu\text{m}^2$ (Fig. 29). Observam-se fibroblastos jovens, pequenos vasos sanguíneos e desorganização no tecido de granulação, apesar do início da diferenciação das camadas epiteliais.



Figura 26. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 07 dias (Grupo E1). Observe a ausência de inflamação na ferida

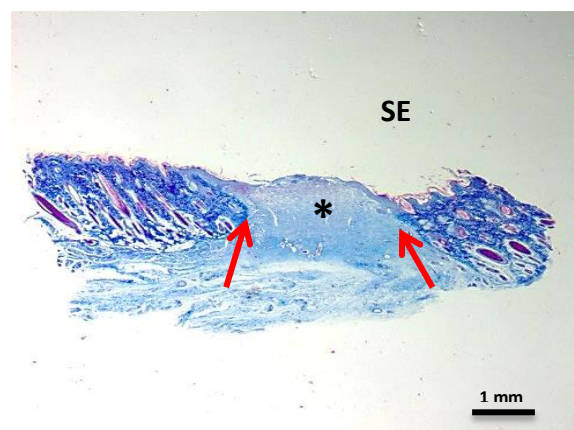


Figura 27. Corte histológico da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E1). Aumento de 0.8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa. (*) tecido de granulação

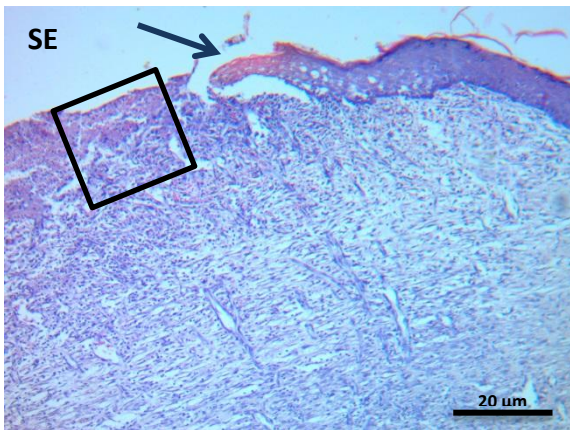


Figura 28. Corte microscópico da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E1). Aumento de 10x, coloração em HE. Seta azul evidencia uma projeção epitelial em direção ao centro da ferida. (SE) superfície externa

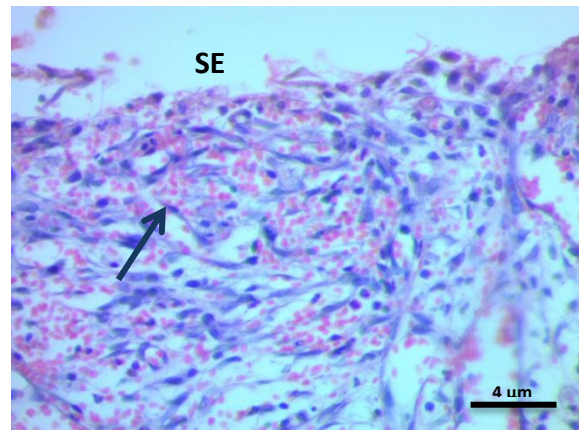


Figura 29. Corte microscópico da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E1). Aumento de 40x, coloração em HE. Seta azul evidencia um aglomerado de hemácias. (SE) superfície externa

5.2.3 Pós-operatório aos 15 dias

Para este período de análise, foi observada a grande redução da área da ferida cirúrgica na ordem de 93,7%. A média do tamanho da área da ferida foi de $6,3\text{mm}^2$ com desvio-padrão de 3,88. Não foi observada nenhuma área de crosta, nem inflamação ou de área cruenta. A epitelização da ferida foi marcante neste período (Fig. 30).

Microscopicamente, pode-se perceber a diminuição da quantidade de células inflamatórias, com uma média igual ao do grupo C de 6 células/ $10\ \mu\text{m}^2$ (Fig. 33). A distância média entre os bordos sadios foi de 3,21mm (Fig. 31). O tecido epitelial apresentava-se semelhante ao de um tecido sadio (Fig 32).



Figura 30. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 15 dias (Grupo E1).

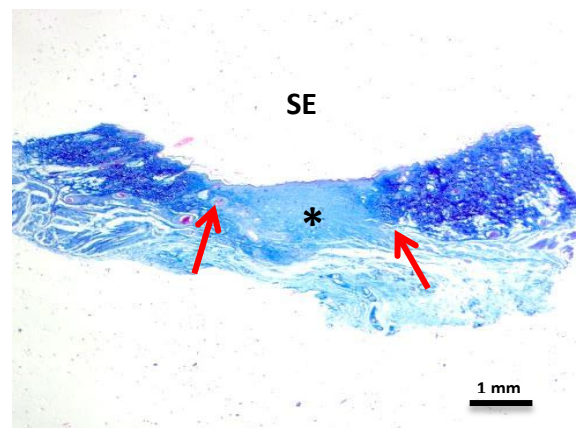


Figura 31. Corte histológico da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E1). Aumento de 0,8x, coloração em TG. Setas vermelhas evidenciam os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa. (*) tecido de granulação

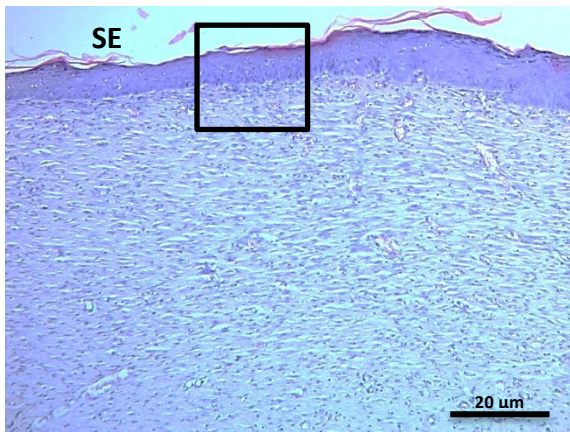


Figura 32. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E1). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) Superfície externa

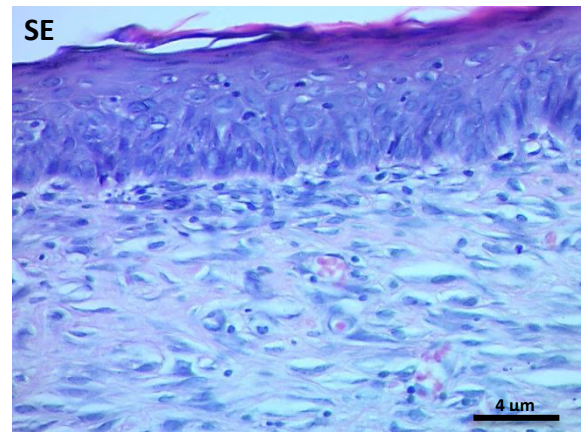


Figura 33. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E1). Aumento de 40x, coloração em HE. (SE) superfície externa

5.3 GRUPO 850G POLO SUL (E2)

5.3.1 Pós-operatório aos 03 dias

Neste período de análise, a redução da área da ferida cirúrgica foi de apenas 3,82% em média, com tamanho médio da área da ferida de $96,18\text{mm}^2$ e desvio-padrão de 2,1. Foi observada uma inflamação mais intensa ao redor das bordas da ferida, com formação de crosta de forma mais irregular que nos outros grupos anteriores com grande área cruenta em seu centro (Fig. 34).

