



**FERNANDO GILBERTO DE MELO COSTA**

**CARTILAGEM DE CRESCIMENTO**

**Estudo Experimental  
da  
Impedância  
e  
Estimulação por Corrente Eléctrica**

Dissertação de candidatura ao grau de Doutor  
apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade do Porto  
Porto, 1995

**CORPO CATEDRÁTICO**  
**DA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DO PORTO**

**Professores Catedráticos**

- Doutor José Fernando Barros Castro Correia
- Doutor Daniel dos Santos Pinto Serrão
- Doutor Amândio Gomes Sampaio Tavares
- Doutor António Carvalho Almeida Coimbra
- Doutor António Manuel Sampaio Araújo Teixeira
- Doutor Mário José Cerqueira Gomes Braga
- Doutor José Augusto Fleming Torrinha
- Doutor Joaquim Germano Pinto Machado Correia Silva
- Doutor Serafim Correia Pinto Guimarães
- Doutor José Manuel Gonçalves Pina Cabral
- Doutor Manuel Miranda Magalhães
- Doutor José Carvalho Oliveira
- Doutor António Alberto Falcão de Freitas
- Doutor António Fernandes Oliveira Barbosa Ribeiro Braga
- Doutor Valdemar Miguel Botelho Santos Cardoso
- Doutor Victor Manuel Oliveira Nogueira Faria
- Doutor António Augusto Lopes Vaz
- Doutor António Luís Tomé Rocha Ribeiro
- Doutor Levi Eugénio Ribeiro Guerra

- Doutor José Manuel Costa Mesquita Guimarães
- Doutor Celso Renato Paiva Rodrigues da Cruz
- Doutor Cândido Alves Hipólito Reis
- Doutor Alexandre Alberto Guerra Sousa Pinto
- Doutor Eduardo Jorge Cunha Rodrigues Pereira
- Doutor António Germano Pina Silva Leal
- Doutor Manuel Augusto Cardoso de Oliveira
- Doutor Norberto Teixeira Santos
- Doutor Manuel Maria Paula Barbosa
- Doutor Manuel Machado Rodrigues Gomes
- Doutora Maria Conceição Fernandes Marques Magalhães
- Doutor Carlos Rodrigo Magalhães Ramalhão
- Doutor Luís António Mota Prego C. Soares de Moura Pereira Leite
- Doutor José Vaz Saleiro e Silva
- Doutor Manuel Alberto Coimbra Sobrinho Simões
- Doutor Francisco José Zarco Carneiro Chaves
- Doutor Jorge Manuel Mergulhão Castro Tavares
- Doutora Maria Isabel Amorim de Azevedo
- Doutor Henrique José Ferreira Gonçalves Lecour de Menezes
- Doutora Maria Amélia Duarte Ferreira

## **Professores Jubilados e Aposentados**

- Doutor Albano dos Santos Pereira Ramos
- Doutor António Fernandes da Fonseca
- Doutor Carlos Ribeiro da Silva Lopes
- Doutor Fernando C. Cerqueira Magro Ferreira
- Doutor Francisco Sousa Lé
- Doutor João Silva Carvalho
- Doutor Joaquim José Monteiro Bastos
- Doutor Joaquim Oliveira Costa Maia
- Doutor José Pinto de Barros
- Doutor Júlio Machado de Sousa Vaz
- Doutor Manuel Teixeira Amarante Júnior

Artigo 48.º § 3º.- A Faculdade não responde  
pelas doutrinas expendidas na dissertação.

( Regulamento da Faculdade de Medicina do Porto  
29 de Janeiro de 1931 - Decreto nº 19 397)

**À Noémia  
e Tiago**

*" A todos Família e Amigos o agradecimento pela  
ajuda imprescindível neste trabalho"*

Ao Excelentíssimo Senhor Professor  
Doutor  
**CARLOS SAMPAIO PINTO DE LIMA**

*Homenagem póstuma de quem sempre o admirou como  
Mestre e Amigo*

Ao Excelentíssimo Senhor Professor  
Doutor  
**JOSÉ CARVALHO OLIVEIRA**

*Os agradecimentos sinceros do discípulo e amigo, pelo  
que significou neste trabalho a ajuda e estímulos recebidos.*

## ÍNDICE

|                                                                          | Pág. |
|--------------------------------------------------------------------------|------|
| INTRODUÇÃO .....                                                         | 17   |
| I. 1 - Revisão Bibliográfica.....                                        | 22   |
| 2 - Origem e Embriologia do Crescimento .....                            | 27   |
| 3 - Anatomia Microscópica da C. de Crescimento.....                      | 34   |
| 4 - Evolução da Cartilagem de Crescimento. ....                          | 48   |
| 5 - Estimulação do Crescimento .....                                     | 50   |
| 6 - Estudo da Velocidade Normal do Crescimento. ....                     | 61   |
| 7 - Os Campos Eléctricos e Electromagnéticos na Estimulação da C.C. .... | 64   |
| Corrente Alterna.....                                                    | 69   |
| Corrente Pulsátil.....                                                   | 70   |
| Campos Electromagnéticos .....                                           | 72   |
| Corrente Contínua .....                                                  | 74   |
| II. CONTRIBUIÇÃO PESSOAL.....                                            | 79   |
| 1 - Estudo da influência sobre a Cartilagem de Crescimento de:           |      |
| Furagens .....                                                           | 85   |
| Furagens + Silastic .....                                                | 90   |
| Furagens + Cobre e Constantan entrelaçados .....                         | 96   |
| Furagens + Cobre (fémur) e Constantan (tíbia) .....                      | 103  |
| Furagens + Eléctrodos ligados a pilhas de 1,5 v .....                    | 108  |
| Apreciação global dos resultados obtidos.....                            | 115  |
| 2 - Estudo experimental da Impedância da C.C. ....                       | 121  |
| 3 - Estudo da Estimulação Eléctrica da C.C. "in vivo" .....              | 132  |
| Grupo I 10 mA .....                                                      | 144  |
| Grupo II 15 mA .....                                                     | 148  |
| Grupo III 20 mA .....                                                    | 153  |
| Apreciação global dos resultados obtidos .....                           | 159  |
| III. CONCLUSÕES .....                                                    | 165  |
| BIBLIOGRAFIA .....                                                       | 171  |

## INTRODUÇÃO

Qual maravilhoso laboratório em constante transformação, a cartilagem de crescimento é sede de fenómenos que desde há muito interessam aos investigadores de todo o mundo, não só pelas possibilidades inesgotáveis do seu estudo, mas também pelo aliciante de abordar uma estrutura que por si só é responsável por um dos fenómenos mais atraentes do desenvolvimento humano. O CRESCIMENTO.

Também nós, a determinada altura nos sentimos atraídos pelo estudo desta estrutura, principalmente pela investigação dos mecanismos ou métodos que nos levassem a interferir directamente sobre o crescimento.

Assim, em 1982 e em colaboração com os Drs. Corte-Real, Lino Ferreira, Mesquita Montes e Vieira Coelho, iniciamos a preparação deste trabalho com base nos estudos de Chapchal e Zeldeinrust (1948), Wilson (1951, 1952, 1956, 1970), tendo começado por estudar a forma como determinados elementos, colocados em contacto com a Cartilagem de Crescimento, se tornavam agressivos para a mesma, influenciando ou não a sua actividade.

Assim nasceu este trabalho de investigação, que começando por utilizar técnicas de certo modo rudimentares, acabou por mobilizar meios e materiais, dos mais sofisticados dentro da Electrónica e da Física.

Efectuamos também, uma revisão bibliográfica e de conceitos, que tem lugar de interesse neste trabalho, já que não faria sentido falar de Cartilagem de Crescimento sem fazermos uma passagem sobre o que se pensa nos nossos dias, acerca da sua origem, evolução, bioquímica, percurso até ao tecido ósseo e controlo do crescimento.

Resumidamente estas são as razões que levaram ao trabalho que efectuamos e conseguimos levar a “bom porto”, cujo conteúdo, adiante passaremos a desenvolver.

Esta introdução, não poderia terminar sem aqui expressarmos o nosso mais sincero agradecimento a todos os que, por estímulo, ajuda ou exemplo, possibilitaram a realização deste trabalho.

Perdoar-nos-ão os nossos Mestres, se em primeiro lugar expressarmos a nossa gratidão e saudade a dois ilustres Ortopedistas já desaparecidos, cujo exemplo e estímulo, constituíram base importante na nossa dedicação à Ortopedia e a este trabalho de investigação: os Dr. Lino Ferreira e Prof. Carlos Lima.

Ao **Dr. Lino Ferreira** que tão precocemente nos deixou, devemos os primeiros passos na Ortopedia e o exemplo de Homem honesto, dedicado e sedento de conhecimentos, portador

de uma notável capacidade de trabalho. Ainda hoje, constitui para nós influência marcante, a sua especial dedicação à Ortopedia Infantil.

**Do Professor Doutor Carlos Lima**, a quem nos uniram sentimentos de admiração e respeito, recebemos não só o seu exemplo como sublime dedicação à causa da Ortopedia, mas também os ensinamentos e orientação académica, necessários à realização deste trabalho.

**Ao Sr. Professor Doutor José Oliveira**, Director do Serviço de Ortopedia do Hospital de S. João e Professor Catedrático de Ortopedia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, o nosso sincero agradecimento pelo estímulo, amizade e ensinamentos que dele sempre recebemos, os quais constituíram marco importante na nossa preparação.

**Ao Professor Doutor Daniel Serrão**, Catedrático de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, queremos agradecer as facilidades concedidas, pelo Serviço de Anatomia Patológica na realização deste trabalho. Também o nosso sincero agradecimento à **Dra. Maria Emília Teles**, pela colaboração prestada, na interpretação histológica e documentação fotográfica das nossas preparações. Sem a sua preciosa ajuda, não

teria sido possível a quantificação dos resultados da fase experimental.

**Ao Professor Doutor Trigo Cabral e Dr. Mário Menezes**, para além da sua amizade, queremos agradecer todo o estímulo, ensinamentos e ajuda pronta e desinteressada, bem como a crítica sempre construtiva, alicerçada numa grande capacidade de chefia.

**Aos Drs. Corte-Real, Mesquita Montes e Vieira Coelho**, os nossos agradecimentos, pelo seu estímulo e ajuda na primeira parte do trabalho de investigação que realizamos.

**Ao Departamento de Engenharia Electrotécnica da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto**, na pessoa do **Prof. Eng. Ventura**, os nossos agradecimentos pela sua disponibilidade e espírito de investigador, que o fez criar um dos mais pequenos estimuladores eléctricos de que há conhecimento e que constituiu um dos pontos altos do rigor científico da nossa investigação.

Sem a sua preciosa ajuda e dedicação, não teria sido possível a segunda e terceira parte do nosso trabalho.

**Aos nossos colegas do Serviço de Ortopedia**, agradecemos toda a ajuda recebida neste trabalho, não deixando contudo de fazer uma referência especial, com um misto de admiração

e respeito ao Dr. Asdrúbal Mendes, Prof. Luís de Almeida, Dr. Santos da Cunha, Dr. Acácio Carvalhais e Dr. Reinaldo Mesquita.

Aos Drs. Cid Teles, José Alves, José Figueiredo, Bessa da Silva, António Sampaio, João Nogueira, Pedro Lima, Rui Pinto, Rui Cardoso, Veiga Rodrigues e A. Mateus, pela sua amizade, apoio e estímulo durante os anos que convivemos na mesma equipa, o nosso sincero agradecimento.

À D. Maria João, secretária do nosso Serviço, os nossos agradecimentos, por toda a ajuda prestada.

Finalmente uma palavra de agradecimento a todo o pessoal Técnico dos Serviços de Anatomia Patológica, Radiologia e Cirurgia Experimental, da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, bem como aos Serviços Técnicos da Faculdade de Medicina Dentária, onde efectuamos os cortes micrométricos da Cartilagem de Crescimento, para preparações anatomo-patológicas.

A todos os que de uma forma ou de outra, anónima e desinteressadamente, contribuíram para a realização e bom êxito deste trabalho, os nossos sinceros agradecimentos.

## I PARTE

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### HISTÓRIA

*"Toda a história, tem um começo no mais simples dos conhecimentos"*

Foi através de uma simples observação, que Stephan Hales (1727), virou a página dos conhecimentos sobre o crescimento longitudinal dos ossos longos. Colocou duas agulhas metálicas na diáfise do metatarsiano de um galo e verificou que ao fim de dois meses, apesar do comprimento total do osso ter aumentado, a distância entre as agulhas se tinha mantido inalterada. Ou seja *"qualquer local"* entre cada agulha e a extremidade do osso, tinha sido o responsável pelo crescimento da mesmo.

Efectivamente, até ao século XVIII, a comunidade científica mundial desconhecia ou tinha conceitos errados sobre o mecanismo que regulava o crescimento ósseo. Com efeito apartir desta data, passou a considerar-se que os ossos longos cresciam através da *"deposição de osso"* nas suas extremidades.

Noutra linha de investigação estão os trabalhos de Duhamel du Morceau (1742) que, conferem papel importante à camada de revestimento do osso *"periósseo"*, quanto ao crescimento

longitudinal, afirmando que o mesmo se processa de forma idêntica ao das árvores.

Aliás Duhamel, não fez mais do que dar corpo às constatações de Belchier (1736). Este cirurgião inglês, achou estranha, a coloração avermelhada que tinham os ossos de uma costeleta de porco, que lhe fora servida em casa de um amigo, fabricante de tintas. Interrogando-se sobre o que poderia estar por trás daquele fenómeno, concluiu que o mesmo se devia ao facto dos animais serem alimentados com raízes de uma planta "madder", utilizada pelo seu amigo na confecção das tintas e cujo tom arroxeado se havia impregnado nos ossos.

Pegando nestes dados Duhamel, entre 1739 e 1742 faz uma série de experiências, mais tarde publicadas nas "Memoires de L' Academie Royal des Sciences", em que demonstra serem as partes coloridas pela planta, as que correspondiam ao osso em formação. Uma das suas descobertas mais notáveis, foi ter constatado que o osso agora formado, em alguns locais recobria como se de uma baínha se tratasse, aquele que era o osso mais antigo.

Daí, concluiu ser importante no crescimento, o papel desempenhado pela membrana de revestimento dos ossos o "periósseo". Com estes dados, não lhe foi difícil acreditar que os ossos longos, tal como uma árvore, aumentavam de volume à custa da deposição progressiva de camadas de osso novo, na sua superfície exterior.

Contudo, utilizando esta teoria, não se encontrava explicação para o aumento simultâneo da cavidade medular, o que levou Hunter, entre 1760 e 1770, a repetir as experiências de Hales

e Duhamel, no sentido de confirmar a localização nas extremidades, do crescimento longitudinal dos ossos longos. Utilizando também a "madder", verifica que o osso apresentava dois tipos de crescimento; um pelas extremidades e outro pela região diafisária.

Formula então a sua própria teoria, segundo a qual afirmava haver dois processos fundamentais para garantir o crescimento do osso.

***1º- a deposição de osso novo na diáfise dos ossos longos à custa do periósseo.***

***2º- a simultânea absorção de osso pré existente junto à cavidade medular por forma a esta também aumentar de volume.***

Contudo, apesar de aparentemente bem fundamentadas, estas teorias foram ainda em pleno século XVIII, contrariadas pelos trabalhos de Von Haller (1763), que pelo facto de encontrar no osso neo-formado grande quantidade de vasos sanguíneos, afirma serem os mesmos, por fenómenos de exsudação, os responsáveis pelo osso neo-formado cabendo ao periósseo apenas o papel de suporte dos vasos.

Já no século XIX, Fluorens entre 1841 e 1861, confirma uma vez mais as teorias de Hunter, fazendo um estudo do crescimento quer longitudinal quer transversal, através da implantação subperióssea de elementos metálicos. Publica os seus resultados e conclusões em 1892 sob o título de "*Recherches sur le développement des os et des dents*".

No início do século XX, Payton (1932), introduz pela primeira vez uma tabela, com a qual pretende estabelecer e quantificar as taxas de crescimento dos ossos longos.

O crescimento ósseo, continuou a despertar o interesse da comunidade científica até aos nossos dias, sendo de salientar os contributos de Brash (1934), que uma vez mais utiliza as propriedades corantes da "roxa" ou "madder", no estudo detalhado do crescimento, tanto dos ossos longos como dos do crânio.

Este autor fez vários ciclos de alimentação dos animais de experiência, com e sem as raízes da "madder", analisando as várias formas de crescimento, conforme os ossos estudados.

O conhecimento cada vez mais perfeito, de substâncias com capacidade de fixação ao osso, como as tetraciclinas e a violeta de alizarina (agora identificada como sendo o princípio activo da "madder"), de identificação fácil em preparações histológicas, levou aos trabalhos de Tapp (1966) e Hansson (1967), que utilizando as propriedades de fluorescência destas substâncias, deram contributo importante para a compreensão do fenómeno de crescimento.

A Muller (1858), se deve a primeira descrição, do ponto de vista microscópico, da morfologia do crescimento ósseo (ossificação encondral), dados mais tarde completados por Lacroix (1947) e Ham (1960).

Já nas décadas mais recentes, contribuíram de maneira decisiva para a compreensão do fenómeno do crescimento, os trabalhos de Trueta e Cols. (1953, 1957, 1958, 1960, 1961, 1963, 1975, com incidência especial para o estudo da sua vascularização),

Salter (1966), Pous e Dimeglio (1980) e Cañadell (1976, 1988) este, um dos mais acutilantes investigadores da actualidade sobre a matéria.

Longa é a lista dos que fizeram da Cartilagem de Crescimento a sua "*dama*", procurando cada vez mais o seu completo conhecimento e compreensão.

Seria injusto, não deixar de referir, mesmo que a título de simples nota, a contribuição de autores como Blount (1949), Langenskiöld (1949,1957,1967), Anderson (1962,1963, 1967), Ilizarov (1969,1981), Mineiro (1974) e tantos outros que pela sua perseverança, foram acrescentando pequenos "*nadas*" a tantos "*outros*", que condicionaram a totalidade de conhecimentos que hoje podemos usufruir sobre a Cartilagem de Crescimento.

Após esta breve passagem pela história dos primeiros conhecimentos científicos sobre o Crescimento e a Cartilagem de Crescimento, vamos debruçar-nos sobre outros aspectos não menos importantes para o estudo do fenómeno "*crescimento*".

A partir do momento em que se define como sendo a Cartilagem de Crescimento, o elemento fundamental do desenvolvimento do esqueleto, convém compreender os mecanismos que conduzem à sua formação, desde o seu esboço embrionário até à sua completa maturação.

## **ORIGEM E EMBRIOLOGIA DO CRESCIMENTO**

O desenvolvimento embrionário processa-se em três períodos:

**A - Ovular**

**B - Embrionário**

**C - Fetal**

### **Fase Ovular**

Tem início logo após a fertilização do óvulo e vai até ao fim das duas primeiras semanas de vida, durante as quais se dá a fixação do ovo ao endométrio. Esta unidade é constituída, do ponto de vista celular por embrioblastos (células precursoras do embrião) e por trofoblastos (células pré-placentárias), grupos celulares que se posicionam em pólos opostos.

Por volta do 14º dia o embrião humano (blastócito), tem cerca de 8mm e está implantado na mucosa uterina. Terá agora início o mais importante período do desenvolvimento esquelético.

### **Período embrionário**

Tem início pela 2ª semana após a fertilização, prolonga-se até por volta da 8ª semana. Nesta altura da maturação em-

brionária começam a desenvolver-se os ossos e articulações, através de sucessivas diferenciações tecidulares.

Estudos de Streeter (1942,1951), apontam para uma divisão muito mais pormenorizada deste período, chegando a dar como certa a existência de 23 estados diferentes.

Ao fim destas 8 semanas o embrião medirá entre 27 e 31mm.

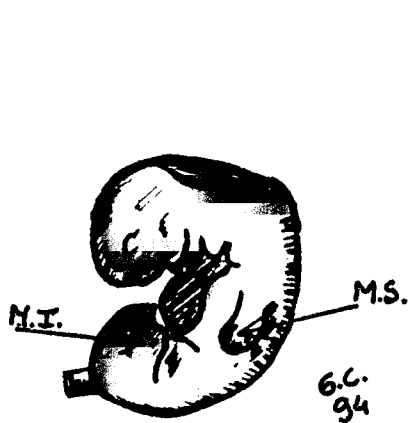


Fig 1 a



Fig 1 b

Pela 4ª semana aparecem os membros (Fig.1a). Constituídos por um eixo de células mesenquimatosas, que à custa de sucessivas segmentações, vão adquirindo a forma do osso longo correspondente, o que acontece pela 7ª semana (Fig. 1b).