Histologicamente, a distância média entre os bordos saudáveis foi de 8,79mm (Fig. 35). Foi evidente a menor concentração de células inflamatórias dentre os grupos de 03 dias com uma contagem média de apenas 26,33 células/ $10\ \mu\text{m}^2$ (Fig. 37). Ainda há pouca evidência de epitelização da superfície da ferida (Fig 36).



Figura 34. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 03 dias (Grupo E2). Observa a formação de crosta irregular e permanência de área cruenta no centro da ferida

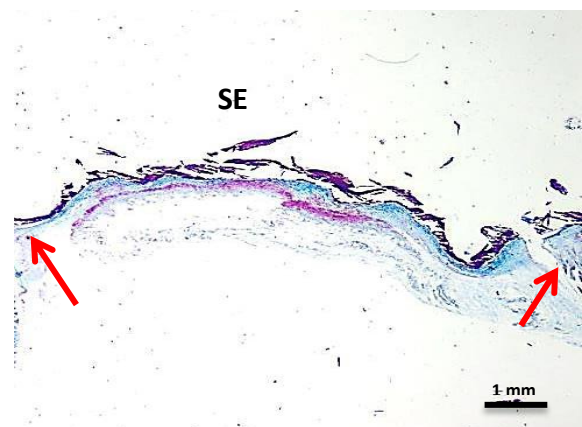


Figura 35. Corte histológico da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E2). Aumento de 0.8x, coloração em HE. As setas evidenciam os limites dos bordos saudáveis. (SE) superfície externa

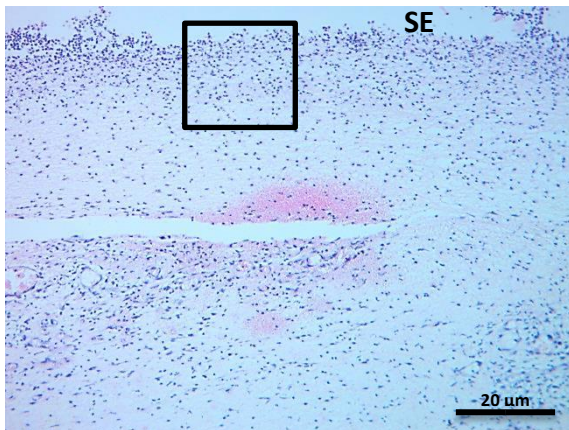


Figura 36. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E2). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa

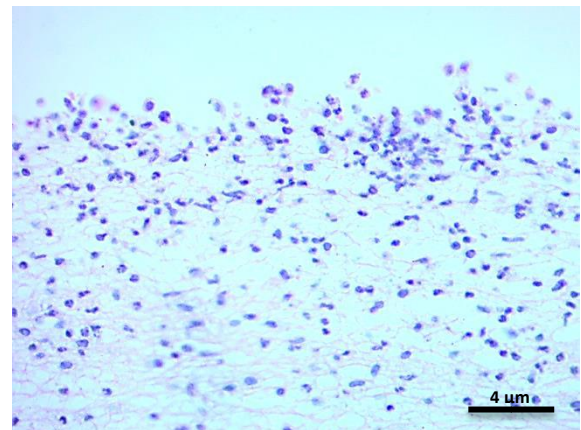


Figura 37. Fotomicrografia da área de cicatrização de 03 dias (Grupo E2). Aumento de 40x, coloração em HE. Células do infiltrado inflamatório com seus núcleos corados em azul mais escuro.

5.3.2 Pós-operatório aos 07 dias

Os animais deste grupo tiveram uma redução média da área da lesão em 42,44%, com valor médio de 57,56mm² e desvio-padrão de 9,29. Ainda eram possíveis de se observar sinais de inflamação leve ao redor da ferida, com permanência da crosta irregular e permanência de área cruenta com pouca evidência de epitelização (Fig. 38).

Ao microscópio, pode-se perceber uma diminuição da quantidade de células inflamatórias, com uma média de 13,16 células/10 μm² (Fig. 41). A distância média entre os bordos saudáveis foi de 5,69mm (Fig. 39). O tecido de granulação estava bem celularizado com maior concentração de fibroblastos jovens dispostos perpendicularmente ao bordo externo da lesão sem observância de tecido epitelial (Fig. 40).



Figura 38. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 07 dias (Grupo E2). Observar a irregularidade da crosta e da permanência de área cruenta na ferida.

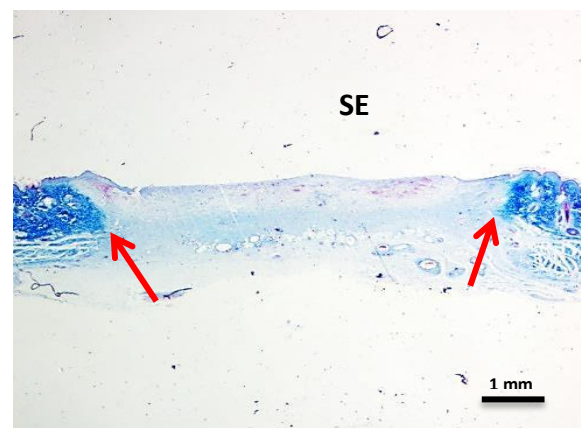


Figura 39. Corte histológico da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E2). Aumento de 0.8x, coloração em TG. As setas evidenciam os limites dos bordos saudáveis. (SE) superfície externa

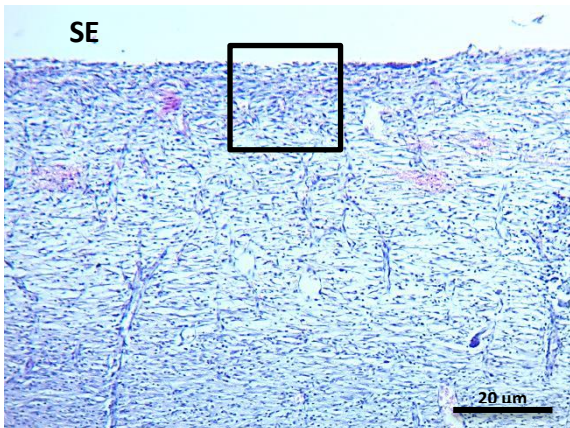


Figura 40. Fotomicrografia da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E2). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa

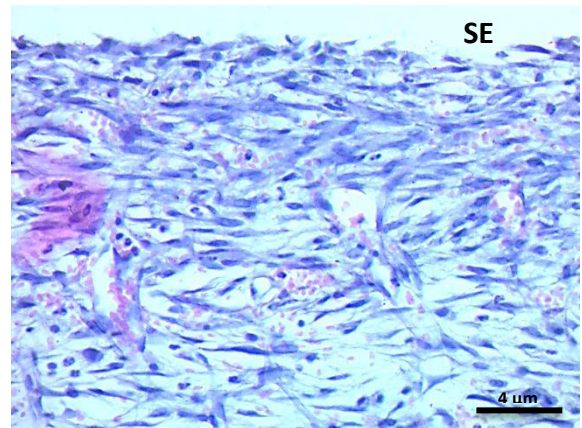


Figura 41. Fotomicrografia da área de cicatrização de 07 dias (Grupo E2). Aumento de 40x, coloração em HE. (SE) superfície externa

5.3.3 Pós-operatório aos 15 dias

Neste período de análise, foi observada a redução da área da ferida cirúrgica na ordem de 91,6%. A média do tamanho da área da ferida foi de 8,4mm² com desvio-padrão de 4. Já não pode ser observada nenhuma área de crosta, nem inflamação ou de área cruenta (Fig. 42). A epitelização da ferida foi marcante neste período.