O modelo cartilágneo de osso longo daí resultante, cresce por aposição a partir do pericôndrio, por multiplicação das células cartilagueas e aumento da matriz intercelular. Às 8 semanas,

temos pois uma estrutura bem diferenciada (Fig. 2), dando-se então início ao período Fetal.



Fig. 2

### **Período Fetal**

Vai desde as 8 semanas até ao fim da gravidez. Stryer (1971) afirma: *"o embrião transforma-se num feto quando os órgãos e estruturas relacionadas estão completamente formadas, modificando-se em tamanho e perfeição até ao fim da gravidez de uma forma sempre Gradual e Homogénea"*.

Assim, pelos 63 dias (9ª sem.), o feto apresenta já 35 a 45mm e à 11ª semana todas as estruturas adquiriram já a sua forma final.

Vamos agora, concentrar mais o nosso estudo sobre a forma como se desenvolve um osso longo e qual o papel da Cartilagem de Crescimento neste processo.

Segundo Juster (1971), Falkner (1966), Poirier (1977), o osso, a cartilagem, a fascia e o músculo, têm origem comum no mesênquima, tecido laxo e difuso que provém da mesoderme e que se encontra no embrião, entre a ectoderme e a endoderme (Lacroix, 1947,1951) e (Trueta. J. ,1963,1975).

A estrutura óssea propriamente dita, aparece por volta da 7ª semana de vida embrionária, como consequência da condensação das células mesenquimatosas, no interior do esboço dos membros e sob a forma de um cilindro.

Dois "*tipos*" de tecido ósseo se nos apresentam:

O tecido ósseo membranoso e o tecido ósseo cartilágneo. Estes dois tipos, provém de processos diferentes de formação.

**- Ossificação Membranosa**

**- Ossificação Encondral**

**1 - A Ossificação Membranosa** em que, sem qualquer formação tecidular intermediária, se dá a passagem do tecido ou condensação mesenquimatosa directamente a tecido ósseo.

Trata-se do tipo de ossificação responsável pelo aparecimento dos ossos "chatos", tais como a bacia, crânio, omoplata, etc.

**2 - A Ossificação Encondral** - é o processo essencial à formação do aparelho locomotor, nomeadamente dos ossos longos, sendo constituída por três fases perfeitamente distintas, desde a Condensação Mesenquimatosa até ao Tecido Ósseo, passando por uma fase intermediária Cartilagínea.

É aqui neste ponto de transição, que nos aparece a **CARTILAGEM DE CRESCIMENTO**, verdadeira estrutura de transição, fazendo a união entre o tecido cartilagíneo e o tecido ósseo.

Sendo ambos formados por células, fibras e substância fundamental, a sua grande diferença reside nesta última, em que os constituintes principais, no caso do tecido ósseo são os sais minerais, principalmente de fosfato de cálcio e no tecido cartilagíneo são os condromucoides e as glicoproteínas ricas em condroitino-sulfatos.

Formado que está o modelo cartilagíneo dos ossos longos, as células do seu centro diafisário hipertrofiam-se, iniciando um ciclo que termina com a ossificação, passando pela invasão vascular e calcificação, (Trueta J., 1953).

Esta sucessão, ou melhor a sua ordem, não reúne a unanimidade dos vários autores, pois enquanto para Shim (1968), a vascularização é o fenómeno que antecede a mineralização, para Juster (1971), passa-se exactamente o contrário, já que afirma ser a calcificação que precede a invasão vascular.

São contudo os trabalhos de Trueta (1953, 1963, 1975), que aparentemente reúnem mais consenso à sua volta.

Forma-se então, o **Centro Primário de Ossificação** - (médio-diafisário).

Daí, todo o processo avança para cada extremidade (a invasão vascular e ossificação encondral), dando lugar ao aparecimento de duas condro-epífises, cujo limite metafisário constitui a futura **Cartilagem de Crescimento Epifisária**.

Teremos assim em cada extremidade de um osso longo, dois tipos de Cartilagem de Crescimento;

**A) - de forma esférica** (c. epifisária), responsável pelo crescimento das epífises, organização da superfície articular e desenvolvimento dos núcleos de ossificação das apófises peri-epifisárias, (Solomon, 1966).

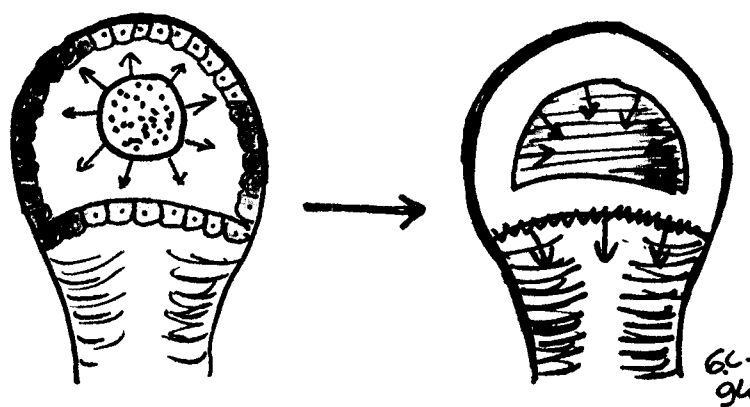


Fig. 3

Este núcleo de crescimento epifisário, que ao princípio se apresenta com um tipo de evolução esférica, passa depois

para a forma hemisférica, em cuja superfície se passa a fazer o crescimento, (Canadell, 1988) (Fig. 3), altura em que termina a participação da cartilagem de conjugação (C.C.) na evolução da epífise, (Blount, 1949) e (Phemister, 1933).

**B) - de forma discal** (c.conjugação ou cartilagem de crescimento), verdadeira "*máquina de crescimento longitudinal*", sem dúvida a melhor conhecida e a que foi objecto do nosso estudo, localizada do ponto de vista anatómico, entre o núcleo epifisário e a metáfise.

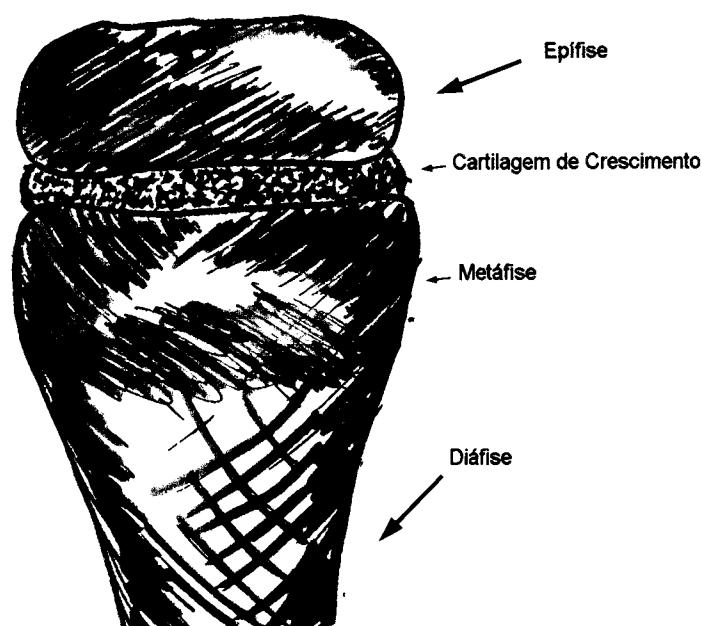


Fig. 4

Os ossos longos, têm em cada extremidade, uma epífise, uma cartilagem de crescimento e uma metáfise, dispostas por esta ordem no sentido extremidade / centro da diáfise (Fig. 4).

## ANATOMIA MICROSCÓPICA DA CARTILAGEM DE CRESCIMENTO

***Tecido conjuntivo, formado por células***, (condrócitos) **e *substância fundamental*** (rica em colagêneo, glicoproteínas e proteínoglicanos).

São estes últimos (proteínoglicanos), os responsáveis pelo sistema nutritivo "vascular" da C.C., pois as suas propriedades físico-químicas proporcionam a difusão necessária à subsistência, do ponto de vista vascular, da Cartilagem de Crescimento.

No estudo microscópico da C.C. e por uma opção didáctica, com a qual praticamente todos os autores coincidem, vamos descrever as várias zonas que a constituem, no sentido "*epífise-metáfise*", que por sua vez também corresponde ao desenvolvimento celular, no que respeita à maior diferenciação (Brigthon, 1978)

Do lado epifisário o limite da C.C. é uma zona denominada "*placa basal*", constituída por 4 a 8 estratos ou lamelas ósseas, atravessada por vasos sanguíneos procedentes da epífise que vão constituir parte do aporte vascular periférico da Cartilagem de Crescimento. Encontraremos pois, junto à zona epifisária, uma estrutura celular pouco diferenciada, sendo a maturação celular mais evoluída à medida que nos aproximamos da metáfise, até terminar no tecido ósseo neoformado.

Pelas suas diferenças funcionais e morfológicas, a espessura da Cartilagem de Crescimento, divide-se em 5 Zonas:

- 1 - Zona Germinativa
- 2 - Zona Proliferativa
- 3 - Zona Hipertrófica
- 4 - Zona Degenerativa
- 5 - Zona de Ossificação Encondral

Vamos passar a descrever com algum detalhe, as principais características das várias zonas, quanto à sua Anátomo-Fisiologia e interferência no processo de crescimento.

### 1 - Zona Germinativa

Também chamada **"zona de repouso"**, **"zona de reserva"** ou **"zona de células mãe"**.

Do ponto de vista fisiopatológico, poucas são as denominações que lhe assentam na perfeição, já que não definem com exactidão os fenómenos que aí se passam.

Uma vez que estamos a tratar do estudo microscópico da Cartilagem de Crescimento, talvez a denominação de **"zona de células pequenas"** seja a que melhor corresponde à evolução, que do ponto de vista celular, aí tem lugar.

Efectivamente, trata-se de uma zona constituída por pequenas células isoladas ou em grupos de duas ou três, (Trueta e Morgan, 1960), com núcleo pequeno e excêntricamente colocado. Estas células estão dispostas desordenadamente (Hall, 1965), numa substância intercelular abundante (é a zona da C.C. em que é maior a quantidade de substância intercelular), (Fig. 5).

Esta substância intercelular, é abundante mas pouco estruturada, com um teor em hidroxiprolina mais elevado do que em outras zonas, o que faria supor uma presença de fibras colagénicas significativa.

Tal facto no entanto, não se verifica sendo relativamente raras as fibras de colagénio maduras.

Quanto às suas funções, não há unanimidade de conceitos. Somos no entanto partidários, dos que afirmam corresponderem-lhe funções de produção e armazenamento dos componentes celulares da "zona proliferativa"; a) - substância intercelular (Duthie, 1955) e b) - células cartilagíneas "condrócitos", (Copenhauer, 1969).

Alguns autores (Pous e Cols. 1980) demonstraram, utilizando a timidina tritiada que havia, embora que a um ritmo lento, actividade mitótica "In vitro" e que a mesma aumentava com a administração de hormona do crescimento. Outros no entanto como Kember (1960), afirmam que o facto da zona germinativa ser atravessada por vasos sanguíneos sem colaterais, condiciona uma baixa de tensão de oxigénio com consequente ausência de mitoses.

Para estes autores as verdadeiras células germinativas estariam na zona seriada.

Efectivamente, do ponto de vista vascular, a zona germinativa apenas é atravessada por vasos sanguíneos que, vindos da zona epifisária, vão nutrir a camada proliferativa, não dando como acima referimos quaisquer colaterais a este nível.

Quando efectuamos o exame ultraestrutural da Zona Germinativa, o mesmo revela-nos um retículo endoplasmático granulado, abundante e de importância capital para a síntese proteica.

Encontramos também, uma percentagem superior de inclusões lipídicas e vacúolos, em relação às outras zonas, sendo por outro lado reduzida a presença do Aparelho de Golgi.

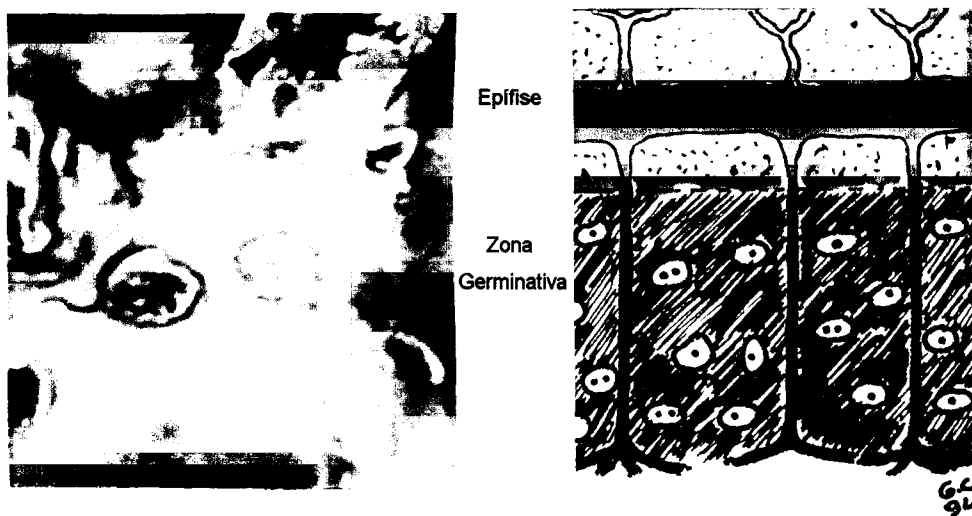


Fig. 5 - Zona Germinativa

Não é também abundante a presença de mitocôndrias e lisosomas. Das expansões citoplasmáticas celulares, golgi-

anas, destacam-se por vezes vacúolos com conteúdo osmófilo, traduzindo no fundo a secreção de proteínoglicanos.

À medida que o crescimento se vai fazendo (crescimento ponderal), a espessura da zona germinativa vai diminuindo, (Hall, 1965).

## 2 - Zona Proliferativa

Também chamada Zona seriada, é sede de uma intensa actividade celular. Situa-se entre a camada ou zona germinativa e a zona das células hipertróficas.

Aqui se produz verdadeiramente o alongamento ósseo.

Corresponde-lhe portanto, a produção matricial e proliferação celular, que no seu conjunto significam, "*crescimento longitudinal*".

Em tamanho "*altura*" é maior que a camada anterior, constituindo as duas juntas quase metade da altura total da placa epifisária, (Trueta, 1960).

Toda esta actividade metabólica, só é possível pelo excelente aporte sanguíneo local, dado pelos vasos epifisários que atravessando a zona anterior sem colaterais (Fig. 5), "inundam" as primeiras células desta camada proporcionando um alto teor em PO<sub>2</sub> local, (Brighton, 1971).

A disposição é feita, caracteristicamente, em colu-

nas de 10 a 20 células, conforme a actividade mitótica do momento, (Trueta, 1960), (Fig. 6).

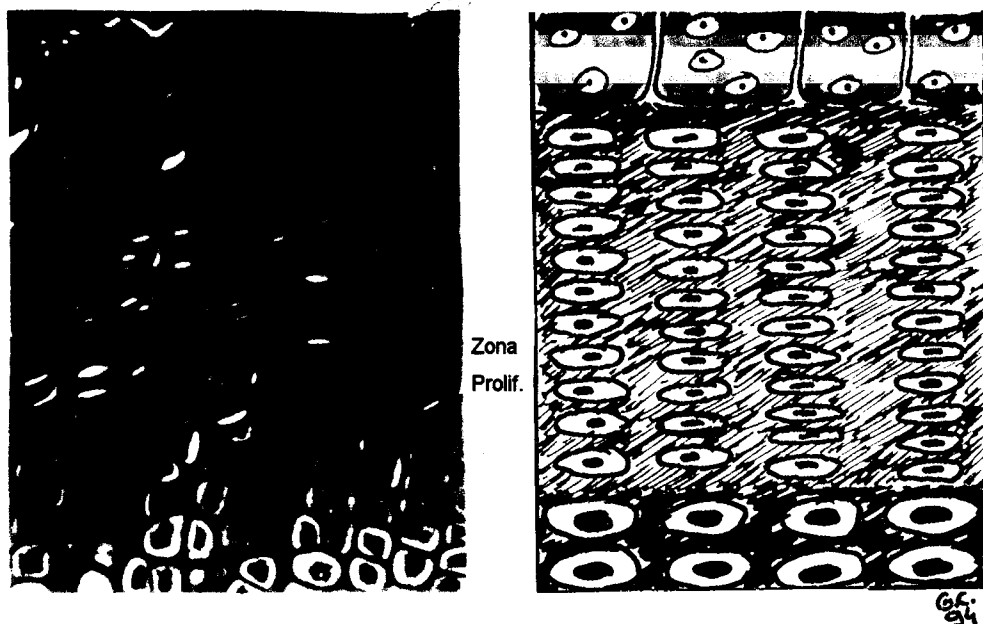


Fig. 6 - Zona Proliferativa

Este trabalho de Trueta e Morgan, é uma das bases da investigação que efectuamos, já que ficou nele demonstrado, que há uma relação segura entre o número de células da camada proliferativa e a actividade ou fertilidade da Cartilagem de Crescimento.

Passando à análise ultraestrutural desta camada, concluímos serem as suas células, portadoras de uma "central" energética muito evoluída.

O seu teor em glicogénio é mais elevado e possuem maior quantidade de mitocôndrias, do que as da camada germinativa. Quanto ao seu retículo endoplasmático, este é rugoso e

muito desenvolvido. O aparelho de Golgi, é bem diferenciado, colocando-se numa característica posição justanuclear.

Por todo o citoplasma, aparecem numerosos vacúolos com 500 a 1100 Å de diâmetro, contendo granulações osmófilas densas, que correspondem a proteínoglicanos.

Do ponto de vista do crescimento ósseo, talvez se possa considerar, como o fenómeno mais característico desta zona, a sua grande actividade mitótica. Esta faz-se no plano perpendicular (pelas colunas de células), individualmente e não de forma síncrona com as outras colunas, (Fig. 7).



Fig. 7

A actividade mitótica de cada coluna, está relacionada com a da última célula que lhe corresponde na camada germinativa; assim, quando esta está em mitose, toda a coluna está em repouso, (Rigal, 1961).

A maturação dos condrócitos é síncrona com uma diferenciação da substância intercelular, tornando-se mais abundantes as fibras de colagénio, que tomam a direcção das colunas de células.

Entre as fibras de colagénio, há múltiplas vesículas de conteúdo osmótico, que traduzem a presença dos proteínoglicanos, cuja função, para além de permitir a difusão dos elementos nutritivos, é ainda de protecção do colagénio, de tal modo que a degradação do mesmo só é possível depois do catabolismo dos proteínoglicanos, operado pelas enzimas lisosómicas.

### **3 - Zona Hipertrófica**

*Tem como função a preparação da matriz para a calcificação.*

As suas células, mantendo a disposição colunar, vão aumentando de volume à medida que se aproximam da região metafisária, com consequente diminuição da substância intercelular (Fig. 8).

No seu interior (das células), as mitocôndrias vão também aumentando em número, à medida que nos vamos aproximando da zona degenerativa, com inúmeras granulações osmófilas de origem cálcica, tornando-se os núcleos picnóticos.

Caracteristicamente, a vascularização vai diminuindo à medida que nos aproximamos da zona metafisária, com consequente diminuição da taxa de PO<sub>2</sub>, condicionando desde a camada

anterior, a passagem de um tipo de respiração aeróbia, para anaeróbia, (Brighton, 1971).

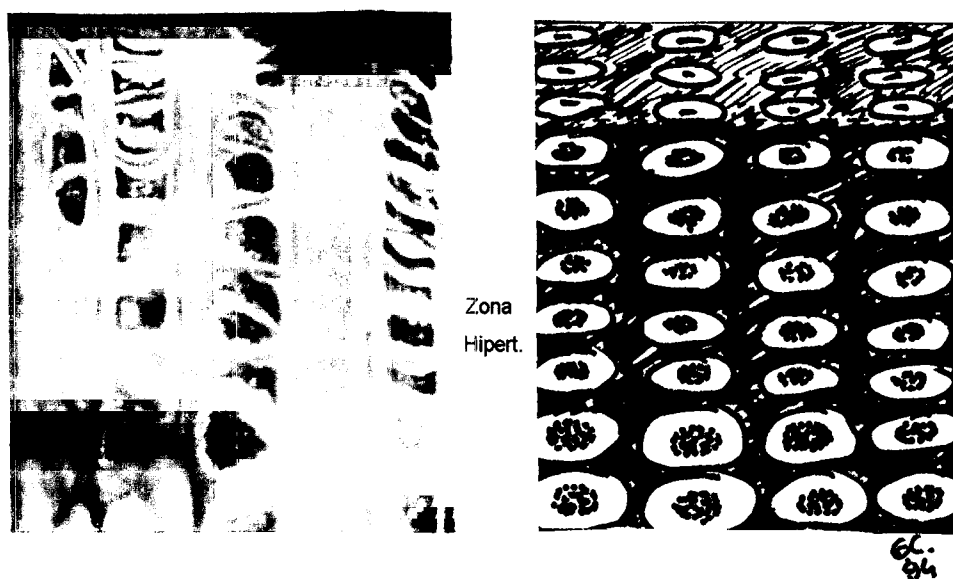


Fig. 8 - Zona Hipertrófica

Por sua vez, vai diminuindo a percentagem de concentração de glicogénio celular, acompanhada da progressiva degradação dos proteínoglicanos, com a passagem dos mucopolissacarídeos de neutros a ácidos, de forma a permitirem a calcificação.

O número de células que constituem cada camada varia entre 4 e 10 com tamanhos de 25 a 30  $\mu$ .

Quanto à substância intercelular, já atrás dissemos que é em menor quantidade que nas camadas precedentes, (60% de células e 40% de substância intercelular), tendo as suas fibras de colagénio uma orientação paralela, constituindo verdadeiros septos longitudinais.

Aí, vamos encontrar as chamadas "vesículas matriciais" e os lisosomas, ambos com papel preponderante no processo de calcificação.

Autores há como Thyberg e Frieberg (1978), que consideram não haver distinção entre vesículas matriciais e lisosomas. Ao estudarem a degenerescência dos condrócitos, concluíram que os lisosomas dariam origem às vesículas matriciais Tipo I, enquanto que os fragmentos citoplasmáticos das mesmas células, constituiriam as Tipo II.

Parece-nos no entanto, não serem muito fiáveis estas teorias, pois a serem verdadeiras, corresponderiam a entidades com diminuta actividade bioquímica, já que seriam um produto de degradação celular.

Ora tal não acontece, pois para além de terem uma grande riqueza em fosfolipídeos, revelam fenómenos metabólicos muito activos e rápidos, quando estudadas no que respeita à capacidade de incorporação de P 32 (fósforo marcado), (Wuthier e Cols. 1977).

São também visíveis nesta zona sais de cálcio, na forma de cristais de hidroxiapatite, longitudinalmente dispostos nos septos intercelulares e no interior das vesículas matriciais.

#### **4 - Zona Degenerativa**

De difícil delimitação, com um número de células por camada variando entre 1 e 4, (Fig.9).

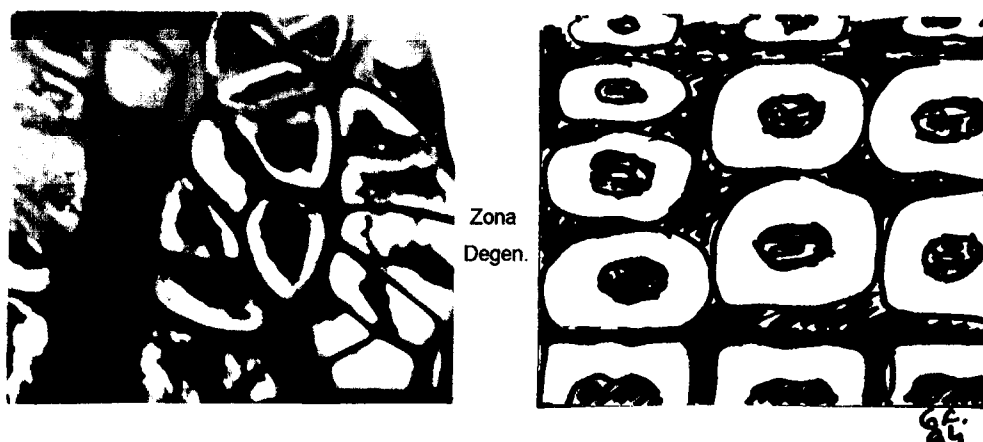


Fig. 9 - Zona Degenerativa

Completa-se a calcificação dos septos intercelulares, quer longitudinais quer transversais. A degenerescência celular iniciada na camada anterior, fica agora completa, com a fragmentação do núcleo e rotura da membrana citoplasmática, libertando-se todos os constituintes celulares, incluindo numerosas vesículas matriciais.

Todo o processo de degradação celular se vai completando com a intervenção das enzimas lisosómicas.

Esta camada acaba por ser caracterizada apenas por critérios morfológicos, pois como facilmente se compreende, não há aqui actividade própria.

## 5 - Zona de Ossificação Encondral

Trata-se de uma verdadeira zona de transição, levantando inclusivamente problemas, quanto ao local em que deve

ser inserida, se como uma zona integrante da Cartilagem de Crescimento, ou fazendo parte da metáfise.

Caracteristicamente, a parte metafisária da zona anterior, como atrás se referiu, é pouco uniforme apresentando umas zonas degeneradas, outras calcificadas e ainda pontos onde se pode já observar alguma ossificação.

Do ponto de vista da sua delimitação, serão talvez as zonas de invasão vascular, aquelas que com mais propriedade separam as zonas consideradas como pertencendo à cartilagem de crescimento ou à metáfise.

Este limite foi estabelecido através dos trabalhos de Robison e Camerom (1956), considerando ser a zona calcificada, como subdividida em duas, sendo uma a que está a sofrer o processo de calcificação e outra a que já se encontra calcificada, separadas como atrás dissemos pela zona de invasão vascular.

Do ponto de vista estrutural, encontramos já sinais de calcificação nas últimas células da camada hipertrófica.

Trata-se contudo de calcificação apenas da substância fundamental intercolunar e não das células cartilagíneas propriamente ditas.

A compreensão do último fenómeno da calcificação, passa pelo conhecimento da estrutura microscópica desta última camada da Cartilagem de Crescimento, (Fig.10).

Assim, na considerada zona de invasão vascular, os capilares vindos da metáfise, apresentam algumas diferenças em relação a outros de distintas regiões. Devido à ausência da membrana basal e ao facto das células endoteliais estarem pouco inter-

ligadas, é possível a extravasão de plasma e outros componentes sanguíneos.

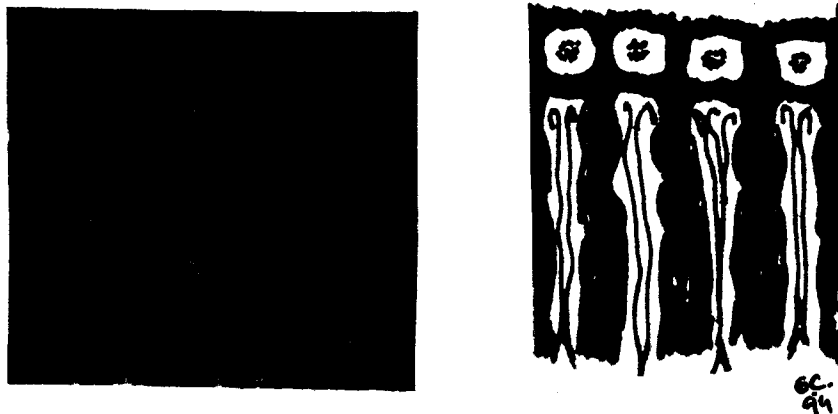


Fig. 10 - Zona de Ossificação Encondral

Entre estes, os Osteoblastos, vão agrupar-se ocupando os restos dos septos longitudinais calcificados, constituindo como que um tecido osteoide de cobertura, a que chamamos **Camada Esponjosa Primária**.

Apartir daqui, quer por acção das enzimas sanguíneas, quer por interferência de células multinucleadas (os osteoclastos macrófagos), vai iniciar-se o processo de reabsorção do que resta da matriz cartilágnea calcificada, que vai conduzir à formação da **Camada Esponjosa Secundária**.

Esta camada é constituída por um tecido ósseo com uma estrutura fibrilar desordenada, terminando este ciclo com a

substituição progressiva deste "Tecido Ósseo Fibrilar", por um outro com uma estrutura mais rica, o **Tecido Ósseo Lamelar**.



Fig. 11 - "Osso Lamelar"

Aqui e agora, o "osso lamelar" passa a ser estruturado, de modo que a matriz colagénica elaborada pelos osteoblastos, seja constituída por fibras regulares de igual espessura e dispostas em camadas sucessivas, (Fig.11).

## A EVOLUÇÃO DA CARTILAGEM DE CRESCIMENTO

A Cartilagem de Crescimento termina a sua actividade no fim do período da evolução ponderal, traduzindo-se este estado pela sua atrofia progressiva, com a desorganização das diferentes camadas.

Na camada germinativa diminui o número de células, perde-se a disposição colunar da camada seriada, rareiam as células hipertróficas e por último termina o processo de mineralização da substância intercelular, dando lugar ao aparecimento de uma "placa" de encerramento da Cartilagem de Crescimento.

Em simultâneo com todo este processo, dá-se a invasão vascular da C.C. por capilares vindos da metáfise que anastomosando-se com os seus correspondentes epifisários, promovem junto do seu ponto de contacto a formação de um tecido ósseo, levando a uma verdadeira epifisiodése fisiológica.

Podemos constatar este fenómeno, sob o ponto de vista macroscópico, observando numa radiografia de um adoles-

cente no fim do crescimento, uma linha mais densa atravessando longitudinalmente a zona, que corresponderia à transição entre a epífise e a metáfise (Fig. 12).



Fig.12

Terminado o crescimento, a C. C. vai diminuindo de espessura, ocorrendo então as seguintes alterações celulares:

1º- Diminuição do nº de condrócitos celuloprodutores que passam a organizar-se em pirâmides e não em colunas.

2º- Rareiam as células hipertróficas, bem como o número de novas trabéculas.

Todo este caminho desde o aparecimento até ao terminar de funções da Cartilagem de Crescimento, levou vários autores a tentar não só encontrar formas de aumentar a sua capa-

cidade produtiva, mas também a determinar quais os factores que poderiam influenciar esse mesmo processo, de forma positiva ou negativa.

## ESTIMULAÇÃO DO CRESCIMENTO

### Estudos experimentais

Se bem que Stephan Hales (1727), seja o pioneiro no estudo do Crescimento, é nos trabalhos que realizou em conjunto com Duhamel (1739), que estabelece a primeira teoria sobre a forma como decorre o desenvolvimento ponderal. Assim, de acordo com as suas experiências, atribuem ao **periósseo** o papel mais importante no crescimento. Esta teoria desenvolve uma hipótese já anteriormente equacionada por Belchier, (1736).

Até 1750, acreditava-se que o crescimento se efectuava através de um processo idêntico ao das árvores, ou seja com a deposição de osso novo em que interviria apenas o periósseo, promovendo a deposição sucessiva das várias camadas.

É Hunter que entre 1760 e 1770, após repetir os trabalhos dos autores atrás citados, estabelece então a hipótese (aceite em 1800), de que para além do crescimento periostal, **os ossos longos também cresciam pelas extremidades.**

Desde então vários autores centraram o seu estudo nessa zona, sendo de salientar, como atrás citamos nas referências históricas, os trabalhos de Flourens, publicados em 1892, sobre a relação entre o desenvolvimento ósseo e a actividade da Cartilagem de Crescimento e os que Ollier publica em 1867, sobre a regeneração e produção de tecido ósseo.

Vários foram os processos e métodos utilizados ao longo dos tempos, para tentar interferir sobre o crescimento, nomeadamente procurando encontrar formas de o acelerar.

Da enorme variedade de meios utilizados, passamos a descrever, aqueles que do ponto de vista do rigor científico, nos pareceram de maior relevância. Assim, por esta ordem, vamos referir os efeitos da Radiação Ionizante, Calor, Alterações Circulatórias, Forças de Compressão/Distracção e "Contacto" com Corpos Estranhos.

## RX

Procurou-se encontrar a influência da radiação ionizante sobre o crescimento.

Baunach em 1935, estabelece a existência de uma relação entre a radiação e as alterações do crescimento.

É contudo Hinkel (1943) quem, com um trabalho notável, apesar da relativa falta de meios para a época, estabelece as relações entre a quantidade de Radiação e o seu efeito sobre a Cartilagem de Crescimento.

Assim, constatou que pequenas doses de radiação estimulavam o crescimento, enquanto que o aumento das mesmas o retardava, havendo mesmo necrose celular, a partir de determinados limites. Para o mesmo valor da dose de radiação, as alterações encontradas variavam na razão inversa da idade dos animais de experiência.

Estes dados foram confirmados posteriormente por Langenskiold & Edgren (1949), Rubins e cols. (1959), Philips e Kimmeldorf (1966), Arguelles e cols. (1975) e mais recentemente por Cañadell (1988), que estabeleceu o valor de 1000 rads como dose mínima para obter modificações na Cartilagem de Crescimento.

A influência da radiação sobre a estrutura celular, nomeadamente no sentido de conseguir a necrose da mesma, foi posteriormente aproveitada, para tentar obter a paragem de crescimento de determinados tumores, Heikel (1960), Sagerman RH (1975), Suit HD (1975), Kalnicki (1989) e Budach e cols (1990).

## CALOR

Richards e Stofer (1959), descrevem as alterações conseguidas no sentido do estímulo do crescimento, com o aumento da temperatura local, utilizando e desenvolvendo para o efeito os conceitos adiantados alguns anos antes por Bertrand e Trillat (1948) e Wise e Cols. (1949).

Mais tarde Doyle e Smart (1963), após uma série in-

interessante de experimentações, afirmam ser o aumento do fluxo sanguíneo provocado pelo aumento de temperatura local, que vai condicionar as alterações de crescimento observadas.

Em 1976, Cañadell, utilizando raios infravermelhos, provoca hiperemia de zonas de crescimento, conseguindo assim resultados idênticos aos de outros métodos, empregando o calor local.

Curiosamente, no sentido inverso, estão os estudos de Bierens-de-Haan e Cols. (1986), que estudando agora os efeitos da diminuição de temperatura sobre a Cartilagem de Crescimento, concluem ser a mesma influenciada negativamente, traduzindo-se esse processo do ponto de vista histológico, pela necrose celular dos condrócitos.

### **DESPERIOSTIZAÇÃO**

Ainda no século passado, Ollier (1876), demonstrou em coelhos, que a desperiostização justa epífisária, provocava aumentos de crescimento da ordem dos 2 a 5 mm ao fim de 3 meses.

Posteriormente, numerosos investigadores confirmaram estes dados, Wu e Miltner (1937), Lacroix (1947), Bertrand e Trillat (1948), Zanolli (1949) e Brodin (1955), sendo de referir a unanimidade obtida acerca de dois pontos fundamentais, com a curiosidade de um deles, ser mesmo aparentemente controverso; é que concluíram estes autores que a desperiostização proximal da tíbia, condicionava um acelerar de crescimento na placa epifisária

distal, e uma diminuição de actividade na C.C. proximal, sendo que o acelerar do crescimento era inversamente proporcional à duração da experiência.

Em 1959, Taillard publica uma série de bons resultados obtidos com a desperiostização em animais e avança para a tentativa de resolver encurtamentos da ordem dos 2,5 a 6 cm em crianças. São operadas 10 crianças com idades compreendidas entre os 10 e os 14 anos, com uma desperiostização simples e a sua evolução seguida ao longo de 5 anos. Este estudo, confirmou que a estimulação tentada por este método, era temporária e apenas suficiente para vencer diferenças de comprimento inferiores a 2 ou 3 cm.

Com algum interesse, é de referir as tentativas frustradas, de através de uma segunda desperiostização conseguir um aumento do estímulo de crescimento, efectuadas por Solá (1963) e Cañadell (1976), referindo este último um número elevado de fracturas patológicas nos animais de experiência em que foi efectuada uma segunda desperiostização.

Confirmações posteriores destes dados foram adiantadas por Crilly (1972), Harkness (1978) e Canadell (1988), sobretudo este último, com experiências em animais, em que obtem crescimentos da ordem 2,5 mm em média, efectuando também um trabalho de índole clínica, em que os resultados não foram além dos 12 mm de aumento de comprimento.

Ainda em 1988, um interessante trabalho da escola Holandesa, tendo como autores, Kuijpers e Cols, estabelece com muita precisão, a relação existente entre vários tipos de despe-

riostização, e a influência que os mesmos têm sobre o crescimento. Para estes autores, ambas as C.C. proximais e distais à zona de interferência sobre o periósseo, são influenciadas positivamente, não dependendo da fase de maturação da C.C. ou do tipo de alterações vasculares provocadas pela desperiostização. Estes conceitos, mantêm ainda hoje toda a sua actualidade.

## ALTERAÇÕES CIRCULATÓRIAS

### 1 - Estase venosa

Em 1906, Bier publica uma monografia, referindo que *"a estase venosa de uma extremidade, reflete-se profundamente na cavidade medular e frequentemente dá lugar a um aumento de comprimento ósseo"*. De notar, que estes dados foram obtidos em doentes seus com poliomielite. Este autor, utilizava um garrote na raiz da coxa que alternadamente e com o auxílio de uma banda elástica, provocava por períodos limitados, estase e isquemia. Por este método, o autor conseguiu aumentos de comprimento da ordem dos 2,5 cm. Esta é, a primeira referência importante, à influência da estase venosa no crescimento ósseo.

Mais tarde, os fenómenos relacionados com as alterações provocadas pela estase venosa, foram estudados por Haas (1917), Borel (1922), Pearse e Morton (1930), Servelle (1948), Hutchinson e Burdeaux (1954).

Mais recentemente, Cañadell (1988), repete estas experiências, sem contudo conseguir mais do que 1 cm em média de aumento de comprimento.

A credibilidade que nos merece este último autor, sugere que o método não será assim tão eficaz quanto o fizeram querer outros investigadores.

## **2 - Criação de fístulas artério-venosas**

Há mais de um século, Broca (1856), refere o aumento de crescimento do fémur e tibia de uma criança, que era portadora de uma fístula artério-venosa, logo abaixo do ligamento inguinal.

Observações similares, foram avançadas por Horton (1932), Harris e Macdonald (1936) e Birnstingl (1962). Em 1950, James e Musgrove, através da criação de fístulas artério-venosas em cães, que mantinham em funcionamento durante 3 a 15 meses, concluíram, pelo aumento inequívoco do crescimento longitudinal, distalmente ao local da fístula. Durante 10 anos, autores seguiram este método, tendo publicado em 1961 as suas conclusões.

Mais tarde Kelly, juntamente com Weinman e Owen (1964), estuda o fluxo sanguíneo aos vários níveis do membro inferior em cães jovens, daí partindo para a relação entre este e o aumento de comprimento conseguido.

## FORÇAS DE COMPRESSÃO / DISTRACÇÃO

### Forças de Compressão

As forças de compressão e distracção aplicadas sobre a C.C., foram primeiramente estudadas por Hueter e Volkmann (1862), que elaboraram a sua "lei" segundo a qual a "compressão e distracção" sobre a C.C. correspondiam respectivamente "*paragem ou aceleração*" da sua actividade. Estes autores, não fizeram mais do que explorar do ponto de vista científico, as ideias de Delpech, que já em 1829, descrevia o caso de uma rapariga que apresentava uma deformidade em varo do tornozelo, acompanhada de obliquidade da superfície inferior da tíbia, considerando ele, que esta última deformidade teria origem no aumento de pressão sobre a parte medial da C.C., como consequência da deformidade em varo. Da mesma opinião era Ollier (1867).

Em 1892, Wolff, baralha um pouco estes dados pois afirma, que tanto a compressão como a distracção, estimulavam o crescimento.