Microscopicamente, a quantidade de células inflamatórias foi de 9,66 células/10 µm² (Fig. 45). A distância média entre os bordos sadios foi de 3,58mm (Fig. 43). O tecido epitelial encontrava-se com a melhor organização dentre os períodos, sem permanência de área cruenta. As camadas que compõem o tecido epitelial estavam bem organizadas, com papilas dérmicas bem formadas e características de um tecido sadio com escassas células inflamatórias (Fig. 44).



Figura 42. Aspecto macroscópico da ferida cirúrgica após 15 dias (Grupo E2). Notar a ausência de crosta e inflamação da ferida.

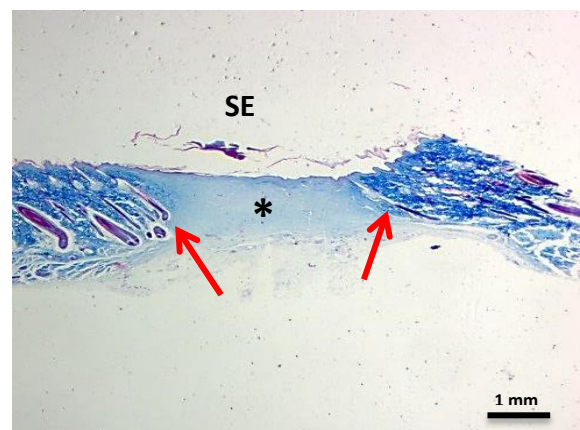


Figura 43. Corte microscópico da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E2). Aumento de 4x, coloração em HE. As setas evidenciam os limites dos bordos sadios. (SE) superfície externa. (*) tecido de granulação

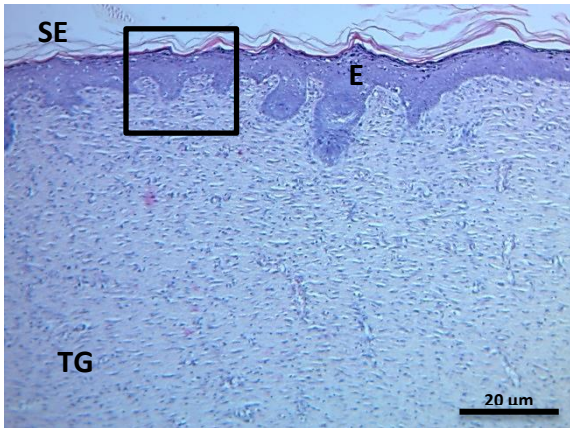


Figura 44. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E2). Aumento de 10x, coloração em HE. (SE) superfície externa. (E) Epitélio. (TG) tecido de granulação

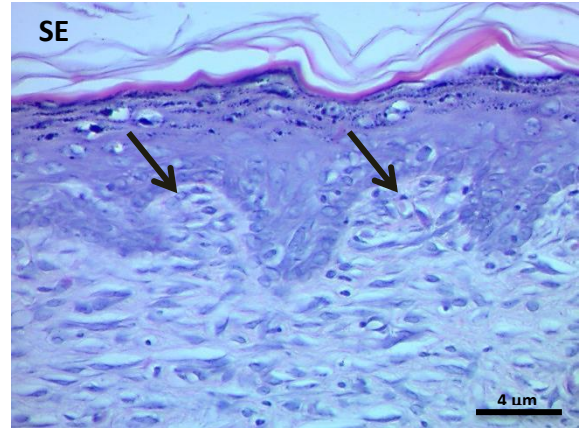


Figura 45. Fotomicrografia da área de cicatrização de 15 dias (Grupo E2). Aumento de 40x, coloração em HE. As setas evidenciam as papilas dérmicas bem definidas. (SE) superfície externa

5.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS

Os resultados estatísticos da comparação das áreas macroscópicas, das distâncias microscópicas e da contagem de células inflamatórias entre os grupos estão descritos a seguir:

5.4.1 Grupo Controle (C) x Grupo 850G Norte (E1)

Os resultados na tabela 2 apontam que a área macroscópica da ferida no grupo C aos 03 dias pós-operatórios (78,20mm²) foi menor que a do grupo E1 no mesmo período (81,92mm²). Nos outros dois períodos subsequentes de avaliação as áreas da ferida foram maiores para o grupo C (39,12mm² aos 7 dias e 11,72mm² aos 15 dias) do que para o grupo E1 (30,69mm² aos 7 dias e 6,30mm² aos 15 dias). Entretanto, não houve diferenças estatísticas significantes em nenhum dos períodos de análise entre o grupo C e o grupo E1.

Tabela 2. Comparação entre as áreas macroscópicas das feridas dos grupos Controle (C) e 850G Norte (E1).

	Área macroscópica da ferida (mm ²)		p
	Grupo Controle (C)	850G Norte (E1)	
	M ± DP	M ± DP	
03 dias	78,20 ± 7,31	81,92 ± 6,58	0,376
07 dias	39,12 ± 9,66	30,69 ± 2,88	0,068
15 dias	11,72 ± 4,97	6,30 ± 3,88	0,062

M=média; DP=Desvio Padrão; mm²=milímetro quadrado; G=Gauss

*Apresenta diferença estatisticamente significativa para p ≤ 0,05

Na tabela 3, observa-se que as distâncias entre os bordos sadios nos períodos de análise de 03 e 07 dias pós-operatórios foram maiores para o grupo C (7,74mm e 4,32mm, respectivamente) do que para o grupo E1 (7,43mm e 3,96mm, respectivamente). Já aos 15 dias pós-operatórios, a distância entre os bordos sadios no grupo C (3,13mm) foi menor do que para o grupo E1 (3,21mm). Não há diferenças estatísticas significantes para os períodos de observação acima citados entre os grupos C e E1.

Tabela 3. Comparação entre as distâncias microscópicas das feridas dos grupos Controle (C) e 850G Norte (E1).

	Distância microscópica entre bordos sadios (mm)		p
	Grupo Controle (C)	850G Norte (E1)	
	M ± DP	M ± DP	
03 dias	7,74 ± 0,66	7,43 ± 0,53	0,398
07 dias	4,32 ± 0,75	3,96 ± 0,54	0,362
15 dias	3,13 ± 0,77	3,21 ± 0,66	0,867

M=média; DP=Desvio Padrão; µm=micrometro; G=Gauss

*Apresenta diferença estatisticamente significativa para $p \leq 0,05$

Para a contagem das células inflamatórias (Tabela 4), foi possível identificar que nos dois primeiros períodos de observação foram maiores os valores encontrados para o grupo C (83,50 céls/10µm² aos 03 dias; 23,33 céls/10µm² aos 07 dias e 6,13 céls/10µm² aos 15 dias) do que os valores do grupo E1 (45,16 céls/10µm² aos 03 dias; 13,33 céls/10µm² aos 7 dias e 6 céls/10µm²). Aplicando o teste “t” de Student, observam-se diferenças significativas apenas para os períodos de 03 e 07 dias de observação ($p < 0,05$).