Estudos posteriores de Muller W. (1928), Haas (1945), Gerbke (1951), Arkin (1956) e Siffert (1956), comprovaram a "lei" de Heuter e Volkmann, tendo este último utilizado em coelhos, fixações metálicas de ambos os lados da C.C., para travar o crescimento. Parece no entanto ter sido Haas (1945), quem pela primeira vez aplicou este método no homem, na tentativa de corrigir uma dismetria.

Quem no entanto mais desenvolveu este método na sua aplicação clínica, foi Blount (1949,1952), tentando e de certa forma conseguindo controlar desvios angulares, através da frenagem de um dos lados da C.C. permitindo o crescimento do lado oposto. No fundo trata-se de uma constatação prática da "lei de Delpech" (1829).

Trueta (1961), Salter e Harris (1966), Pous (1978), Cañadell (1978), Siffer (1956,1987), criaram modelos mais aperfeiçoados, quer no que respeita à estimulação quer à quantificação dos seus resultados.

Mais recentemente, Klein (1986,1987), estuda a influência das forças de compressão, no mecanismo de calcificação da C.C., comparando o método de compressão contínua, com as compressões cíclicas, concluindo serem mais favoráveis os resultados obtidos com estas últimas.

### **Forças de Distracção**

A aplicação de forças distractivas teve o seu início com os estudos de Dale (1958) e Ring (1958), considerados como os pioneiros na investigação dos efeitos que as mesmas têm sobre a C.C. e tiveram continuidade com Marsh (1961), Hert (1969), Eydelshtey (1973), Fishbane (1978) e Sledge (1978).

Letts, em 1978 utiliza um fixador externo em distracção, aplicado à epífise, conseguindo alongamentos da ordem dos 1,10 cm, mas com destruição dos componentes celulares da Car-

tilagem de Crescimento. Utilizando este e outros métodos, são de referir os trabalhos de Monticelli (1981), Connolly (1979,1982,1986), Cañadell (1985), Olerud (1986), Bastiani (1986) e Pablos (1986).

Cañadell (1988), comprovou isto mesmo de forma inequívoca, fazendo as suas experiências em ovelhas e concluindo ser a distracção da C.C. um método útil, que funciona morfológicamente à custa de conseguir uma verdadeira fractura da C.C. (transversal) e que a mesma, se for efectuada de uma forma lenta e progressiva, não causará deformação plástica ao nível da C.C.. A viabilidade futura da C.C. está inversamente relacionada com a velocidade do alongamento.

Mais recentemente, autores como Peltonen (1988, 1989) Pablos (1990), Kenwright e Kershaw (1990), Alberty (1990, 1993), para além de estudarem as influências das forças de distracção, sobre a Cartilagem de Crescimento, foram mais longe nas suas investigações, procurando estabelecer a relação entre o efeito imediato dessas mesmas forças e a repercussão sobre o futuro da placa epifisária, quer no que respeita ao encerramento da sua actividade, quer quanto à "quantidade" dessa mesma actividade.

Pelo seu rigor científico e pelo contributo que trouxe a esta questão, será de referir o excelente trabalho de Terje O. Fjeld e Cols. (1990), segundo o qual, em todos os animais sujeitos a alongamentos por distracção epifisária, as cartilagens de crescimento envolvidas, apresentavam redução de altura e "encerravam" mais precocemente quando comparadas com as não estimuladas.

Tratam-se no entanto de dúvidas ainda não completamente esclarecidas, pelo que é ainda hoje um assunto que desperta o interesse dos investigadores.

### **COLOCAÇÃO DE CORPOS ESTRANHOS JUNTO DA C.C.**

Tentativas foram efectuadas, com materiais que provocavam quer reacções tipo "corpo estranho", quer conferiam a sua influência através de estímulos bioeléctricos.

É considerado como pioneiro nesta linha de investigação, Langenbeck que em 1869, tenta estimular o crescimento do membro inferior de um cão com 8 semanas, fazendo a introdução de pequenas cavilhas de marfim no fémur e tibia, que iriam condicionar o aparecimento de um quadro de osteomielite crónica, funcionando os fragmentos de marfim como sequestros. Este autor, afirma ter conseguido por este método, aumentos de 1cm em períodos de três meses e meio.

Estão nesta linha, os trabalhos de Haas (1950), que introduz diferentes metais nas áreas justa epifisárias, Chapchal e Zeldenrust (1948) e Wilson (1951,1952,1956,1970), este último utilizando vários materiais como, cobre, aço, ferro, etc, procurando também apartir daí, obter alterações do crescimento.

Foram mesmo os trabalhos de Wilson, que acabaram por constituir a fonte de inspiração para o nosso trabalho de investigação, que embora de uma forma modesta, pretende dar um

contributo, ao estudo de factores, que de uma forma ou de outra podem ter influência no Crescimento e Desenvolvimento do Homem.

No fundo, tratou-se de um caminho árduo e complicado para tentar desvendar os mistérios dessa tão maravilhosa "*Fábrica de Sonhos*" que é a estrutura da Cartilagem de Crescimento.

De referir ainda no presente século autores como Phemister (1933), Blount (1949), Trueta (1960), Salter e Harris (1963) e mais recentemente Pous (1980) e Cañadell (1988), que deram extraordinário avanço ao conhecimento da estrutura, evolução e dinâmica da cartilagem de crescimento, quando estimulada pelos mais variados métodos.

## **ESTUDO DA VELOCIDADE NORMAL DO CRESCIMENTO**

Foi essencial para todos os estudos posteriores, a determinação de qual a velocidade de crescimento normal do homem, quer no espaço quer no tempo.

Dado toda a experimentação "in vivo" sobre esta matéria, utilizar numa primeira fase animais de laboratório, nomeadamente coelhos, foram de extraordinária importância as investigações no sentido de estudar a velocidade de crescimento desses animais.

São neste campo importantes as contribuições de Henrik, V.A. (1958), que estuda em coelhos, a velocidade de crescimento de alguns ossos, conseguindo estabelecer uma correlação considerada como válida para o homem.

Também Tresserra (1964), estuda as alterações musculoligamentares que ocorrem durante o crescimento do coelho e mais recentemente Cañadell (1988), estabelece mesmo padrões bem definidos sobre a correlação existente entre o crescimento do coelho doméstico e o homem, os quais constituíram ponto importante de partida para todo o trabalho de investigação que realizamos.

Entre os métodos utilizados para o estudo da velocidade de crescimento, salientaremos as experiências de Langenskiöld (1957) e de Elo (1960), que através de radiografias seriadas, controlavam o aumento de tamanho dos ossos, utilizando em alguns casos pequenos fragmentos metálicos incrustados na cortical, como ponto de referência.

Outros como Frost (1961) e Harris (1962) e Hansson (1964, 1967) estudavam o crescimento, utilizando as tetraciclinas como marcador, na proporção de 10 a 50 mg por Kg de peso.

Enquanto que o primeiro método se apresentava como bastante grosseiro, já que estabelecia a possibilidade de admitir erros da ordem de 1mm, o que utiliza a marcação com as tetraciclinas dá resultados bem mais precisos.

Quanto ao estudo da velocidade de crescimento do homem, são de referir os trabalhos de Green y Anderson que de

1946 a 1960, dedicam toda a sua actividade a procurar estabelecer normas, tentando aplica-las como verdadeiras taxas de crescimento.

Alguns destes trabalhos contribuíram para que Grenlich y Pyle (1959), estabelecessem o ainda hoje utilizado, "Atlas para a determinação da idade óssea", através da radiografia de face do punho esquerdo.

## OS CAMPOS ELÉCTRICOS E ELECTROMAGNÉTICOS

### NA ESTIMULAÇÃO ÓSSEA

### E

### CARTILAGEM DE CRESCIMENTO

Passemos agora a analisar, os vários trabalhos em que foram empregues campos eléctricos ou electromagnéticos, quer para estimular o crescimento, quer para acelerar a consolidação de uma fractura ou tratar pseudartroses.

Pertence a Alexander Stevens, em 1816 a primeira referência quanto à possível relação dos fenómenos eléctricos com o tratamento das pseudartroses, quando ao publicar nesse ano a tradução do "Tratado sobre Doenças Cirúrgicas e Operações" de Boyer, relata as "experiências" efectuadas no St. Thomas Hospital, utilizando "*fluídos eléctricos*", para acelerar a consolidação de pseudartroses.

Talvez estimulado por este trabalho, Mott (1820) emprega correntes eléctricas para tratar duas pseudartroses da tíbia, aparentemente com sucesso.

Ainda no século passado Hartshorne (1841), Lente (1850) e Garratt (1860), embora com métodos diferentes, utilizam a corrente galvânica no tratamento de pseudartroses.

Mais tarde Garrett (1869), utiliza eléctrodos de ouro para com corrente contínua, tratar pseudartroses e Berrenger Fer-rand (1871), fala da utilização da "electroacupunctura".

Todos estes trabalhos nasciam, fruto de grandes imaginações, mas não tinham nenhuma base científica.

São os trabalhos de Yasuda e cols. (1953,1954, 1955) e Fukada e Yasuda (1957), que com novos conceitos, agora apoiados em dados científicos bem mais precisos, elaboram uma verdadeira teoria sobre as propriedades piezoeléctricas do osso, analisando os seus vários componentes.

Fukada e Yasuda, estabelecem a relação existente entre os fenómenos piezoeléctricos e os componentes celulares do osso, concluindo, que ao contrário do que seria lógico, não é a parte mineralizada do osso a responsável por esses fenómenos mas sim o Colagéneo.

Com efeito, observaram que o fenómeno se manti-nha com a desmineralização, enquanto desaparecia com a elimina-ção do conteúdo em proteínas do osso. Mais tarde Shamos-Lavine (1964,1967), Becker (1974) e Marino (1970,1974,1977), concluem que apenas um tipo de colagénio tem propriedades piezoeléctricas, exactamente aquele cuja estrutura fibrilar possui a capacidade de espontâneamente mudar a sua polaridade.

São neste campo também importantes os trabalhos de Basset e Becker (1962,1965), que posteriormente às constata-ções de Fukada e Yasuda, confirmam essas mesmas propriedades,

que se tornaram ainda mais reais nas observações de Friedenbergl (1966), Cochran (1966,1968), Black (1972) e Steinberg (1974).

Segundo Bassett, num osso longo submetido a uma compressão excêntrica, apareceriam colocadas do lado côncavo cargas "negativas", enquanto que do lado convexo as cargas seriam "positivas" (Fig. 13).

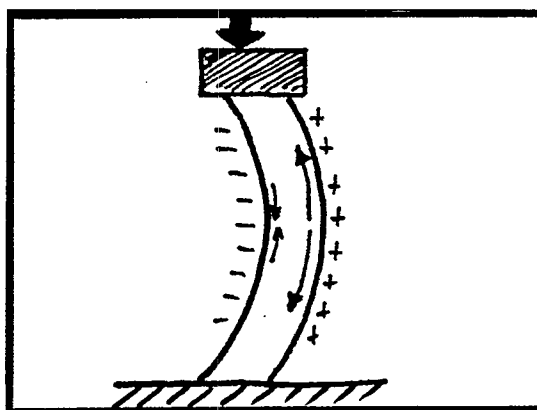


Fig. 13

Estes autores, concluíram assim, que as zonas submetidas a tensões são electronegativas, enquanto que as submetidas a distacções são electropositivas. Também demonstram, a relação existente entre as regiões electronegativas e o aumento de formação óssea, enquanto que à electropositividade corresponde a reabsorção óssea.

No fundo, este efeito piezoeléctrico correspondia à explicação da Lei de Wolf, segundo a qual a estrutura óssea dependeria da sua função como elemento do esqueleto e que todas as

alterações dessa função conduziriam obrigatoriamente a uma modificação da sua estrutura.

Anderson e Erickson (1968,1970), propõem uma teoria electrocinética aplicada ao osso hidratado, segundo a qual a polarização do mesmo, seria da responsabilidade da combinação de efeitos piezoeléctricos com "**potenciais de corrente**", originados pelos movimentos iónicos nos micro-capilares.

Para além destes "**potenciais de corrente**" instáveis como o próprio nome indica, foram estudados por Becker (1961, 1964), Friedenbergl e Brighton (1966) e Sawyer (1966), os chamados "**potenciais bioeléctricos estáveis**", em vários componentes biológicos, como pele, periósseo, osso, vasos ,etc.

Estes autores, concluíram quanto à distribuição destes potenciais, que as epífises eram positivas e as metáfises negativas, para novamente termos potenciais positivos na diáfise (Fig. 14).



Fig. 14

Estes estudos, foram continuados por Basset (1965, 1968), Friedenberg (1971), Anderson (1970) e Connolly (1974). Ainda em 1974, Cochran demonstra "in vivo", que existe uma estreita relação entre as forças de pressão suportadas em determinado ponto e a actividade eléctrica do osso nesse mesmo local.

Mais tarde, estes trabalhos foram continuados por Lanyon e Hartmann (1977), Spadaro (1977) e Herbst (1978), que apresenta um trabalho notável, naquela que é considerada a primeira grande reunião científica exclusivamente dedicada a este assunto, que teve lugar em Berlim, o "*1º Simpósio Europeu sobre Estimulação Eléctrica*", no ano de 1978.

São diferentes, do ponto de vista do comportamento, no que respeita às propriedades piezoeléctricas, o osso seco e o osso hidratado, com este último a ser bem mais diferenciado.

Porque é no osso hidratado, que vão incidir os nossos trabalhos, dedicar-lhe-emos um pouco mais de atenção.

Comprovada que estava, a influência dos fenómenos eléctricos sobre o tecido ósseo, faltava determinar qual seria a forma mais adequada de o fazer.

Foram utilizadas:

***A Corrente Alterna***

***A Corrente Pulsátil***

***A Corrente Contínua***

***Os Campos Electromagnéticos***

Passaremos a referir, embora de forma resumida, os trabalhos que mais se distinguiram nas várias formas de estimulação, deixando para o fim a Corrente Contínua, por ter sido essa a que utilizamos na nossa investigação.

## CORRENTE ALTERNA

*"Corrente eléctrica cuja tensão e intensidade variam de sinal a cada pulsação" (Fig. 15).*

São de Tidia (1956), os primeiros trabalhos utilizando correntes que variavam entre 1,5 v a 60 Hz e 4 v a 60 Hz, conseguindo assim obter resposta osteogénica.

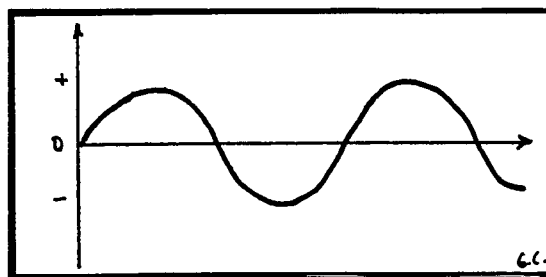


Fig. 15

Mais tarde Steendijk (1969) e Wittebol (1969,1970), trabalham com intensidades de corrente da ordem dos 4,5 v a 240 Hz e consideram ser esta intensidade de corrente a que se acompanha de maior neoformação perióssea e endóstea.

Bassett (1971), arrisca mesmo a afirmação de que **"só uma corrente alterna pode ser capaz de estimular a osteogénese"**, o que mais tarde se veio a provar não ser verdade.

### CORRENTE PULSÁTIL

*"tipo de corrente eléctrica em que sendo constante o sinal há variação quer da intensidade quer da tensão" (Fig. 16).*

São de Cochran (1968), os primeiros passos no que respeita à utilização da corrente pulsátil, sendo ainda de realçar os trabalhos "in vitro", de Levy (1971,1972) que, fazendo uma análise crítica dos trabalhos de Cochran, conclui serem as correntes de 0,7Hz as que produzem quantitativa e qualitativamente, os melhores resultados.

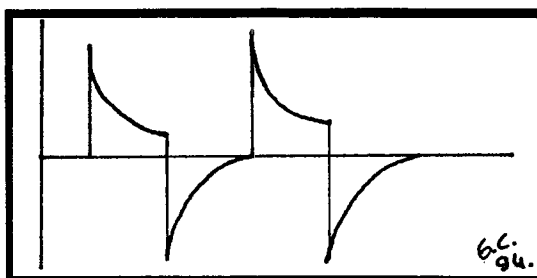


Fig. 16

Este trabalho de investigação, vai mesmo constituir a sua Tese de Doutoramento em Bioengenharia.

São de 1972, as primeiras tentativas para acelerar o processo de formação óssea, utilizando correntes pulsáteis obtidas através de baterias de 1,5 V (Levy e Rubin), com resultados animadores. Tendo como base os trabalhos de Levy, são então estabelecidos como valores mínimos de estimulação para provocar alterações celulares, 10 mAmp/1Hz ou 100 mAmp/60Hz. (Hassler, 1977).

Quanto à estimulação na espécie humana, a mesma tem início em 1972 sendo Jorgensen o pioneiro, utilizando um fixador de Hoffman, em que consegue transmitir ao foco de fractura (fracturas recentes), correntes de 500 micro-amp/1Hz. Mais tarde Satzger e Herbst (1978,1979), aplicam com êxito as correntes pulsáteis no tratamento quer de pseudartroses congénitas da tíbia, quer de pseudartroses pós-fractura.

Vários tipos de pseudartroses são estimuladas com corrente pulsátil, desde as simples às hipertróficas com ou sem infecção, com resultados animadores comparativamente à utilização de outros tipos de corrente (Gabor Satzger e cols. 1981). Os resultados são melhores quando se utiliza simultaneamente, um fixador externo em compressão, com a estimulação eléctrica a ser feita directamente através dos pinos do fixador (Jorgensen, 1981).

Embora com um carácter mais específico são notáveis as investigações de Binderman e cols. (1985), estudando a influência da corrente pulsátil sobre a síntese do AMP cíclico o do ADN. Concluem estes autores, ser possível com níveis diferentes de estimulação eléctrica, afectar preferencialmente determinados grupos celulares.

## CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS

Trata-se de um método de investigação que, de certo modo, acabou por ser desenvolvido à custa do "receio" na utilização de processos invasivos para a obtenção de alterações do crescimento, ou osteogénese.

Baseia-se, no princípio da obtenção de um campo magnético, através da passagem de uma corrente eléctrica por um condutor ou uma bobine. Do ponto de vista prático, pode dizer-se que a técnica utilizada consiste na aplicação externa de "bobines", percorridas por uma corrente pulsátil, que por sua vez vão criar em torno do local a estimular, um campo magnético, (Fig.17).

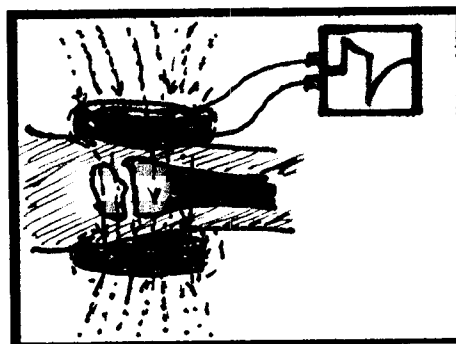


Fig. 17

Basset, é o pioneiro neste campo, iniciando os seus estudos em 1974 com a tentativa de obtenção de um calo ósseo, através da indução electromagnética. "In vivo", no cão, após efectuar uma osteotomia, constatou que a zona estimulada por um cam-

po electromagnético, era invadida por um calo ósseo, mas que o mesmo apresentava características pouco comuns.

Efectivamente, neste tipo de estimulação, a presença de cálcio, não é proporcional ao volume de calo ósseo presente, como se os estímulos tivessem actuado mais sobre a organização do processo de consolidação (quantidade de osso neoformado) e menos sobre o seu metabolismo.

Ao longo dos anos proliferaram os estudos "in vitro" e "in vivo", procurando através deste método "não invasivo", a solução para o problema da formação ou aceleração do calo ósseo e crescimento.

Os estudos iniciais de Basset (1974), foram desenvolvidos posteriormente por Becker (1977,1978,1979), Hinsenkamp (1978), Christel (1980) e Smith (1983).

Mais recentes são os trabalhos de Smith e cols. (1983), dando conta da influência de Campos Electromagnéticos sobre o crescimento do fémur de coelhos imaturos, observando um aumento de cerca de 22% no desenvolvimento desse segmento ósseo. Black (1984) e posteriormente Iannaccone (1988), confirmam estes resultados.

Do ponto de vista clínico, são importantes os trabalhos de Kraus (1972), Lechner (1978,1980,1981) e Heckman (1981), que publicam os resultados obtidos no tratamento de mais de 400 pseudartroses e atrasos de consolidação, utilizando Campos Electromagnéticos, com apenas cerca de 15% de maus resultados.

De referir também um interessante estudo realizado por Guillen Garcia e Cols. (1985), efectuando uma revisão de conceitos, sobre o emprego dos campos electromagnéticos no tratamento dos atrasos de consolidação e concluindo serem favoráveis os resultados obtidos por este método.

Como aparentes vantagens, aparece a possibilidade de utilização simultânea com material de osteosíntese e o facto de ser um método "não invasivo".

Contudo, apesar de actualmente ser um método bem estudado não o consideramos como exequível, dado se ter concluído que o tempo mínimo de estimulação seria de 12 a 16 horas/dia, não sendo permitido o apoio do membro a tratar, obrigando a que o mesmo se mantenha imobilizado até ao fim do tratamento.

### CORRENTE CONTÍNUA

*"corrente em que se mantém constante o sinal,  
a tensão e a intensidade" ( Fig. 18)*

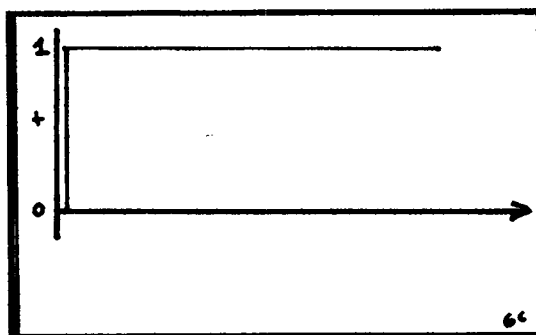


Fig. 18

Como para as formas de estimulação atrás referidas, são de Yasuda (1955), Basset e Becker (1962), Shamos e Haas (1963), os trabalhos que colocam em evidência os estudos efectuados "in vivo", com correntes contínuas.

O mecanismo do crescimento, é influenciado pela presença de potenciais eléctricos à superfície do osso e é através da modificação desses potenciais, que se vai fazer sentir a acção da corrente contínua.

Após se determinarem as alterações nas estruturas celulares, quanto à sua diferenciação, nomeadamente nos glóbulos vermelhos (Becker, 1974), quando colocados num campo eléctrico idêntico ao que existe no foco de fractura, foram os mesmos estudados no que respeita às modificações do seu conteúdo em ADN e ARN.

Mais tarde, são também estudadas culturas de células cartilagíneas, sob a influência de várias intensidades de corrente e encontradas alterações significativas na síntese do ADN, quando utilizadas correntes de 1 mA. (Okihana e cols. 1988).

Quanto à intensidade de corrente a utilizar na experimentação "in vitro", estabelece-se que a mesma deverá ser inferior a 1000 mA /mm<sup>2</sup> (Becker), sob pena de lesões celulares irreversíveis.

São notáveis também os trabalhos de Friedenberg (1968), Harrington (1973), Pilla (1974) e Brighthon (1981) no que respeita à experimentação "in vitro", sendo de salientar os destes últimos, que estabelecem ser ao nível do pólo negativo que se dá a neoformação óssea.

"In vivo", são muito mais numerosos os trabalhos, de tal forma, que podemos considerar a utilização deste tipo de corrente *"a mais conhecida e a mais experimentada"*.

Haas (1963), na sequência dos estudos que tinha efectuado em 1958 sobre as várias possibilidades de estimular o crescimento, apresenta no Congresso da Associação Ortopédica do Oeste nos Estados Unidos, aquele que deve ser o primeiro trabalho experimental acerca dos efeitos sobre o crescimento, da corrente eléctrica, colocando em evidência as propriedades osteoformadoras da estimulação eléctrica, com corrente contínua no foco de fractura.

Quanto ao local de neoformação óssea, também "in vivo" se evidenciam as propriedades do pólo negativo (Fukada e Yasuda, 1964) e (Minkin, 1968), sendo as correntes de intensidade entre 5 e 20 mA as que apresentam os melhores resultados (Friedenberg, 1968, 1970, 1971), enquanto que para valores superiores a 20 mA, se observam fenómenos de necrose tecidular (Friedenberg, 1974), (Hassler, 1977) e (Brighton, 1981).

Mesmo quando são utilizados meios mais sofisticados de medida, como a microrradiografia e a microdensitometria (Buch e Cols. 1985), confirmam-se estes resultados.

Quanto à sua aplicação clínica, várias foram as situações para as quais se procurou encontrar solução, usando a corrente contínua.

Naturalmente, são as pseudartroses que atraem sobre si a atenção da maioria dos investigadores.

Neste campo várias são as possibilidades de utilização da corrente contínua, desde a colocação de vários eléctrodos directamente no foco de pseudartrose, percutâneamente (Brighton, 1975,1977) e (Lorraine, 1981), quer através de abordagem cirúrgica do foco de pseudartrose e colocação dos eléctrodos após fixação interna e enxerto ósseo, (Connolly, 1981). De referir que o próprio material de fixação, serve como cátodo.

Desde os ossos longos (Paterson, 1980) e (Zichner, 1981), até aos pequenos como o escafoide (William Bora, 1981), todos de uma maneira geral, foram contemplados com o benefício deste método.

As pseudartroses congénitas, de tratamento sempre difícil, merecem uma referência neste campo, pois não foram poucos os casos que viram a sua solução, no uso de estimuladores de corrente contínua (Lavine, 1977) e (Nagel, 1977).

Também no que respeita ao tratamento das pseudartroses infectadas (Becker, 1977,1978), o uso da corrente contínua dá um contributo valioso, após terem sido demonstradas as suas capacidades antiinflamatórias e bactericidas, quando em presença de uma cultura de *Estafilococos Aureos*, (Cieszynski, 1967) e (Spadaro, 1974).

O tratamento das osteomielites crónicas (Becker, 1878) e (Dwight, 1981), foi também tentado e de certa forma conseguido, aproveitando as propriedades osteoformadoras junto do pólo negativo e assim através da proliferação de tecido ósseo normal no foco de infecção, obter a cura da mesma.

Mais recentemente os trabalhos publicados, Brighton e Cols. (1989) e Sato O. e Cols. (1990), abordam já a estimulação da própria cartilagem de crescimento por corrente contínua assunto de que nos iremos ocupar mais tarde.

## **CONTRIBUIÇÃO PESSOAL**

- 1º- Estudo da influência sobre a C.C. de furagens, materiais inertes e com propriedades eléctricas "in vivo".**
- 2º- Estudo da resistência eléctrica da C.C. "in vivo" e "in vitro".**
- 3º- Estudo da estimulação eléctrica da Cartilagem de Crescimento "in vivo".**

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA SOBRE  
A CARTILAGEM DE CRESCIMENTO**

**DE**

- A) FURAGENS**
- B) MATERIAIS INERTES**
- C) MATERIAIS COM PROPRIEDADES ELÉCTRICAS**
- D) CORRENTES ELÉCTRICAS**

Estudo iniciado em 1982, de colaboração com o Serviço de Ortopedia do Hospital Maria Pia do Porto e para o qual foi importante a contribuição dos Drs. Corte-Real, Mesquita Montes, Lino Ferreira e Vieira Coelho.

Após a consulta dos trabalhos de Chapchal e Zeldel-rust (1948), em que os mesmos, efectuam várias tentativas para conseguir o aumento longitudinal dos membros inferiores, através da estimulação das regiões metafisárias inf. do fémur e sup. da tíbia e posteriormente continuados por Wilson (1956), Carpenter (1956), Wilson (1970) e Brighton (1976), decidimos efectuar um conjunto de estudos experimentais e apartir dos mesmos retirar as nossas próprias conclusões.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Como animais de experiência foram utilizados coelhos de raça doméstica com idades compreendidas entre as 4 e 6 semanas, (Fig.19).

A escolha do coelho doméstico, deve-se ao facto de estar bem estudada (Tresserra J., 1964 e Cañadell, 1988), a relação existente entre a sua idade óssea e a do homem.

Pode afirmar-se, que ao nascer, o coelho apresenta com o homem, um paralelismo curioso no que diz respeito ao número de núcleos de ossificação, podendo mesmo, falar-se em idade óssea paralela.

Os autores atrás referidos, após analisarem o progressivo aparecimento dos outros núcleos de ossificação, concluíram que um dia de crescimento do coelho, corresponde a quarenta dias no homem.



Fig. 19

Podemos pois dizer, que a idade de um coelho em dias multiplicada por 0,11 é aproximadamente igual à idade de uma criança em anos.

$$\text{Idade (coelho/dias)} \times 0,11 = \text{Idade (criança/anos)}$$

Por esse motivo, os animais utilizados no nosso trabalho com idades médias de cerca de 6 semanas, poderão ser comparados (de forma relativa), com idades da ordem dos 4,5 anos na escala humana.

As intervenções foram sempre efectuadas com os animais anestesiados, utilizando para o efeito o éter em máscara aberta.

Como zona experimental, foi utilizado sempre o membro inferior Dt. e as cartilagens de crescimento inferior do fémur e superior da tíbia, sendo o lado oposto o utilizado como testemunho.

A abordagem cirúrgica foi efectuada sempre por via externa procurando nunca abrir a articulação do joelho.

De início, fizemos num denominado grupo 0, a comparação entre as C.C. do membro inferior sujeito a abordagem cirúrgica simples e as do lado oposto, tido como testemunho, para determinar se a "agressão" cirúrgica só por si, seria capaz de influenciar a C.C..

Microscópicamente constatamos não haver qualquer diferença entre ambas, pelo que consideramos como "não agressiva" para a C.C. a simples abordagem cirúrgica extra articular, o que nos levou a não a executar no lado testemunho.

Todos os animais foram radiografados após os vários actos cirúrgicos.

O tempo médio em que decorreram as experiências foi de 4 semanas.

As peças anatómicas de experiência foram sempre medidas em conjunto com as simétricas e efectuados de seguida cortes histológicos também rigorosamente simétricos.

## TÉCNICAS E MATERIAL DE ESTIMULAÇÃO

- Grupo 1** - Furagem simples das duas metáfises.
- Grupo 2** - Furagem e introdução de fragmentos de Silastic nas duas metáfises.
- Grupo 3** - Furagem e introdução de fios de Cobre e Constantan entrelaçados nas duas metáfises.
- Grupo 4** - Furagem e introdução de fios de Cobre no fémur e de Constantan na tíbia.
- Grupo 5** - Furagem e introdução de eléctrodos nos mesmos pontos ligados a pilhas de 1,5 V.

Do ponto de vista macroscópico, as medições foram sempre efectuadas com o auxílio de um micrótomo, sendo comparadas paralelamente entre "ossos estimulados" e "não estimulados".

Microscópicamente, os cortes histológicos foram corados pelo método de rotina (hemateína-eosina) e comparados com os simétricos do lado oposto, sendo feita uma apreciação global da Cartilagem de Crescimento e efectuadas as seguintes medições:

- A) - Número de núcleos empilhados da Zona Proliferativa
- B) - Espessura de osso novo ou neoformado
- C) - Espessura total da Cartilagem de Crescimento

Passaremos agora à análise dos vários Grupos que integraram esta primeira parte do trabalho.

## 1º GRUPO

### FURAGEM SIMPLES

Após a abordagem das regiões metafisárias inf. do fêmur e sup. da tibia, foi efectuado um orifício a 4 mm de distância da Cartilagem de Crescimento, com o auxilio de um fio de Kirschner de 3mm (Fig. 20).

De seguida, a ferida operatória era encerrada por planos.



Fig. 20

Foram operados 5 animais, sendo todos utilizados como material de estudo, já que os mesmos não tiveram intercorrências de assinalar.

**Análise Macroscópica**

Tendo como comparação o lado não operado, foi efectuada com o auxílio de um micrótomo, a medida de comprimento de ambos os fémures e tíbias e determinada a respectiva diferença, (Fig. 21).



Fig. 21

|          | Fémur | Tíbia  | Total |
|----------|-------|--------|-------|
| Animal 1 | 2,75  | - 0,35 | 2,40  |
| Animal 2 | 2,95  | - 0,55 | 2,40  |
| Animal 3 | 3,00  | - 0,40 | 2,60  |
| Animal 4 | 2,85  | - 0,50 | 2,35  |
| Animal 5 | 2,70  | - 0,45 | 2,25  |
| Média    | 2,85  | - 0,45 | 2,40  |

Pela análise deste quadro se conclui:

Há em média, um aumento total de comprimento do membro estimulado da ordem dos 2,4 mm, sendo de notar o facto de na tíbia se ter verificado quase sempre um encurtamento, embora que diminuto, o qual poderá ser explicado pela forma diferente de reagir à agressão cirúrgica das duas C.C. estimuladas.

Tal facto está de acordo com a maior capacidade de crescimento da C.C. inferior do fémur comparativamente com a C.C. superior da tíbia, durante a fase inicial de desenvolvimento dos animais de experiência utilizados (Tressera, 1964 e Cañadell, 1968).

Isso mesmo comprovamos, quando se prolongou o tempo de vida (em 3 animais) no dobro das semanas e se obtiveram aumentos de comprimento para a tíbia em média de 0,8 mm.

Pensamos não se poder excluir a possibilidade de ser atribuído o aumento de comprimento do fémur, a uma "resposta" à agressão cirúrgica provocada pela furagem e tendo como base mais uma reacção periostal, do que uma estimulação da Cartilagem de Crescimento.

### **Análise Microscópica**

#### **A - Número de Núcleos Empilhados na Zona Proliferativa**

O número dado com "estimulado" e "não estimulado", corresponde à média do número de núcleos, contados na Zona

Proliferativa das Cartilagens de Crescimento inferior do fêmur e superior da tíbia.

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 21                | 21                  |
| Animal 2     | 23                | 22                  |
| Animal 3     | 22                | 23                  |
| Animal 4     | 20                | 21                  |
| Animal 5     | 21                | 20                  |
| <b>Média</b> | <b>21,4</b>       | <b>21,4</b>         |

Da análise deste quadro se conclui, que este tipo de estimulação, não interfere sobre a zona proliferativa da Cartilagem de Crescimento.

**B - Espessura de "osso novo" ou "neoformado" (1/10mm)**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 1,60              | 1,33                |
| Animal 2     | 1,61              | 1,34                |
| Animal 3     | 1,64              | 1,37                |
| Animal 4     | 1,63              | 1,36                |
| Animal 5     | 1,62              | 1,35                |
| <b>Média</b> | <b>1,62</b>       | <b>1,35</b>         |

Aqui, claramente o lado estimulado apresenta um aumento médio de "espessura de osso novo", da ordem dos 0,40 (1/10mm), o que se poderá considerar significativo, dado o tipo de "agressão cirúrgica" apenas incluir a furagem simples da zona metafisária. Tratam-se quanto a nós, de fenómenos sobreponíveis aos que ocorrem aquando das lesões traumáticas metafisárias nas crianças e adolescentes jovens, que originam verdadeiros aumentos de comprimento, embora que temporários.

### **C - Média da espessura total da cartilagem (1/10mm)**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 4,80              | 4,70                |
| Animal 2     | 5,20              | 5,10                |
| Animal 3     | 5,40              | 5,30                |
| Animal 4     | 4,80              | 4,50                |
| Animal 5     | 4,80              | 4,75                |
| <b>Média</b> | <b>5,00</b>       | <b>4,87</b>         |

A média de espessura total da Cartilagem de Crescimento, não apresenta diferenças significativas, o que vem de encontro à teoria por nós defendida acerca da origem do osso neoformado, ou seja, que as alterações aqui encontradas se devem mais a fenómenos ligados à neoformação óssea pós agressão metafisária, do que propriamente a estimulação de Cartilagem de Crescimento.

## 2º GRUPO

### FURAGEM E INTRODUÇÃO DE FRAGMENTOS DE SILASTIC NAS DUAS METÁFISES

Também efectuada do lado Dt, foram abordadas as metáfises inferiores do fémur e superior da tibia.

A cerca de 4 mm de distância do que macroscopicamente era considerada a cartilagem da crescimento, efectuamos com o auxilio de uma broca, um orifício de 5mm diâmetro, paralelo ao eixo maior dos côndilos e centrado no plano antero-posterior. Era então aí introduzido um cilindro de Silastic de forma a preencher a totalidade do orifício, (Fig. 22).

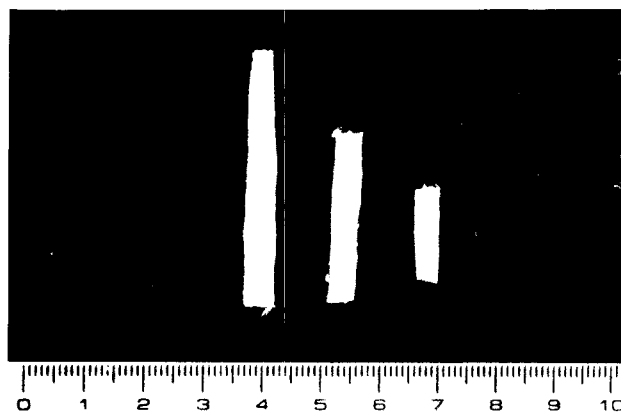


Fig. 22

Neste grupo, foi eliminado um animal de experiência por apresentar à altura da necrópsia deiscência do cilindro de Silastic, pelo que só contaram 4 como material de estudo.

### Análise Macroscópica

Como no grupo anterior, efectuamos Rx no início e termo da fase de experiência, (Fig. 23). Após a cuidadosa limpeza das peças (Fig. 24), foi determinado o respectivo comprimento, com o auxilio de um micrótomo, (Fig. 25).

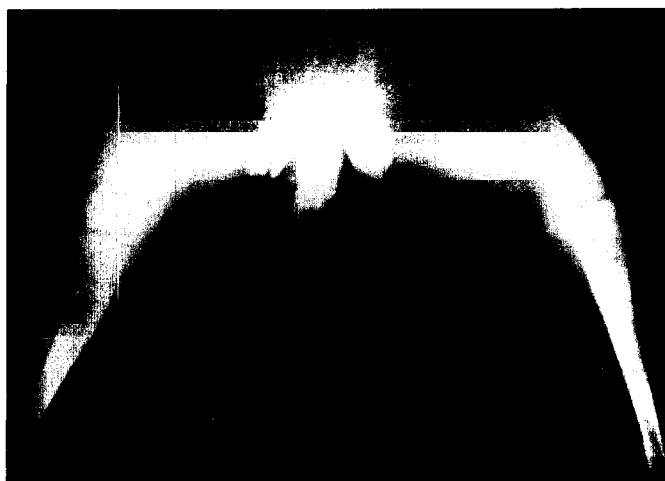


Fig. 23



Fig. 24

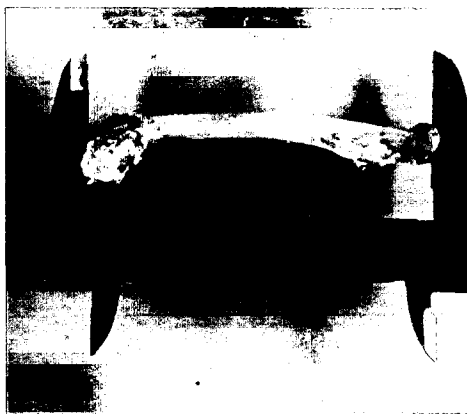


Fig. 25

É dos grupos, em que o aumento de crescimento se deu em menor escala, sendo mesmo inferior àquele em que foi efectuada apenas a furagem simples. Inexplicável até ao momento é o fenómeno da diminuição em termos globais do comprimento do fémur e o grande aumento ocorrido no segmento "tíbia", sabendo nós da menor capacidade de crescimento da sua zona proliferativa.

|              | <b>Fémur</b>  | <b>Tíbia</b>  | <b>Total</b>  |
|--------------|---------------|---------------|---------------|
| Animal 1     | - 0,05        | + 1,46        | 1,41          |
| Animal 2     | + 0,01        | + 1,52        | 1,53          |
| Animal 3     | - 0,03        | + 1,50        | 1,47          |
| Animal 4     | - 0,01        | + 1,44        | 1,43          |
| <b>Média</b> | <b>- 0,02</b> | <b>+ 1,48</b> | <b>+ 1,46</b> |

Porventura, a diferença pode ser explicada pelo efeito de "preenchimento" dos fragmentos de Silastic, que funcionando como barreira à estimulação "perióssea" no fémur, não se tenham comportado da mesma forma na tíbia.