Tabela 4. Comparação entre as contagens de células inflamatórias dos grupos Controle (C) e 850G Norte (E1).

	Contagem de células inflamatórias (/10µm ²)		p
	Controle (C)	850G Norte (E1)	
	M ± DP	M ± DP	
03 dias	83,50 ± 9,73	45,16 ± 5,11	0,000*
07 dias	23,33 ± 4,76	13,33 ± 1,96	0,001*
15 dias	6,13 ± 1,26	6 ± 2,89	1,000

M=média; DP=Desvio Padrão; µm²=micrometro quadrado; G=Gauss

*Apresenta diferença estatisticamente significativa para $p \leq 0,05$

5.4.2 Grupo Controle (C) x Grupo 850G Sul (E2)

Na Tabela 5, as medidas das áreas das feridas do grupo C foram menores nos dois primeiros períodos de análise (78,20mm² aos 03 dias e 39,12 mm² aos 07 dias) do que as medidas do grupo E2 (96,18mm² aos 03 dias e 57,56mm² aos 07 dias). No aos 15 dias pós-operatórios, o valor da área da ferida foi menor para o

grupo E2 (8,40mm²) do que para o grupo C (11,72mm²). Há diferenças estatísticas significantes apenas entre os períodos de 03 e 07 dias entre esses grupos.

Tabela 5. Comparação entre as áreas macroscópicas das feridas dos grupos Controle (C) e 850G Sul (E2).

	Área macroscópica da ferida (mm ²)		p
	Controle (C) M ± DP	850G Sul (E2) M ± DP	
03 dias	78,20 ± 7,31	96,18 ± 2,10	0,001*
07 dias	39,12 ± 9,66	57,56 ± 9,29	0,009*
15 dias	11,72 ± 4,97	8,40 ± 4	0,248

M=média; DP=Desvio Padrão; mm²=milímetro quadrado; G=Gauss

*Apresenta diferença estatisticamente significativa para p ≤ 0,05

Na tabela 6, está descrita a comparação entre as distâncias microscópicas das feridas entre os grupos C e E2. Em todos os períodos de análise a distância microscópica entre bordos sadios foi menor para o grupo C do que as distâncias do grupo E2. Houve diferenças estatísticas significantes apenas entre os períodos de 03 e 07 dias (p=0,012 e p=0,005, respectivamente).

Tabela 6. Comparação entre as distâncias microscópicas das feridas dos grupos Controle (C) e 850G Sul (E2).

	Distância microscópica entre bordos sadios (mm)		p
	Controle (C) M ± DP	850G Sul (E2) M ± DP	
03 dias	7,74 ± 0,66	8,79 ± 0,51	0,012*
07 dias	4,32 ± 0,75	5,69 ± 0,58	0,005*
15 dias	3,13 ± 0,77	3,58 ± 0,34	0,237

M=média; DP=Desvio Padrão; μm=micrometro; G=Gauss

*Apresenta diferença estatisticamente significativa para p ≤ 0,05

Os valores na Tabela 7 mostram que para as observações de 03, 07 a contagem de células inflamatórias foi menor para o grupo E2 (26,33 céls/10μm² e 13,16 céls/10μm², respectivamente) do que para o grupo C (83,50 céls/10μm² e 23,33 céls/10μm², respectivamente). Aos 15 dias a contagem das células foi maior para o grupo E2 (9,66 céls/10μm²) do que para o grupo C (6,13 céls/10μm²).

Observam-se diferenças estatísticas entre esses grupos em todos os períodos de observação.

Tabela 7. Comparação entre as contagens de células inflamatórias dos grupos Controle (C) e 850G Sul (E2).

	Contagem de células inflamatórias (/10 μ m ²)		p
	Controle (C) M \pm DP	850G Sul (E2) M \pm DP	
03 dias	83,50 \pm 9,73	26,33 \pm 4,45	0,000*
07 dias	23,33 \pm 4,76	13,16 \pm 2,31	0,001*
15 dias	6,13 \pm 1,26	9,66 \pm 2,42	0,008*

M=média; DP=Desvio Padrão; μ m²=micrometro quadrado; G=Gauss

*Apresenta diferença estatisticamente significativa para $p \leq 0,05$

5.4.3 Grupo 850G Norte (E1) x Grupo 850G Sul (E2)

Os resultados da Tabela 8 mostram que os valores da área da ferida foram menores para o grupo E1 comparados ao grupo E2 em todos os períodos de análise. As diferenças são estatisticamente significantes apenas para os períodos de 03 e 07 dias entre esses grupos.

Tabela 8. Comparação entre as áreas macroscópicas das feridas dos grupos 850G Norte (E1) e 850G Sul (E2).

	Área macroscópica da ferida (mm ²)		p
	850G Norte (E1) M \pm DP	850G Sul (E2) M \pm DP	
03 dias	81,92 \pm 6,58	96,18 \pm 2,10	0,001*
07 dias	30,69 \pm 2,88	57,56 \pm 9,29	0,000*
15 dias	6,30 \pm 3,88	8,40 \pm 4	0,400

M=média; DP=Desvio Padrão; mm²=milímetro quadrado; G=Gauss

*Apresenta diferença estatisticamente significativa para $p \leq 0,05$

Na tabela 9 os resultados da distância entre os bordos sadios para os períodos de 03, 07 e 15 dias pós-operatórios mostram valores menores para grupo E1 (7,43mm, 3,96mm e 3,21mm, respectivamente). Há diferenças estatísticas significantes apenas entre os períodos de 03 e 07 dias entre esses grupos ($p < 0,05$).

Tabela 9. Comparação entre as distâncias microscópicas das feridas dos grupos 850G Norte (E1) e 850G Sul (E2).

	Distância microscópica entre bordos sadios (mm)		Teste T
	850G Norte (E1)	850G Sul (E2)	
	M ± DP	M ± DP	
03 dias	7,43 ± 0,53	8,79 ± 0,51	0,001*
07 dias	3,96 ± 0,54	5,69 ± 0,58	0,000*
15 dias	3,21 ± 0,66	3,58 ± 0,34	0,257

M=média; DP=Desvio Padrão; µm=micrometro; G=Gauss

*Apresenta diferença estatisticamente significativa para $p \leq 0,05$

A tabela 10 mostra que a contagem das células inflamatórias para os períodos de 03 e 07 dias pós-operatórios foi menor para o grupo E2 (26,33 e 13,16 céls/10µm², respectivamente) quando comparado ao grupo E1 (45,16 e 13,33 céls/10µm², respectivamente). Aos 15 dias, a contagem foi maior para o grupo E2 (9,66 céls/10µm²) do que para o grupo E1 (6 céls/10µm²). Não há diferenças estatísticas significantes aos 07 dias ($p > 0,05$). Já para os demais períodos de análise (03 e 15 dias), o grau de significância foi $< 0,05$, demonstrando que há diferenças estatísticas significantes entre esses grupos.