### **Análise Microscópica**

#### **A - Número de Núcleos Empilhados na Zona Proliferativa**

Tal como no caso anterior, para o mesmo tipo de observação foi calculada a média do número de núcleos encontra-

dos na zona Proliferativa das Cartilagens de Crescimento inferior do fémur e superior da tíbia.

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 22                | 21                  |
| Animal 2     | 24                | 25                  |
| Animal 3     | 25                | 24                  |
| Animal 4     | 21                | 22                  |
| <b>Média</b> | <b>23</b>         | <b>23</b>           |

Por aqui se começa a verificar a pobre influência deste tipo de estimulação sobre a estrutura da Cartilagem de Crescimento.

Efectivamente, pode considerar-se como inexistente, o estímulo transmitido pelos materiais inertes como o Silastic, à Cartilagem de Crescimento.

#### **B - Média de espessura de "osso novo" ou "neoformado"** **(1/10 mm)**

De referir, que à simetria verificada no que respeita à média de núcleos empilhados, nos aparece agora um aumento da média de espessura de "osso novo", que poderemos considerar co-

mo de certa importância e que irá ter paralelismo na média da espessura total da cartilagem.

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 1,90              | 1,00                |
| Animal 2     | 1,94              | 1,10                |
| Animal 3     | 1,95              | 1,20                |
| Animal 4     | 1,94              | 1,00                |
| <b>Média</b> | <b>1,93</b>       | <b>1,00</b>         |

Continuamos no entanto a pensar, que tal facto se deve apenas à estimulação metafisária, provocada pela realização dos orifícios, para a introdução dos fragmentos de Silastic.

#### **C - Média de espessura total da Cartilagem (1/10 mm)**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/ Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|----------------------|
| Animal 1     | 5,60              | 4,61                 |
| Animal 2     | 5,64              | 4,64                 |
| Animal 3     | 5,65              | 4,64                 |
| Animal 4     | 5,62              | 4,63                 |
| <b>Média</b> | <b>5,63</b>       | <b>4,63</b>          |

O aumento aqui verificado é proporcional ao que se encontrou na "média de osso neoformado". No que respeita ao "as-

pecto" de conjunto entre lado estimulado e não estimulado, conforme se pode verificar pela comparação das preparações histológicas, (Fig. 26 e 27), não se encontram diferenças significativas.



Fig. 26

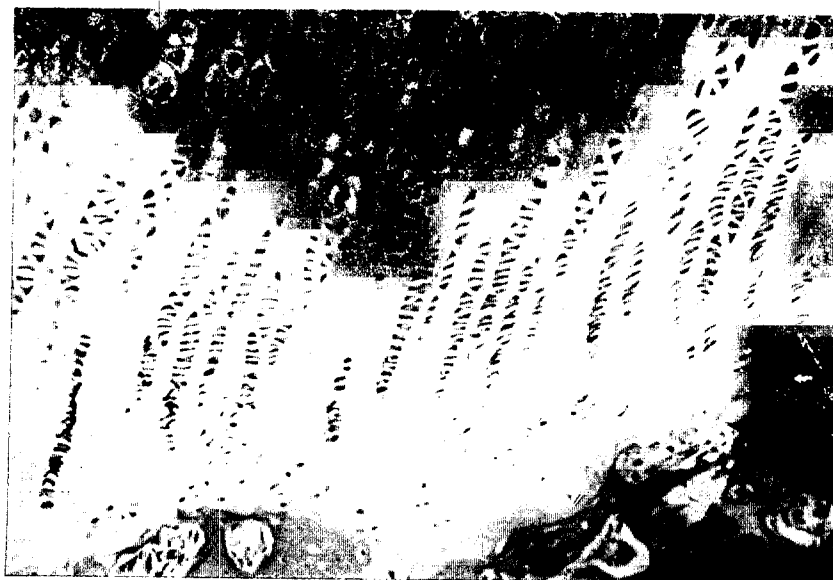


Fig. 27

### 3º GRUPO

#### FURAGEM E INTRODUÇÃO DE FIOS DE COBRE E CONSTANTAN ENTRELAÇADOS NAS DUAS METÁFISES

Continuando a utilizar como lado estimulado o Dt., foram efectuadas furagens com uma broca de 5mm, equidistantes da Cartilagem de Crescimento superior do fémur e inferior da tibia, cerca de 4mm e aí introduzidos fios de Cobre e Constantan préviamente entrelaçados em proporções iguais, (Fig. 28).

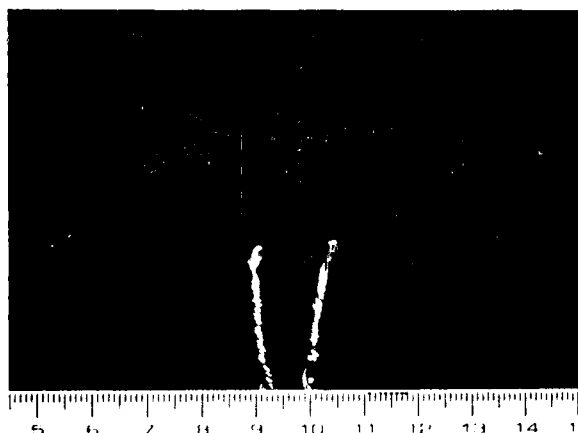


Fig. 28

A escolha destes materiais, advem do facto de reconhecidamente terem propriedades electromagnéticas, quer isolados quer em conjunto.

Desta forma, procuramos avaliar da influência dos fenómenos electromagnéticos sobre a Cartilagem de Crescimento.

O número de animais utilizados foi de 4, em duas séries de 2+2, uma vez que na primeira série de 5, tivemos de eliminar 3 por apresentarem quadros infecciosos (Fig. 29), com morte dos mesmos, antes de terminarem as 6 semanas, (Fig. 30).



Fig. 29

(Abscesso medular e osso reaccional)



Fig. 30

(Rx - abscesso peri-articular)

### Análise Macroscópica

|              | <b>Fémur</b> | <b>Tíbia</b> | <b>Total</b> |
|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Animal 1     | +1,27        | +3,46        | +4,73        |
| Animal 2     | +1,30        | +3,51        | +4,81        |
| Animal 3     | +1,28        | +3,47        | +4,75        |
| Animal 4     | +1,27        | +3,48        | +4,75        |
| <b>Média</b> | <b>+1,28</b> | <b>+3,48</b> | <b>+4,76</b> |

Tal como no Grupo II também aqui se verifica, do ponto de vista macroscópico, um crescimento mais acentuado na tíbia, sendo significativo o aumento de comprimento total global. Isso mesmo se pode verificar, comparando os Rx do mesmo animal, no início e no fim da estimulação (Fig. 31 e 32), em que a distância entre os materiais estimulantes e a superfície articular, é claramente superior na tíbia.

Também aqui, poderemos estar em presença do que denominamos "efeito tampão", do conteúdo dos orifícios, não permitindo a estimulação perióssea obtida no Grupo I, em que os mesmos não eram preenchidos.

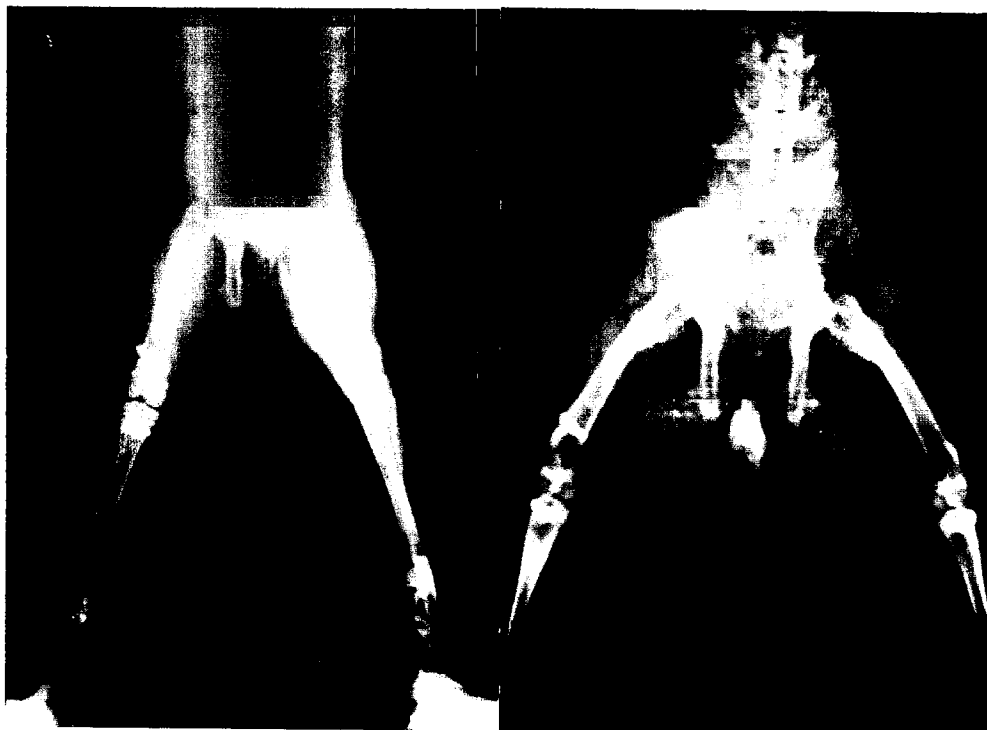


Fig. 31

Fig. 32

## Análise Microscópica

### A - Número de Núcleos Empilhados na Zona Proliferativa

A análise deste quadro leva-nos a conclusões interessantes, principalmente se compararmos o aumento de comprimento, do ponto de vista macroscópico, com a ausência de estimulação da Cartilagem de Crescimento, havendo mesmo diminuição do número total de células empilhadas na zona Proliferativa.

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 18                | 20                  |
| Animal 2     | 19                | 19                  |
| Animal 3     | 20                | 21                  |
| Animal 4     | 17                | 19                  |
| <b>Média</b> | <b>18,25</b>      | <b>19,75</b>        |

Efectivamente ao observarmos as preparações histológicas correspondentes (Fig. 33 - Lado n/estimulado), verifica-se que do lado estimulado (Fig. 34), a Cartilagem de Crescimento apresenta um aspecto "remanejado", que é sobretudo notado nas camadas proliferativa e hipertrófica, traduzindo interferências no processo de "produção" normal da Cartilagem de Crescimento.



Fig. 33



Fig. 34

**B - Média de espessura de "Osso Novo" ou "Neoformado"**  
**(1/10 mm)**

|          | Estimulado | N/Estimulado |
|----------|------------|--------------|
| Animal 1 | 3,48       | 1,28         |
| Animal 2 | 3,60       | 1,32         |
| Animal 3 | 3,60       | 1,32         |
| Animal 3 | 3,56       | 1,30         |
| Média    | 3,56       | 1,31         |

Começa aqui a notar-se uma diferença significativa, entre os resultados obtidos nos animais estimulados e não estimulados, sendo de referir que a um menor número de núcleos da Camada Germinativa no lado estimulado, corresponde paradoxalmente um aumento marcado, no que respeita à quantidade de "osso neo-formado".

Uma vez mais nos sugere esta constatação, que a mesma tem a ver com o tipo particular de "estimulação" obtida através dos efeitos electromagnéticos.

#### **C - Média da espessura total da cartilagem (1/10 mm)**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 7,00              | 4,50                |
| Animal 2     | 6,00              | 3,40                |
| Animal 3     | 9,00              | 6,00                |
| Animal 4     | 10,00             | 7,25                |
| <b>Média</b> | <b>8,00</b>       | <b>5,35</b>         |

Também se verifica um aumento da espessura total da Cartilagem de Crescimento, como consequência do "desarranjo" ou "remanejamento" provocado pela estimulação dos materiais utilizados, possuidores de propriedades electromagnéticas.

Uma observação inédita em relação aos Grupos anteriores, foi o facto de se encontrarem fenómenos de estimulação no sentido hematopoiético, da medula óssea (Fig.35),

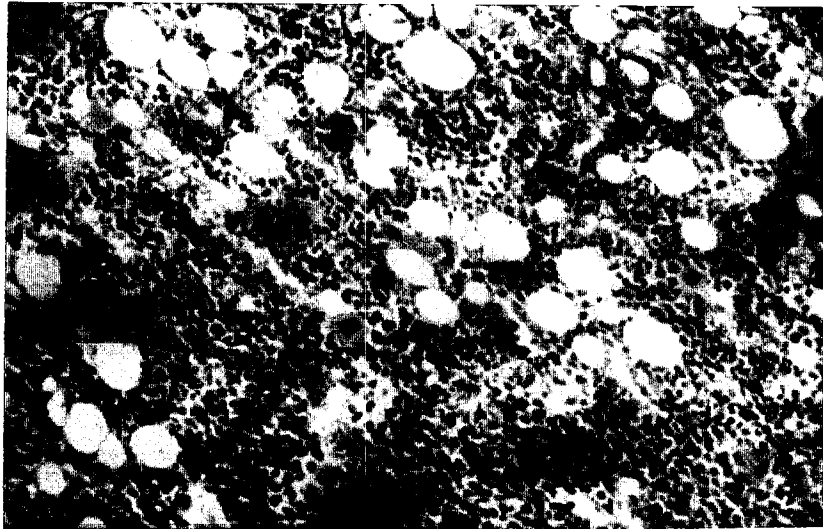


Fig. 35

Medula óssea hiperactiva (amp. 4x)

A estimulação da medula óssea, irá num futuro próximo, constituir a base de um trabalho de investigação, em que procuraremos do ponto de vista microscópico, especificamente sobre a zona de ossificação encondral da Cartilagem de Crescimento, definir se as alterações encontradas são ou não consequência da estimulação electromagnética.

#### 4º GRUPO

#### FURAGEM E INTRODUÇÃO DE FIOS DE COBRE NO FÉMUR E DE CONSTANTAN NA TÍBIA

Como nas experiências anteriores, foi utilizado o lado Dt. como o estimulado e o Esq. como testemunho ou não estimulado. Foram previamente preparados pequenos "rolos" de cobre (Fig. 36) e constantan (Fig. 37), com os quais foram preenchidos os orifícios efectuados em ambas as metáfises, sendo sempre colocado o cobre no fémur e o constantan na tibia.

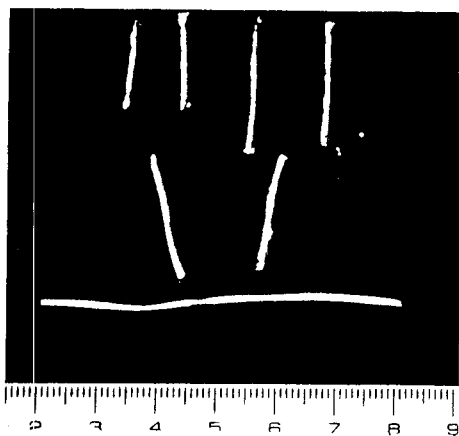


Fig. 36 - Cobre

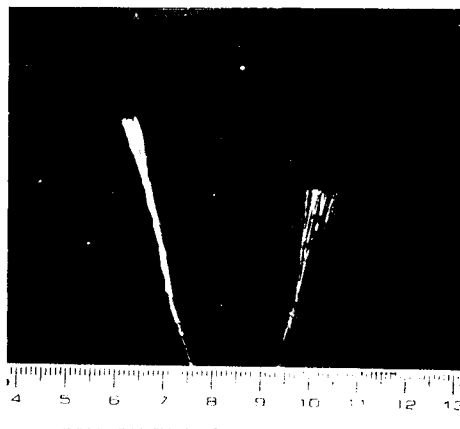


Fig. 37 - Constantan

Nesta série foram utilizados 5 animais como de costume, mas pertencendo a dois grupos diferentes, tendo sido analisados 4 do primeiro grupo e 1 do segundo.

**Análise Macroscópica**

Seguindo o mesmo método, após serem radiografados (Fig. 38), aos animais de experiência foram retirados os membros inferiores, cuidadosamente limpos e efectuadas as respectivas medidas com o auxílio de um micrótomo.

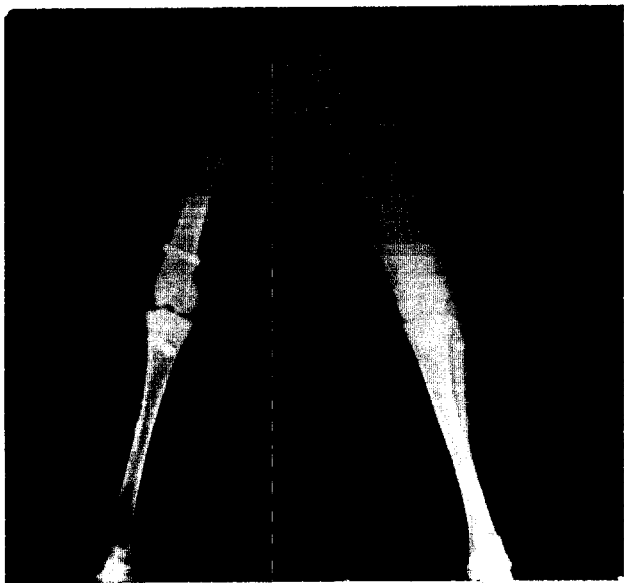


Fig. 38

|          | Fémur  | Tíbia  | Total  |
|----------|--------|--------|--------|
| Animal 1 | + 4,10 | + 1,55 | + 5,65 |
| Animal 2 | + 5,15 | + 1,80 | + 6,95 |
| Animal 3 | + 6,20 | + 2,10 | + 8,30 |
| Animal 4 | + 5,70 | + 2,00 | + 7,70 |
| Animal 5 | + 4,60 | + 1,70 | + 6,30 |
| Média    | + 5,15 | + 1,83 | + 6,98 |

Como se verificará, aquando da análise final destes quadros e no que respeita ao aumento "físico" de comprimento, este ocupa o segundo lugar no quadro global, dando assim mais crédito à ideia de que os fenómenos eléctricos são responsáveis por alterações importantes de crescimento que procuraremos compreender.

### **Análise Microscópica**

Nas preparações microscópicas correspondentes aos lados Estimulado (Fig. 39) e Não Estimulado (Fig. 40), foram efectuadas as várias contagens.

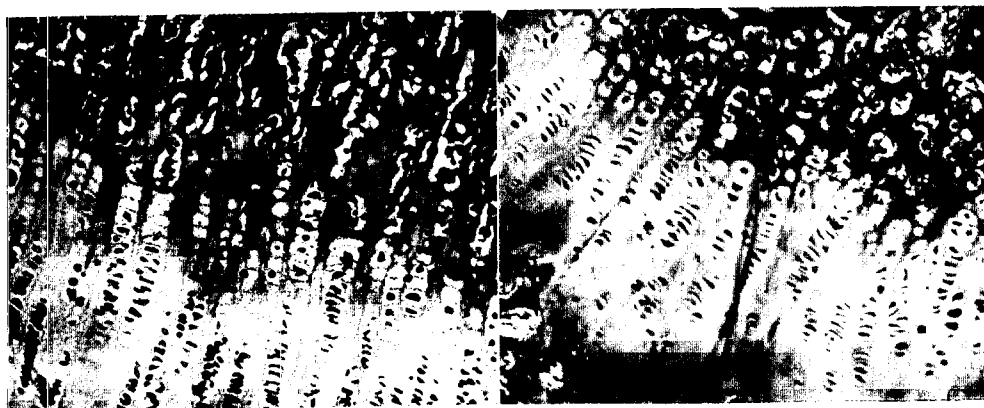


Fig. 39 - Estimulado

Fig. 40 - N/Estimulado

#### **A - Número de Núcleos Empilhados na Zona Proliferativa**

Também do ponto de vista microscópico, se começa a notar, que a presença de materiais com propriedades eléctricas

condiciona modificações estruturais, mais importantes do lado estimulado.

|              | Estimulado  | N/Estimulado |
|--------------|-------------|--------------|
| Animal 1     | 18          | 17           |
| Animal 2     | 18          | 17           |
| Animal 3     | 21          | 20           |
| Animal 4     | 17          | 15           |
| Animal 5     | 18          | 17           |
| <b>Média</b> | <b>18,6</b> | <b>16,6</b>  |

A Zona Proliferativa, aparece-nos como uma parte da Cartilagem de Crescimento, que claramente é estimulada quanto ao número de células que vão constituir e influenciar o crescimento. O aspecto global da C.C. não se nos afigura alterado, ao contrário das observações efectuadas nos grupos anteriores

**B - Espessura de "osso novo" ou "neoformado" (1/10mm)**

|              | Estimulado  | N/Estimulado |
|--------------|-------------|--------------|
| Animal 1     | 1,63        | 1,23         |
| Animal 2     | 1,70        | 1,28         |
| Animal 3     | 1,65        | 1,24         |
| Animal 4     | 1,68        | 1,25         |
| Animal 5     | 1,69        | 1,25         |
| <b>Média</b> | <b>1,67</b> | <b>1,25</b>  |

Claramente se mantém o acréscimo de espessura do osso neoformado no lado estimulado e que irá ser confirmado pela média da espessura total da cartilagem.

O "aspecto" deste "osso novo", é conforme se pode verificar na (fig. 39), fruto de uma actividade celular aumentada da Cartilagem de Crescimento, e não de qualquer tipo de estimulação periostal.

### **C - Média da espessura total da cartilagem (1/10mm)**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 6,00              | 4,70                |
| Animal 2     | 4,00              | 3,80                |
| Animal 3     | 5,00              | 4,45                |
| Animal 4     | 6,00              | 4,90                |
| Animal 5     | 4,00              | 3,80                |
| <b>Média</b> | <b>5,00</b>       | <b>4,33</b>         |

De todos os dados obtidos até agora, estes no seu conjunto, são os que apontam de uma forma mais significativa, para a importância do estudo da influência das interacções eléctricas sobre a Cartilagem de Crescimento.

Torna-se evidente que este tipo de estimulação, para além de ser o que apresenta resultados mais positivos, no que respeita a um verdadeiro "acelerar" da capacidade produtiva da C.C., é o que condiciona menores alterações na sua organização celular.

## 5 ° GRUPO

### FURAGEM E INTRODUÇÃO DE ELÉCTRODOS LIGADOS A PILHAS DE 1,5 V

Foram construídas seis fontes de estimulação, constituídas por pilhas de 1,5 V, cilíndricas, de tipo alcalino, saindo de cada pólo condutores eléctricos, que tinham soldados em cada extremidade, eléctrodos de aço, (Fig. 41).

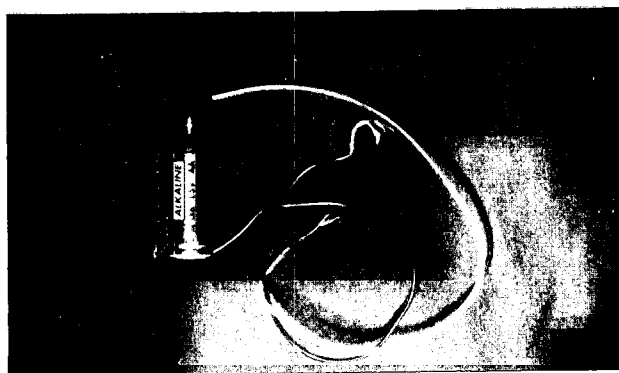


Fig. 41 - Modelo de estimulador

Após a abordagem da região metafisária inferior do fémur e superior da tibia, foram efectuados orifícios em ambas e introduzidos o eléctrodo positivo no fémur e o negativo na tibia.

Os fios condutores eram passados subcutâneamente até ao dorso do animal onde eram ligados à fonte de alimen-

tação (pilha), que por sua vez era fixada também por cima da pele, a uma apófise espinhosa, (Fig. 42).



Fig. 42 - Fixação do estimulador

A razão que nos levou a colocar o pólo negativo (local de formação óssea, em função das cargas eléctricas), na tíbia (Fig. 43), foi o facto de assim tentar compensar a menor capacidade de crescimento da cartilagem de conjugação superior da tíbia em relação à inferior do fémur.



Fig. 43

Foi neste grupo que tivemos mais problemas de sobrevivência dos animais de experiência. Foram utilizados ao todo 11 animais para se conseguir um grupo de 5, válidos para colheita de resultados, tendo sido eliminados;

- 2 por morte durante o período de experiência (sepsis)
- 3 por destruição da fonte de estimulação ou dos eléctrodos
- 1 por infecção local (artrite séptica)

A percentagem elevada de infecções, deve-se provavelmente à dificuldade de conseguir uma esterilização eficaz dos materiais utilizados, havendo necessidade de usar doses elevadas de antibióticos (penicilina), que acabaram por garantir os cinco animais contabilizados.

Somos também levados a pensar que poderiam ser diferentes, para melhor, os resultados finais, se não tivesse sido necessário restringir de certa forma, a liberdade de acção (área de habitáculo) dos animais de experiência, como forma de garantir a integridade das fontes de estimulação. As primeiras fontes de alimentação destruídas, foram deterioradas por animais habitantes da mesma jaula e não pelo portador das referidas fontes.

### **Análise Macroscópica**

Foram como nos casos anteriores, após necrópsia, as peças anatómicas cuidadosamente dissecadas (Fig. 44) e medi-

das simetricamente com o auxilio de instrumentos de precisão (micrômetro).

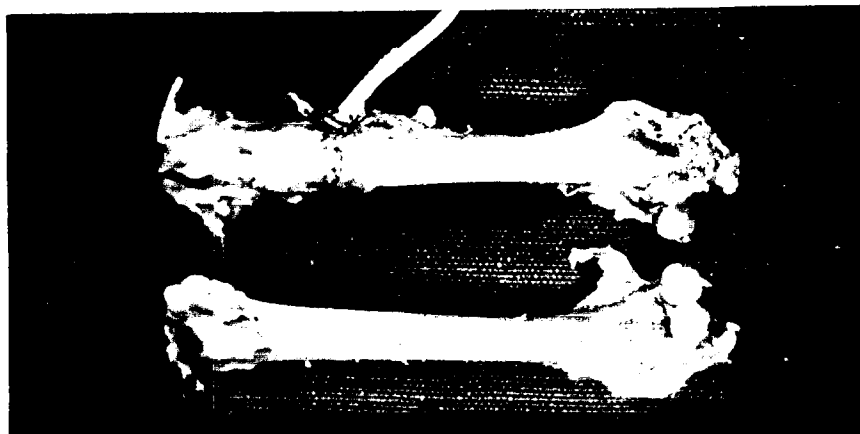


Fig. 44

|              | Fémur         | Tíbia         | Total         |
|--------------|---------------|---------------|---------------|
| Animal 1     | + 4,20        | + 1,20        | + 5,40        |
| Animal 2     | + 4,70        | + 2,20        | + 6,90        |
| Animal 3     | + 4,00        | + 1,00        | + 5,00        |
| Animal 4     | + 4,50        | + 1,70        | + 6,20        |
| Animal 5     | + 4,30        | + 1,45        | + 5,75        |
| <b>Média</b> | <b>+ 4,34</b> | <b>+ 1,51</b> | <b>+ 5,85</b> |

Claramente se verifica um aumento significativo do lado estimulado, com predomínio do fémur em relação à tíbia. Mesmo tendo estimulado a tíbia com o cátodo (pólo negativo e local de maior osteoprodução), foi no fémur que se verificaram os maiores aumentos de comprimento conforme se pode ver macroscopicamente nas (Fig. 43 e 44).

## Análise Microscópica

### A - Número de Núcleos Empilhados na Zona Proliferativa

|              | Estimulado  | N/Estimulado |
|--------------|-------------|--------------|
| Animal 1     | 25          | 22           |
| Animal 2     | 22          | 20           |
| Animal 3     | 21          | 19           |
| Animal 4     | 26          | 25           |
| Animal 5     | 22          | 20           |
| <b>Média</b> | <b>23,2</b> | <b>21,2</b>  |

Também aqui se verifica uma clara vantagem da zona estimulada em relação à zona testemunho.

### B - Espessura de "osso novo" ou "neoformado" (1/10 mm)

|              | Estimulado  | N/Estimulado |
|--------------|-------------|--------------|
| Animal 1     | 2,30        | 1,60         |
| Animal 2     | 2,70        | 2,00         |
| Animal 3     | 2,80        | 2,30         |
| Animal 4     | 2,50        | 1,75         |
| Animal 5     | 2,40        | 1,40         |
| <b>Média</b> | <b>2,54</b> | <b>1,79</b>  |

Uma vez mais ficam, comprovadas as diferenças, quanto à resposta da Cartilagem de Crescimento, na presença de elementos produtores de fenómenos eléctricos.

São consideráveis as diferenças entre o lado estimulado e o não estimulado e curiosamente, mesmo havendo animais de ninhadas diferentes, não há variações significativas de valor relativo entre si.

### C - Média da espessura total da C. de Crescimento (1/10 mm)

|              | Estimulado  | N/Estimulado |
|--------------|-------------|--------------|
| Animal 1     | 6,70        | 5,30         |
| Animal 2     | 6,30        | 4,95         |
| Animal 3     | 6,20        | 5,00         |
| Animal 4     | 6,60        | 5,20         |
| Animal 5     | 6,70        | 5,40         |
| <b>Média</b> | <b>6,50</b> | <b>5,17</b>  |

O aumento da espessura total da Cartilagem aqui verificado, comparando o lado estimulado com o não estimulado (Fig 45 e 46), confirma todas as anteriores observações, de tal modo que apenas é ultrapassado pelo resultado obtido com a utilização de materiais com propriedades electromagnéticas, se bem que nestes últimos (Grupo III), este aumento se verifique à custa de alterações localizadas na zona de ossificação encondral, acom-

panhadas de alterações francas da estrutura normal da Cartilagem de Crescimento (Fig. 34).



Fig. 45 - Estimulado



Fig. 46 - N / Estimulado

## APRECIAÇÃO GLOBAL DOS RESULTADOS OBTIDOS

Iremos avaliar em conjunto, os resultados obtidos nesta fase experimental e justificar com os mesmos, os passos seguintes do nosso trabalho e os motivos que nos levaram a avançar de uma forma mais precisa no estudo da Cartilagem de Crescimento.

Começaremos por comparar os dados fornecidos pela observação macroscópica, passando de seguida aos resultados conseguidos através da microscopia.

### Dados Macroscópicos

Conforme atrás referimos, estes resultados foram obtidos com a utilização de um micrótopo de precisão e expressos em milímetros.

Quadro Global

|           | Fémur  | Tíbia  | Total  |
|-----------|--------|--------|--------|
| Grupo I   | + 2,85 | - 0,45 | + 2,40 |
| Grupo II  | - 0,02 | + 1,48 | + 1,46 |
| Grupo III | + 1,28 | + 3,48 | + 4,76 |
| Grupo IV  | + 5,15 | + 1,83 | + 6,98 |
| Grupo V   | + 4,34 | +1,51  | + 5,85 |

Da análise deste quadro podemos concluir:

a) Em todos os grupos de experiência houve um aumento global de comprimento, do lado considerado como "Estimulado".

b) O aumento mais significativo foi obtido em todos os casos em que foram utilizados materiais com propriedades elétricas ou electromagnéticas; (Grupos V, IV e III), o que vem confirmar o potencial de aceleração do crescimento deste tipo de estímulo.

c) Nos grupos IV e V, foi claro que a maior "fatia" do aumento de comprimento, pertenceu à Cartilagem de Crescimento inferior do fêmur, (superior em 280% ao da tíbia), o que fez orientar a sequência do nosso trabalho, no sentido de dar uma maior atenção para este segmento.

d) Por exclusão de partes, se conclui, serem os materiais inertes como o Silastic ou a agressão cirúrgica simples, aqueles que menos influenciam o crescimento dos segmentos estudados, embora induzindo também alterações do ponto de vista microscópico, da Cartilagem de Crescimento.

### **Dados Microscópicos**

Analizamos em conjunto, os resultados obtidos nos 5 grupos, comparando a média dos núcleos empilhados (A), a média

de espessura de "osso novo" (B) e a média de espessura total da cartilagem (C)

Quadro Global

|       | A     |        | B    |        | C    |        |
|-------|-------|--------|------|--------|------|--------|
| Grupo | Est.  | N/Est. | Est. | N/Est. | Est. | N/Est. |
| I     | 21,40 | 21,40  | 1,62 | 1,35   | 5,00 | 4,87   |
| II    | 23,00 | 23,00  | 1,93 | 1,00   | 5,63 | 4,63   |
| III   | 18,25 | 19,75  | 3,56 | 1,31   | 8,00 | 5,35   |
| IV    | 18,60 | 16,60  | 1,67 | 1,25   | 5,00 | 4,33   |
| V     | 23,20 | 21,20  | 2,54 | 1,79   | 6,50 | 5,17   |

A análise deste quadro no seu conjunto, é de interesse científico relevante, pois pela primeira vez foi possível comparar parâmetros, que no seu todo traduzem a actividade proliferativa da Cartilagem de Crescimento.

São para nós relevantes os seguintes factos:

A) - Começando por analisar o quadro referente à **média de núcleos empilhados**, várias considerações nos parecem importantes; Assim, verifica-se que os aumentos mais significativos se encontram nos grupos IV e V, onde foram utilizados respectivamente fios de cobre no fémur e de constantan na tibia (grupo IV) e pilhas eléctricas (grupo V).

Estes dados, são ainda mais importantes, se analisarmos individualmente os materiais empregues. Observamos que curiosamente, quando utilizamos os mesmos materiais do grupo IV, nos ensaios designados por grupo III (cobre e constantan) com a diferença de agora, os mesmos serem entrelaçados e colocados em ambas as metáfises, ter havido uma diminuição do número de núcleos empilhados na Zona Proliferativa, mas com aumento de espessura quer de "osso novo", quer da totalidade da Cartilagem de Crescimento.

Pensamos que a explicação para tal facto, está no tipo de estímulo que se verifica em cada um dos grupos e no efeito que cada um tem sobre a Cartilagem de Crescimento.

É que, embora empregando os mesmos materiais, os grupos III e IV, são diferentes no que respeita aos estímulos que ambos condicionam.

Enquanto que na utilização de cobre/constantan entrelaçados e colocados nas duas metáfises se obtém um campo electromagnético, (dois campos eléctricos, criam um campo electromagnético), quando os utilizamos separadamente (cobre no fémur e constantan na tíbia), apenas se obtém um campo eléctrico.

Tudo isto tem a ver, com o que pensamos ser a diferença quanto ao local onde se vai desenrolar a estimulação da Cartilagem de Crescimento, conforme se trate de influências eléctricas ou electromagnéticas. Nas primeiras é sobre a Zona Hipertrófica que se faz sentir a estimulação, enquanto que nas segundas é fundamentalmente na zona de Ossificação Encondral e sob a forma de aumento da capacidade osteogénica.

Quanto aos grupos I e II (furagens simples e com silastic), praticamente não há alterações na Cartilagem de Crescimento, quanto à média de núcleos empilhados.

**B) - Quanto à *média de espessura de “osso novo”***, o seu aumento tem a ver com dois fenómenos diferentes; por um lado traduz o aumento da capacidade de crescimento da cartilagem (zona hipertrófica) e por outro o acelerar do potencial osteogénico da mesma (ao nível da zona de ossificação endocranal).

Aqui são os grupos III e V, que apontam para alterações mais significativas.

**C) - A *espessura total*** da Cartilagem de Crescimento, teve um aumento em todos os grupos estudados, sendo no entanto de realçar os resultados obtidos nos grupos III e V, correspondendo exactamente à utilização de materiais com propriedades Electromagnéticas e Eléctricas, respectivamente.

Ainda no que respeita à observação anatomo-patológica, constatamos a existência de uma estimulação da medula óssea no sentido hematopoiético, que é mais notória nos grupos em que foram utilizados elementos com propriedades eléctricas ou electromagnéticas, (Grupos V, IV e III). Este tipo de estimulação torna-se mais evidente se compararmos estes grupos com os dois primeiros, (Fig. 47 e 48).

De referir também, outro aspecto que consideramos importante quanto à estimulação hematopoiética da medula ossea: é

que esta verifica-se mesmo nos ossos tidos como testemunhos ou não operados. Trata-se pois de um tipo de influência com clara manifestação sistémica e que provavelmente também estudaremos mais tarde.

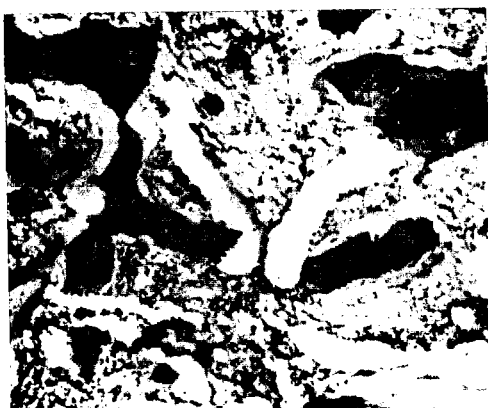


Fig. 47

Grupo II - Medula c/ sinais de fraca  
estimulação

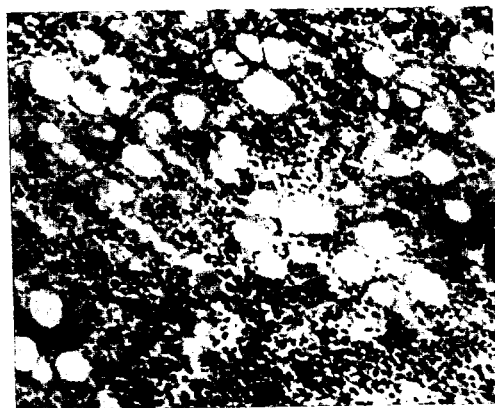


Fig. 48

Grupo III - Medula com franca  
estimulação

A análise do quadro na sua globalidade, levou-nos a prosseguir os estudos da Cartilagem de Crescimento, investigando agora apenas as influências da corrente eléctrica contínua, mas de uma forma em que o rigor científico utilizado, não fosse questionável.

Começamos pois por estudar a Resistência da Cartilagem de Crescimento à passagem de uma corrente eléctrica.

## **ESTUDO EXPERIMENTAL DA RESISTÊNCIA ELÉCTRICA DA CARTILAGEM DE CRESCIMENTO**

O conhecimento das propriedades piezoeléctricas do osso, reveladas pelos trabalhos de Fukada e Yasuda (1957), levaram a uma infindável lista de trabalhos de investigação, que ultrapassa já as duas centenas.

No centro de toda esta actividade científica, está a tentativa de através do uso da corrente eléctrica, conseguir alterações, quer no processo de osteogénese, quer na actividade da Cartilagem de Crescimento.

Ao fazermos uma análise criteriosa da quase totalidade desses trabalhos, constatamos que de 1957 até 1975 todos ignoram a importância da Resistência Eléctrica da Cartilagem de Crescimento, quando estudam várias formas de interferir sobre a sua actividade.

Como qualquer estrutura, também o tecido ósseo "oferece" RESISTÊNCIA à passagem da corrente eléctrica e facilmente se compreenderá que o valor da intensidade de uma corrente após ter atravessado um conjunto de tecidos será directamente proporcional ao valor inicial da tensão aplicada e inversamente proporcional à RESISTÊNCIA que os mesmos oferecerem à sua passagem.

Assim sendo, desde que não seja levado em linha de conta, o valor da Resistência eléctrica dos tecidos, os trabalhos assim equacionados, embora tenham rigor científico do ponto de vista de comparação com outros idênticos, perdem credibilidade quando são analisados pelo lado dos fenómenos bioeléctricos.

Efectivamente, a ignorância ou desconhecimento deste parâmetro, conduz a resultados que não têm rigor científico e que podemos mesmo dizer que estão "viciados" à partida.

Devem-se a Stan Stefan e Cols. (1975), as primeiras referências ao cálculo da RESISTÊNCIA eléctrica dos vários constituintes da estrutura óssea.

Com efeito, estudam quer "in vitro" quer "in vivo", qual a resistência que as várias partes do esqueleto oferecem à passagem da corrente eléctrica, contínua ou alterna.