Tabela 10. Comparação entre as contagens de células inflamatórias dos grupos 850G Norte (E1) e 850G Sul (E2).

	Contagem de células inflamatórias (/10µm ²)		Teste T
	850G Norte (E1)	850G Sul (E2)	
	M ± DP	M ± DP	
03 dias	45,16 ± 5,11	26,33 ± 4,45	0,000*
07 dias	13,33 ± 1,96	13,16 ± 2,31	0,896
15 dias	6 ± 2,89	9,66 ± 2,42	0,039*

M=média; DP=Desvio Padrão; µm²=micrometro quadrado; G=Gauss

*Apresenta diferença estatisticamente significativa para $p \leq 0,05$

Os gráficos a seguir resumem os valores encontrados para as medidas macroscópicas das áreas das feridas, as distâncias microscópicas entre os bordos sadios e as contagens das células inflamatórias para os grupos C, E1 e E2 nos períodos de observação de 03, 07 e 15 dias pós-operatórios.

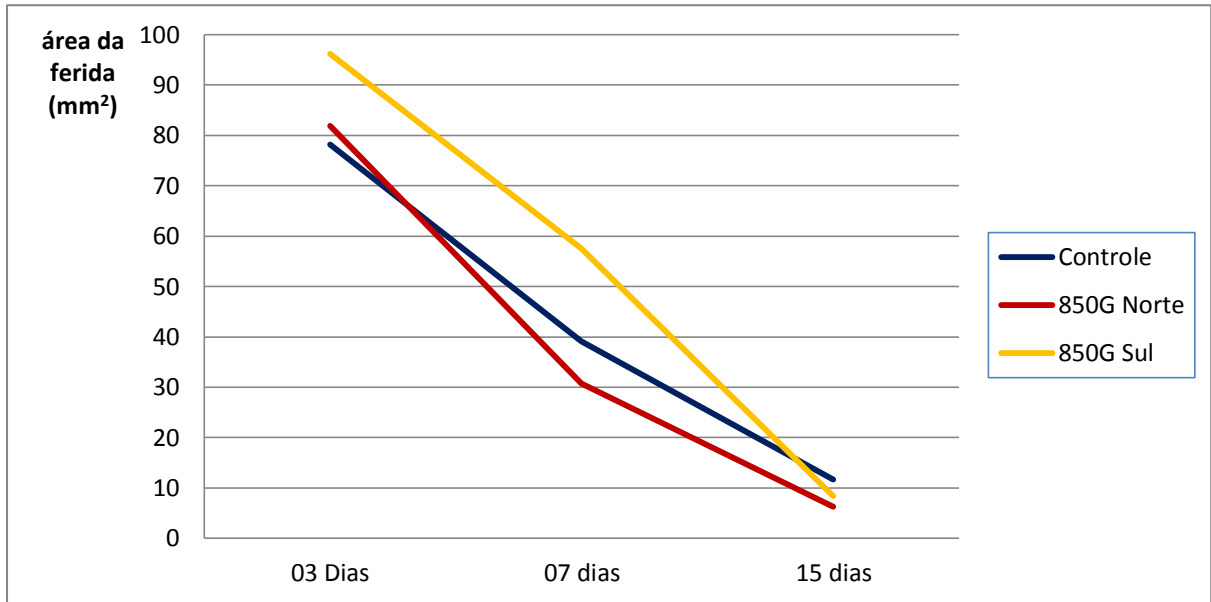


Gráfico 1. Valor médio das áreas macroscópicas das feridas em mm² dos grupos Controle, 850G Norte e 850G Sul nos períodos de 03, 07 e 15 dias.

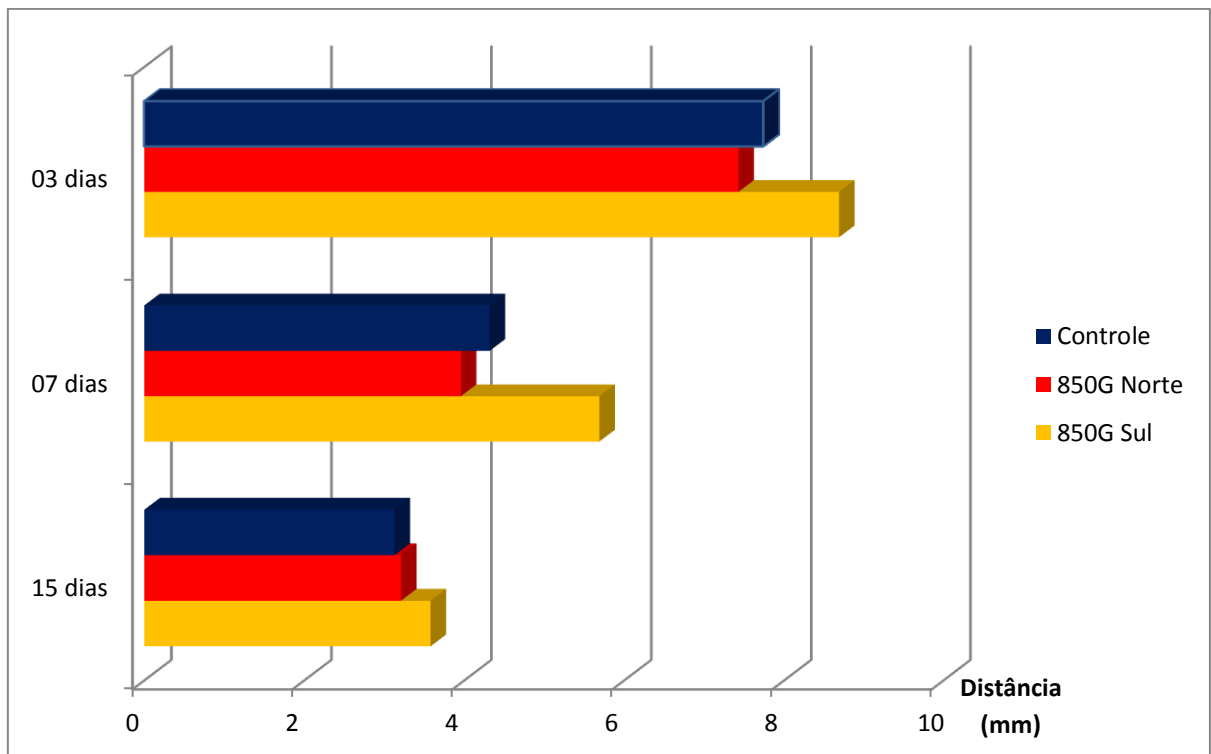


Gráfico 2. Valor médio das distâncias microscópicas entre bordos saudáveis em mm dos grupos Controle, 850G Norte e 850G Sul nos períodos de 03, 07 e 15 dias.

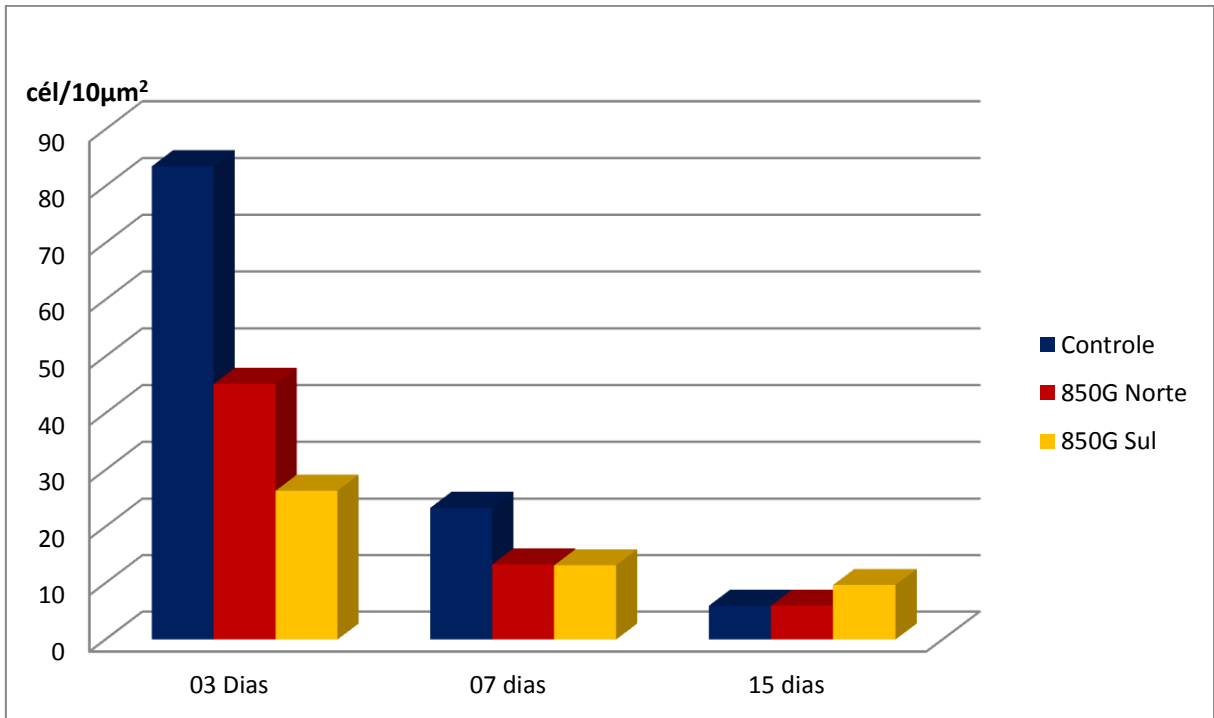


Gráfico 3. Valor médio da contagem de células inflamatórias em $\text{cél}/10\mu\text{m}^2$ dos grupos Controle, 850G Norte e 850G Sul nos períodos de 03, 07 e 15 dias.

6. DISCUSSÃO

Neste estudo o modelo utilizado foi o animal, com ratos machos Wistar, assim como a maior parte dos trabalhos encontrados na literatura sobre esse assunto (AMARA et al., 2006; AZAMBUJA, 2007; CALCAGNOTTO, 2009; CAMILLERI; MCDONALD, 1993; DUTRA, 2005; JING et al., 2010; MORRIS; SKALAK, 2007; NURSAL et al., 2006; ÖCAL; GÜNAY, 2004; SCHWENGBER, 2009; ULBRICH, 2003; XU; OKANO; OHKUBO, 2000). Sua escolha deveu-se a facilidade de manuseio, necessidade reduzida de espaço para acomodação, tornando-o um modelo de baixo custo (FAGUNDES; TAHA, 2004).

A intensidade do campo escolhida para esta pesquisa foi a de 850G, a qual se encontra dentro da variação observada na literatura – de 0,3G (ANSELMO et al., 2008) a 4.024G (MAYROVITZ; GROSECLOSE, 2005).

O tempo de exposição ao campo magnético foi permanente e estático. Os períodos de observação se deram de maneira similar aos estudos de Azambuja (2007); Calcagnotto (2009); Camilleri e McDonald (1993); Dutra (2005); Jing *et al.* (2010); Morris e Skalak (2007); Nursal *et al.* (2006); Schwengber (2009) e Ulbrich (2003). A escolha dos períodos de observação se deu com o intuito de avaliar adequadamente o reparo tecidual dos animais. Entretanto pode-se observar que não houve reparação completa em nenhum dos grupos estudados, inclusive no grupo controle aos 15 dias, o que sugere futuras pesquisas com um período maior de observação até o reparo completo.

Os eventos observados para o período de análise de 03 dias em todos os grupos de estudo deste experimento, demonstram maior atividade leucocitária no grupo C, sendo sua diferença tanto para o grupo E1, quanto para o grupo E2 estatisticamente significativa. As diferenças entre o grupo E1 e E2 também foram significantes estatisticamente, sendo a atividade inflamatória notadamente menor no grupo E2 no período de 03 dias. Esta atividade anti-inflamatória do campo magnético manteve-se nos períodos de observação de 07 dias, porém com igualdade entre os valores de E1 e E2 (Gráfico 3). Contradizendo todas as expectativas para a continuidade do efeito, a atividade anti-inflamatória do Grupo E2 decaiu e sua contagem total de células inflamatórias foi maior do que as dos grupos

C e E1, com diferenças significantes. Não é possível estabelecer ainda um mecanismo responsável para tais achados, entretanto pode-se correlacioná-los ao fato da redução na microcirculação de acordo com os trabalhos de Mayrovitz e Groseclose (2005), Morris e Skalak (2007) e Xu, Okano e Ohkubo (2000). Mesmo não diferenciando os polos que foram utilizados em seus trabalhos, os resultados sugerem concordância, embora em modelos de estudo diferentes. Essa redução da microcirculação pode-se também ser decorrente da mesma atividade hipotensora observada por Morera *et al.* (2003) e Okano e Ohkubo (2003).

No modelo de estudo deste trabalho pode-se observar efeitos diferenciados com relação ao tipo de polo utilizado no que diz respeito à contração da ferida tanto macro, quanto microscopicamente. Quando comparado ao grupo C, o grupo E1 macroscopicamente não apresentou diferença estatisticamente significativa, mas uma tendência à maior contração da área da ferida. Essa contração pode ser entendida como um aumento na atividade de reparação da ferida e se alinham com os achados de Paz, Deben e Ceballos (2001); Jing *et al.* (2010) e Ozdemir *et al.* (2011). Uma vez que reduzir a área exposta é um mecanismo de defesa do organismo contra infecções, atribui-se melhores resultados à utilização do polo N do ímã de 850G nos períodos iniciais da cicatrização, 03 e 07 dias.

A contração da ferida tanto macro quanto microscopicamente parece ter sido bastante retardada para o grupo E2 (polo S do ímã de 850G) nos dois primeiros períodos de análise. Macroscopicamente, sua redução inicial em 03 dias foi de apenas 3,82%, enquanto para os grupos C e E1 foi de 21,8% e 18,08% respectivamente (Gráfico 1). Microscopicamente os valores da distância entre os bordos sadios (C= 7,74mm; E1= 7,43mm; E2= 8,79mm) confirmam os achados macroscópicos (Gráfico 2). Esse retardo na contração do leito da ferida no grupo E2 pode ter sido o fator que levou ao melhor arranjo estrutural observado, uma vez que a correta movimentação e rearranjo celular demanda certa medida de tempo. O tecido cicatricial resultante da utilização do polo S no grupo E2 foi o mais próximo ao de um tecido sadio, com suas camadas epiteliais bem delimitadas e melhor diferenciação celular. Mesmo após esse retardo inicial das áreas da ferida e das distâncias entre os bordos sadios, no período de análise de 15 dias, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Resultados próximos aos achados de Ozemir *et al.* (2011), nos quais houve aumento da velocidade de

reparação tecidual nos dois primeiros períodos de análise (1 e 7 dias), porém sem diferenças significativas no período de 15 dias.

É importante destacar que os valores das distâncias microscópicas observados foram menores do que aqueles observados durante a mensuração das áreas das feridas cirúrgicas efetuada ainda nos animais vivos. Tal disparidade pode ser explicada pelo próprio processamento histológico para obtenção das lâminas, pois o fragmento removido do animal passa pelo processo de desidratação, onde há perda de água do tecido fazendo com que esse se contraia, resultando em valores menores do que no tecido ainda não processado.

Sabendo das potencialidades de utilização de diferentes polos de um mesmo ímã, ainda torna-se necessário o conhecimento prévio da cronologia e do tipo da lesão, a fim de se presumir a etapa e os prováveis eventos de ocorrência naquele dado momento para se atingir a maior probabilidade de potencializar o evento predominante.

Ao se extrapolar uma das possibilidades de utilização do polo N do ímã de 850G deste estudo, este poderia ser empregado no tratamento de pacientes submetidos a grandes cirurgias (ortopédicas, bucomaxilares, reduções cruentas de traumatismos, etc.) ou até mesmo na recuperação de queimaduras, onde haveria uma tentativa de se agregar os efeitos anti-inflamatórios moderados observados neste estudo, com a potencialização da contração das feridas. Os efeitos inflamatórios, geralmente são acompanhados de edema e dor, e, caso sejam inibidos, poderiam levar a um maior conforto e melhores resultados para a recuperação deste tipo de paciente, bem como gerar um impacto socioeconômico por diminuir a quantidade de medicamentos comumente utilizados, que de acordo com Morera *et al.* (2003) poderia chegar a cerca de US\$ 480,00.

A rápida redução da área da ferida – fator essencial para a recuperação desses pacientes – pode contribuir para a redução do tempo de internação bem como reduzir as possibilidades de infecção e/ou complicações decorrentes da permanência de áreas cruentas nessas feridas. Os resultados desta pesquisa, somados aos achados das pesquisas em tecido ósseo (AYDIN; BEZER, 2011; AZAMBUJA, 2007; CALCAGNOTTO, 2009; DUTRA, 2005; HSU; CHANG, 2010;

SCHWENGBER, 2009) e cartilaginoso (JABERI et al., 2011) permitem vislumbrar uma expectativa de melhoria na recuperação desses pacientes.

Já em relação ao polo S do ímã de 850G, foi notável a redução da atividade inflamatória nos primeiros 07 dias pós-cirúrgicos. Tais resultados poderiam ser utilizados em tratamento de pacientes com afecções do tipo autoimunes e reumáticas para redução da inflamação decorrente desses quadros, da mesma forma que os estudos de Salinas e Viamontes (1996). Visto que foi possível perceber uma melhor organização tecidual com a utilização deste polo, talvez seja interessante o seu emprego durante a recuperação de pacientes com necessidades estéticas, como nas cirurgias plásticas, desde que seja mantida a assepsia da área, devido ao maior tempo exigido para a cicatrização.

A pesquisa bibliográfica mostrou uma falta de padronização da metodologia, o que dificulta e/ou limita a comparação dos resultados. São necessários futuros estudos no intuito de se padronizar ou identificar a intensidade do campo magnético, a localização e a distância dos ímãs.

Entretanto, os resultados obtidos no presente estudo são bastante expressivos, podendo servir de base para outros estudos em diferentes modelos animais. Associando-se os resultados encontrados na literatura (influências positivas na reparação de outros tipos de tecido – ósseo, cartilaginoso) são promissores os resultados que podem se alcançar ao se usar corretamente o polo específico para cada tipo de situação clínica.

7. CONCLUSÃO

Diante da metodologia empregada, dos resultados obtidos, respondendo aos objetivos propostos, pode-se concluir que:

- A exposição ao campo magnético oriundo da utilização de ímãs de intensidade de 850G, promove uma modificação na atividade cicatricial e inflamatória do tecido epitelial de ratos.

- Há alteração na concentração das células do infiltrado inflamatório nos grupos estudados, sendo a influência do polo S (Grupo E2) maior do que o polo N (Grupo E1).

- A atividade cicatricial, observada pelas mensurações macro (área da ferida em mm²) e microscópicas (distância entre os bordos saudios em mm), demonstrou maior atividade para o grupo E1 (polo N) quando comparado ao grupo E2 (polo S).

- A modulação na atividade cicatricial do tecido é 'polo-dependente', pois ocorrem mudanças dessa atividade biológica tecidual com ímãs de mesma intensidade de campo magnético, quando empregados com polos diferentes.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA-LOPES, L. Análise in vitro da Proliferação Celular de Fibroblastos de Gengiva Humana Tratados com Laser de Baixa Potência. Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade Vale do Paraíba, São Paulo, 1999. 133 p.
2. AMARA, S. et al. Effects of Static Magnetic Field Exposure on Hematological and Biochemical Parameters in Rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, n.6, p.889-895. 2006.
3. ANSELMO, C. W. S. F. et al. Influence of a 60 Hz, 3 μ T, electromagnetic field on the somatic maturation of wistar rat offspring fed a regional basic diet during pregnancy. **Brazilian Journal of Biology**, v.68, n.3, p.641-648. 2008.
4. AYDIN, N.; BEZER, M. The effect of an intramedullary implant with a static magnetic field on the healing of the osteotomised rabbit femur. **International Orthopaedics**, v.35, p.135 - 141. 2011.
5. AZAMBUJA, H. V. D. Avaliação da Aplicação de um Campo Magnético Permanente Sepultado em Área de Enxerto Ósseo Alógeno e Dento-Alveolar - Estudo Experimental em Ratos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007. 91 p.
6. BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.1, p.25. 2005.
7. CALCAGNOTTO, T. Avaliação histológica e bioquímica do reparo ósseo em crânios de ratos após implantes de cimento de fosfato de cálcio (MIMIXtm) sob campo magnético permanente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009. 147 p.
8. CAMILLERI, S.; MCDONALD, F. Static magnetic field effects on the sagittal suture in Rattus Norvegicus. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v.103, p.240 - 246. 1993.
9. CAMPBELL, D. T.; STANLEY, J. C. **Delineamentos experimentais e quase-experimentais de pesquisa**. São Paulo: USP/EPU. 1979
10. CLARK, R. A. F. Biology of dermal wound repair dermatological clinics. **Journal of Investigative Dermatology**, v.11, p.647 - 661. 1993.
11. COLBERT, A. P. et al. Static Magnetic Field Therapy: A Critical Review of Treatment Parameters. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine** v.6, n.2, p.133-139. 2009.
12. DI PIETRO, L. A. Wound healing: the role of the macrophage and other immune cells. **Shock**, v.4, p.233 - 240. 1995.

13. DUTRA, N. B. Avaliação Histológica da Aplicação de um Campo Magnético em Enxertos Ósseos Autógenos em Ratos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005. 82 p.
14. FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.19, n.1, p.59-65. 2004.
15. GORACA, A.; CIEJKA, E.; PIECHOTA, A. Effects Of Extremely Low Frequency Magnetic Field On The Parameters Of Oxidative Stress In Heart. **Journal Of Physiology And Pharmacology**, v.61, n.3, p.333 - 338. 2010.
16. HSU, S.-H.; CHANG, J.-C. The static magnetic field accelerates the osteogenic differentiation and mineralization of dental pulp cells. **Cytotechnology**, v.62, p.143 - 155. 2010.
17. JABERI, F. M. et al. A Moderate-Intensity Static Magnetic Field Enhances Repair of Cartilage Damage in Rabbits. **Archives of Medical Research**, v.42, p.268 - 273. 2011.
18. JING, D. et al. Effects of 180 mT Static Magnetic Fields on Diabetic Wound Healing in Rats. **Bioelectromagnetics**, v.31, p.640 - 648. 2010.
19. KIMBALL, G. C. The Growth of Yeast in a Magnetic Field. **Journal of Bacteriology**, v.35, n.2, p.109-122. 1937.
20. KNIGHTON, D. R.; SILVER, I.; HUNT, T. K. Regulation of wound-healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. **Surgery**, v.90, p.262 - 270. 1981.
21. KUMAR, V. et al. Renovação, Regeneração e Reparo dos Tecidos. In: _____. **Robbins & Cotran Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p.79 - 110
22. LEE, C.-H.; HUNG, Y.-C.; HUANG, G. S. Static magnetic field accelerates aging and development in nematode. **Communicative & Integrative Biology**, v.3, n.6, p.528 - 529. 2010.
23. MAYROVITZ, H. N.; GROSECLOSE, E. E. Effects of a static magnetic field of either polarity on skin microcirculation. **Microvascular Research**, v.69, p.24-27. 2005.
24. MCKAY, J. C.; PRATO, F. S.; THOMAS, A. W. A Literature Review: The Effects of Magnetic Field Exposure on Blood Flow and Blood Vessels in the Microvasculature. **Bioelectromagnetics** v.28, p.81-98. 2007.
25. MIYAKOSHI, J. Effects of static magnetic fields at the cellular level. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v.87, p.213-223. 2005.

26. MIYAKOSHI, J. The review of cellular effects of a static magnetic field. **Science and Technology of Advanced Materials**, v.7, p.305-307. 2006.
27. MORERA, E. A. et al. Campo magnético discontinuo en adultos con hipertensión arterial esencial. **Revista Cubana de Medicina General Integral**, v.19. 2003.
28. MORRIS, C. E.; SKALAK, T. C. Chronic static magnetic field exposure alters microvessel enlargement resulting from surgical intervention. **Journal of Applied Physiology**, v.103, p.629-636. 2007.
29. MORRIS, C. E.; SKALAK, T. C. Acute Exposure to a Moderate Strength Static Magnetic Field Reduces Edema Formation In Rats. **American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology**, v.294, n.1, p.50-57. 2008.
30. NURSAL, T. Z. et al. Effects of a static magnetic field on wound healing: results in experimental rat colon anastomoses. **The American Journal of Surgery**, v.192, p.76-81. 2006.
31. ÖCAL, I.; GÜNAY, I. The Effects of Chronic AC Magnetic Field on Contraction and Relaxation of Isolated Thoracic Aorta Rings of Healthy and Diabetic Rats **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n.5, p.733 - 738. 2004.
32. ÖCAL, I.; KALKAN, T.; GÜNAY, Í. Effects of Alternating Magnetic Field on the Metabolism of the Healthy and Diabetic Organisms **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, n.3, p.523-530. 2008.
33. OKANO, H.; OHKUBO, C. Anti-Pressor Effects of Whole Body Exposure to Static Magnetic Field on Pharmacologically Induced Hypertension in Conscious Rabbits. **Bioelectromagnetics**, v.24, p.139-147. 2003.
34. ÖZDEMİR, F. et al. Efficiency of Magnetic Field Treatment on Pressure Sores in Bedridden Patients. **Balkan Medical Journal**, v.28, p.274 - 278. 2011.
35. PACINI, S. et al. Effects of 0.2 T static magnetic field on human skin fibroblasts. **Cancer Detection and Prevention**, p.327 - 332. 2003.
36. PAZ, A. H. D.; DEBEN, M. G.; CEBALLOS, A. Q. Acción del Campo Magnético de Baja Frecuencia en la Cicatrización de la Piel. **Revista Cubana de Investigación Biomedica**, v.20, n.3, p.178-83. 2001.
37. RICHES, D. W. Macrophage involvement in wound repair, remodeling and fibrosis. In: Clark, R. a. F. **The molecular and cellular biology of wound repair**. New York: Plenum, v.2, 1996. p.143 - 168
38. SALINAS, U. S.; RODRIGUEZ, Y. E.; VIAMONTES, F. M. Uso de la magnetoterapia en afecciones articulares y periarticulares. **Revista Cubana de Ortopedia y Traumatología**, v.10, n.1. 1996.

39. SALINAS, U. S.; VIAMONTES, F. M. Campo magnético discontinuo a baja frecuencia en afecciones de la rodilla. **Revista Cubana de Ortopedia y Traumatología**, v.10, n.2. 1996.
40. SCHWENGBER, M. M. B. Reparo ósseo após enxerto ósseo autógeno e implante de hidroxiapatita absorvível granulada sob influência de campo magnético estático. Estudo experimental em calvária de ratos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009. 95 p.
41. SEGUNDO, A. S. et al. Effect of chronic stress on the repair os cutaneous wound in rats. **Journal of Dental Science**, v.24, n.2, p.140 - 143. 2009.
42. SINGER, A. J.; CLARK, R. A. F. Cutaneous wound healing. **The New England Journal of Medicine**, v.341, p.738-746. 1999.
43. SOBRINHO, S. I. et al. Uma alternativa mecânica com emprego de forças magnéticas para a desimpactação dentária. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v.11, n.1, p.28 - 36. 2006.
44. TIPLER, P. A.; MOSCA, G. O Campo Magnético. In: _____. **Física: para cientistas e engenheiros**. Rio de Janeiro: LTC, v.2, 2006. p.190 - 211
45. ULBRICH, L. M. Avaliação do Efeito de um Campo Magnético Permanente na Cicatrização Óssea em Fêmeas de Ratos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003. 95 p.
46. XU, S.; OKANO, H.; OHKUBO, C. Acute effects of whole-body exposure to static magnetic fields and 50-Hz electromagnetic fields on muscle microcirculation in anesthetized mice. **Bioelectrochemistry**, v.53, p.127-135. 2000.
47. XU, S. et al. Recovery Effects of a 180 mT Static Magnetic Field on Bone Mineral Density of Osteoporotic Lumbar Vertebrae in Ovariectomized Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2011.
48. YOUNG, H. D.; FREEDMAN, R. A. Campo Magnético e Forças Magnéticas. In: _____. **Física III : Eletromagnetismo**. São Paulo: Pearson, 2009. p.202-242