Quando nos debruçamos sobre este trabalho, verificamos que no mesmo não havia qualquer referência ao estudo da **Resistência Eléctrica da Cartilagem da Crescimento**.

Dado que considerávamos imprescindíveis esses valores, para o rigor científico do estudo da Estimulação Eléctrica da Cartilagem de Crescimento, começamos por aí a segunda parte do nosso trabalho de investigação.

Antes de iniciarmos o trabalho de investigação sobre a Resistência Eléctrica da Cartilagem da Crescimento, tivemos de estudar o fenómeno eléctrico na sua forma mais simples, procurando apartir daí compreender "as acções electrostáticas" e a forma da sua possível influência no comportamento da estrutura óssea.

Tal estudo, dadas as nossas limitações na matéria, só foi possível com a estreita colaboração do Departamento de Engenharia Electrotécnica da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, na pessoa do Professor Engenheiro Ventura, que deu "pernas para andar" a este projecto, com a construção dos vários protótipos que foram utilizados nas experiências. Os mesmos foram variando de tamanho e eficácia, acabando por ser construído um protótipo de reduzidas dimensões.

Vamos começar por enumerar alguns conceitos fundamentais para a compreensão do "Fenómeno Eléctrico".

Se considerarmos o mundo físico como um agregado de partículas materiais, três tipos de "forças" serão capazes de determinar a agregação dessas partículas:

- 1 - **Forças de Gravitação:** caracterizadas pela inércia.
- 2 - **Forças Nucleares:** que cimentando os nucleões (neutrões e protões), estabilizam os núcleos dos átomos
- 3 - **Forças Eléctricas:** caracterizadas pelas interacções electromagnéticas.

São estas últimas as que interessam ao nosso estudo.

Dependerá da condutibilidade dos corpos a sua capacidade de condução, considerando como **condutores** "todos os corpos que possuam partículas carregadas eléctricamente (positivas

ou negativas), livres de se moverem sob a acção de campos eléctricos.

Denominaremos então como **corrente eléctrica** "o movimento das cargas eléctricas no seio de um condutor, que poderá ser contínua ou alterna".

Um dos aspectos mais curiosos que encontramos quando nos debruçamos sobre as características dos fenómenos eléctricos, (e que pode explicar alguns resultados obtidos na nossa investigação e na de outros autores), foi o facto de haver, no seio dos condutores, transformação de energia eléctrica em calorífica - Efeito de Joule.

A quantidade de energia eléctrica transformada em energia calorífica depende proporcionalmente do quadrado da Intensidade de Corrente (I) e da Resistência (R), oferecida à passagem da corrente. A Resistência (R), mede-se em Ohms.

Vamos agora debruçar-nos sobre o estudo experimental que efectuamos acerca da Resistência Eléctrica da Cartilagem de Crescimento.

## OBJECTIVOS

Cálculo da Resistência Eléctrica da Cartilagem de Crescimento "in vivo" e "in vitro" e assim determinar a intensidade de corrente necessária para provocar alterações na sua capacidade de crescimento.

No fundo, trata-se de determinar qual a tensão ne-

cessária, na fonte de estimulação, para obter uma determinada intensidade de corrente, no local de estimulação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Como animal de experiência utilizamos o coelho de raça doméstica com idades compreendidas entre 4 e 6 semanas.

A escolha do coelho doméstico, já atrás foi justificada, mas no fundo, os factores que influenciaram esta escolha, têm a ver com o preço a pagar por cada animal, a facilidade em os arranjar, a ausência de problemas de alimentação e o facto, porventura o mais importante, de os animais desta raça, serem dos mais bem estudados do ponto de vista experimental, quer quanto ao seu crescimento quer quanto ao seu comportamento em cativeiro.

Como aparelho de medida foi utilizado um Multímetro Digital KIOTTO - Modelo K 1520 S, (Fig. 49).

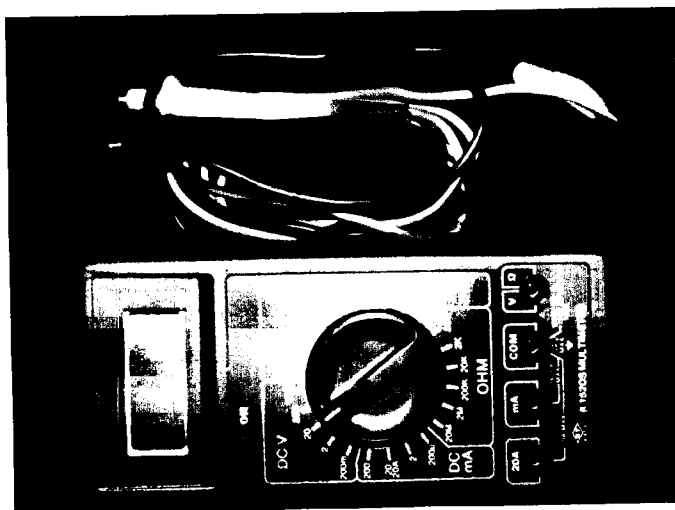


Fig. 49

Como gerador, foi utilizado um protótipo construído no Dep. de Eng. Electrotécnica da Fac. de Eng. da Universidade do Porto, alimentado por duas baterias de Litium CR 220 de 3v, para a versão D.C. (Fig. 50).

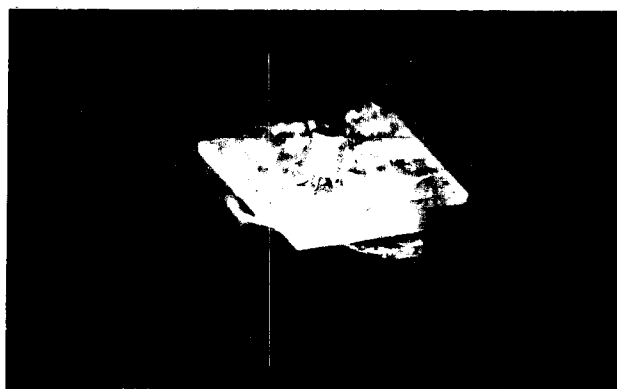


Fig.50

Os animais de experiência foram sempre anestesiados com Katalar (50 mg / Kg de peso - IM).

Como local de medida, foi utilizada sempre a Cartilagem de Crescimento inferior do fémur, sendo introduzida uma agulha metálica a cerca de 5 mm acima e abaixo da mesma. Os eléctrodos, (agulhas metálicas) eram conectados com o aparelho produtor de corrente, sendo a Resistência calculada por dois processos diferentes conforme se trata de Corrente Alternada (A.C.) ou Corrente Contínua (D.C.).

Para A.C., calculando a relação entre a voltagem de saída e a corrente que passava na Resistência de 10K colocada em série antes do eléctrodo proximal. Para a D.C. através do diferencial entre os dois eléctrodos (agulhas metálicas).

Dois grupos de experiência foram utilizados, com seis animais em cada, constituindo no total quatro conjuntos de dados, pois utilizamos o mesmo conjunto de animais para as medições "in vivo" e "in vitro".

## RESULTADOS

### 1º GRUPO - D.C.

Estudo da Resistência da Cartilagem da Crescimento "in vivo"

6 animais

|              | Até 1,5V      | Sup. a 1,5V  |
|--------------|---------------|--------------|
| Animal 1     | 10            | 2            |
| Animal 2     | 10            | 1,9          |
| Animal 3     | 9             | 1,8          |
| Animal 4     | 10            | 2            |
| Animal 5     | 8             | 1,5          |
| Animal 6     | 9             | 1,6          |
| <b>Média</b> | <b>9,33 K</b> | <b>1,8 K</b> |

Claramente se verifica uma diferença nos resultados obtidos quando utilizamos correntes de valor superior ou inferior a 1,5 V.

## 2º GRUPO - D.C.

Estudo de Resistência da Cartilagem de Crescimento " in vitro "  
5 animais

Após uma semana do acto anestésico e obtenção dos resultados atrás descritos para o primeiro grupo, foram sacrificados 5 dos 6 animais de experiência, (um foi excluído por apresentar sinais de infecção grave ao nível do membro inferior Dt.) e retirado o terço inferior do fémur esquerdo.

Na Cartilagem de Crescimento e utilizando a técnica de medida já atrás descrita, obtivemos os seguintes valores de Resistência à aplicação de tensões, superiores e inferiores a 1,5v.

|              | Até 1,5V     | Sup. a 1,5V   |
|--------------|--------------|---------------|
| Animal 1     | 10           | 2,0           |
| Animal 2     | 9            | 1,7           |
| Animal 3     | 11           | 2,0           |
| Animal 4     | 8            | 1,5           |
| Animal 5     | 10           | 1,6           |
| <b>Média</b> | <b>9,6 K</b> | <b>1,76 K</b> |

Não se verificam diferenças significativas, entre os valores obtidos "in vivo" e "in vitro" quando utilizamos Corrente Contínua, sendo o valor médio para o primeiro grupo ligeiramente inferior. Tal facto deverá estar relacionado com a dificuldade em excluir a condutibilidade dos fluídos locais que podem criar como que "pequenos circuitos".

### 3º GRUPO - A.C.

Estudo da Resistência da Cartilagem de Crescimento "in vivo"

6 animais

Foi utilizado agora um estimulador de Corrente Alternada, com uma resistência de 10 K em série e alimentado por uma fonte de 9V, que por intermédio de variações de tensão, na referida resistência, condicionava tensões de valor superiores e inferiores a 1,5V, que foram os valores já utilizados para as medições com D.C..

Os mesmos 6 animais foram, a exemplo das séries anteriores, utilizados para as determinações "in vivo" e "in vitro".

|              | Até 1,5V   | Sup. a 1,5V   |
|--------------|------------|---------------|
| Animal 1     | 8          | 1,5           |
| Animal 2     | 8          | 1,2           |
| Animal 3     | 9          | 1,1           |
| Animal 4     | 7          | 1,6           |
| Animal 5     | 7          | 1,2           |
| Animal 6     | 9          | 1,5           |
| <b>Média</b> | <b>8 K</b> | <b>1,35 K</b> |

### 4º GRUPO - A.C.

Estudo da Resistência da Cartilagem de Crescimento "in vitro"

6 animais

Valores obtidos em 6 animais de experiência, uma semana após terem sido utilizados para colheita de dados "in vivo",

utilizando a Cartilagem de Crescimento inferior do fêmur Esquerdo.

|              | Até 1,5V      | Sup. a 1,5V  |
|--------------|---------------|--------------|
| Animal 1     | 10            | 1,9          |
| Animal 2     | 9             | 1,6          |
| Animal 3     | 11            | 1,7          |
| Animal 4     | 10            | 1,5          |
| Animal 5     | 11            | 1,8          |
| Animal 6     | 7             | 1,7          |
| <b>Média</b> | <b>9,66 K</b> | <b>1,7 K</b> |

Tal como para a corrente contínua, também no que respeita à corrente alterna, não se encontraram diferenças significativas entre os valores obtidos nas observações "in vivo" e "in vitro", havendo apenas um aumento de Impedância quando fizemos algumas medições com o osso já seco.

## CONCLUSÕES

Qualquer que seja o trabalho experimental, que vise o estudo do comportamento da Cartilagem de Crescimento, aquando da sua estimulação por uma corrente eléctrica alterna ou contínua, deverá sob pena de o mesmo não ter qualquer valor científico, levar em linha de conta a determinação prévia da Resistência (R),

pois só assim se pode falar com rigor, dos efeitos que determinada intensidade de corrente, tem sobre a Cartilagem de Crescimento.

Verificamos que a Resistência, é inversamente proporcional à intensidade da corrente utilizada. Quando usamos valores superiores a 1,5 V, há diminuição da Resistência (R), mas acompanhada de fenómenos de necrose tecidular, que pode ser atribuída não só à acção local da corrente eléctrica, mas também à influência da energia calorífica que se instala nos condutores - o Efeito de Joule.

Para o caso particular da Resistência Eléctrica da Cartilagem de Crescimento inferior do fémur do coelho, consideramos o valor médio de 10 K, para a Corrente Contínua, que iremos utilizar na terceira fase deste trabalho experimental.

**ESTUDO DA ESTIMULAÇÃO ELÉCTRICA**

**DA**

**CARTILAGEM DE CRESCIMENTO**

**"IN VIVO"**

## OBJECTIVOS

Após a fase experimental atrás descrita, decidimos juntar os dados obtidos e partir para o que consideramos ser um dos trabalhos mais completos sobre o estudo da estimulação da Cartilagem de Crescimento, atendendo ao conjunto de dados objectivos que obtivemos na primeira e segunda fase de experimentação.

Assim, ao termos concluído ser a corrente eléctrica contínua uma excelente forma de estimulação da C.C., juntamos-lhe os conhecimentos obtidos no estudo da Resistência Eléctrica da mesma e uma vez mais em colaboração com o Departamento de Engenharia Electrotécnica da Universidade do Porto, na pessoa do Prof. Eng. Ventura, iniciamos o projecto de construção de uma fonte de estimulação de corrente contínua.

Para o efeito, e porque era necessário deferir os valores de Intensidade de Corrente, entre os quais iríamos trabalhar, decidimos após consultas efectuadas entre os vários trabalhos conhecidos, serem os valores entre 10 e 20 microAmperes os que garantiam melhores resultados. Valores inferiores a 10 microAm-

peres utilizou Sato (1990), mais concretamente 8 mA, tendo dificuldades em encontrar diferenças significativas entre zonas estimuladas e não estimuladas.

Anteriormente já Brighton, primeiro "in vitro" (1976) e depois "in vivo" (1983) experimenta a influência da corrente eléctrica contínua sobre a Cartilagem de Crescimento. Quanto aos ensaios "in vitro", foram estimulados modelos de C.C. de ratos, (união condrocostal da 5ª à 10ª costela). Estas preparações de cartilagem foram estimuladas por correntes desde 0 a 3000 V/cm, considerando os autores que os valores para os quais foram mais significativas as alterações encontradas, rondaram os 1500 V/cm. Pensamos serem estes valores perfeitamente irrealis, pois são obtidos sem contar com a Impedância das zonas estimuladas e consideram como parâmetros de medida das alterações do crescimento, factores que no mínimo eram já ultrapassados para a época, nomeadamente a capacidade de incorporação de Cálcio e da Timidina Triteriada. Ainda "in vitro", são de referir os trabalhos do mesmo autor (1988,1989) sobre a estimulação de condrócitos da C.C. de bovinos. Okihana (1988), estuda a influência da corrente contínua sobre grupos de células da C.C.,

Quanto à experimentação "in vivo", como já referimos, são pioneiros os trabalhos de Wilson (1956 e 1970), que serviram de inspiração para a primeira fase do nosso trabalho, sendo embora carentes de rigor científico, têm o mérito de terem iniciado esta "cruzada" no sentido de obter aumentos de comprimento, através de estímulos externos sobre a C.C.

É contudo nas décadas mais recentes, que encontramos trabalhos com interesse, quanto à estimulação da C.C. por uma corrente contínua: Brighton (1976,1983), Forgon (1985), Armstrong (1986) e mais recentemente como também já referimos, Sato (1990).

Os valores de intensidade de corrente utilizados, variaram entre 0,1 e 20 mA, durante períodos de tempo de 24 H a 6 semanas. Não há unanimidade de critérios de avaliação, nem quanto à "intensidade de corrente ideal" de estimulação nem quanto ao tempo necessário para a conseguir.

Uma vez mais, constatamos não aparecer em qualquer destes trabalhos, uma única referência à Resistência Eléctrica da Cartilagem de Crescimento.

## **MATERIAIS**

### **1 - Fonte de Estimulação**

De colaboração com o Dep. de Eng. Electrotécnica da Univ. do Porto, começamos a estudar a possibilidade de construir um protótipo de estimulador eléctrico, que levando em linha de conta, os dados obtidos com a determinação da Resistência da C.C., pudesse reunir um conjunto de características condizentes com o tipo de experimentação que pretendíamos efectuar.

Era importante que o mesmo fosse de pequenas dimensões e que desse garantias de fornecer, sem qualquer tipo de variação, sempre a mesma intensidade de corrente.

Foi construído um primeiro protótipo, que embora de reduzidas dimensões, do ponto de vista dos componentes electrónicos, era alimentado por uma pilha alcalina de 9V do tipo (Fig.51) que, pelo seu volume e peso se revelou ineficaz, quanto à possibilidade de se manter presa ao dorso dos animais de experiência.

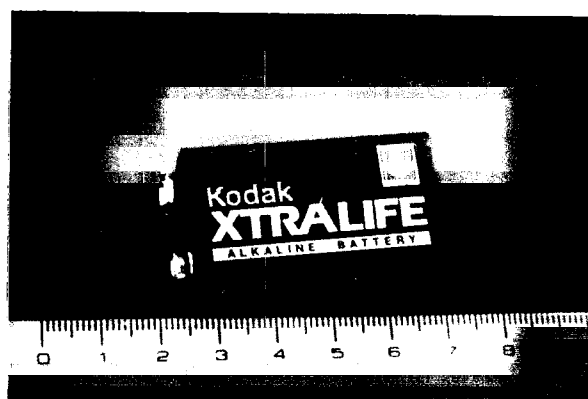


Fig. 51

Também a segunda tentativa, não obteve sucesso (Fig.52) pois, embora já fosse de reduzidas dimensões (28,2 x 21,3 x 18,5mm), o tipo de transistor utilizado obrigava à sua instalação na vertical (Fig. 53), aumentando a altura do aparelho e tornando-o mais vulnerável aos danos causados pela agressão do próprio animal de experiência.

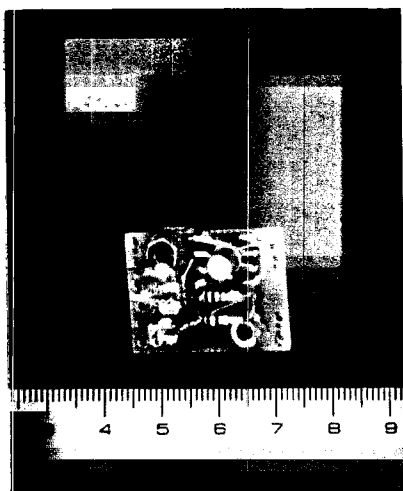


Fig. 52

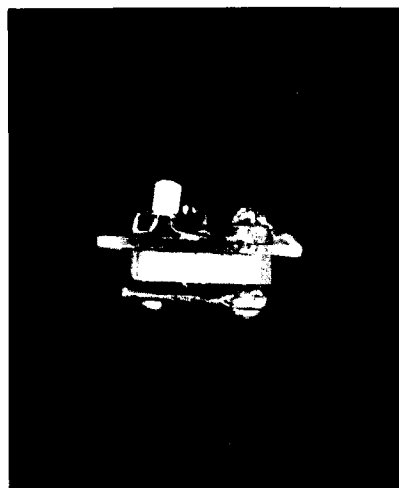


Fig. 53

Finalmente, no terceiro protótipo construído, encontramos todas as qualidades que considerávamos imprescindíveis para o rigor e êxito do trabalho (Fig. 54).

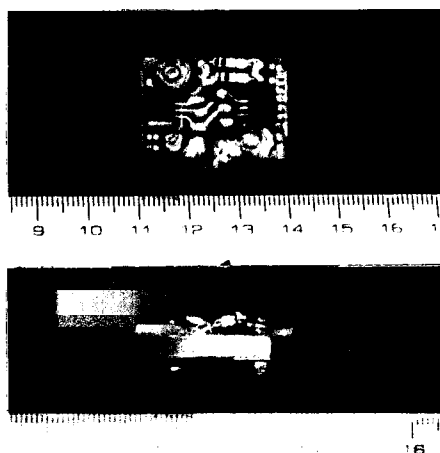


Fig. 54

Este protótipo de (25,6 x 19,8 x 12mm), tinha um circuito impresso em placa de fibra de vidro com duas faces distintas, no qual foram montados os vários componentes nomeadamente:

Face Superior: 2 transístores G.S.D. - F 245A (fig. 55 A)

2 Resistências (fig. 55 B)

2 saídas de corrente - pólo + (fig. 55 C)

- pólo - (fig. 55 D)

1 saída para controlo de Voltagem (fig. 55 E)

Face Inferior: Suporte para a fonte de alimentação (fig. 56 A)

Fontes de alimentação: 2 pilhas de Lithium Panasonic CR 1220 (fig. 56 B)

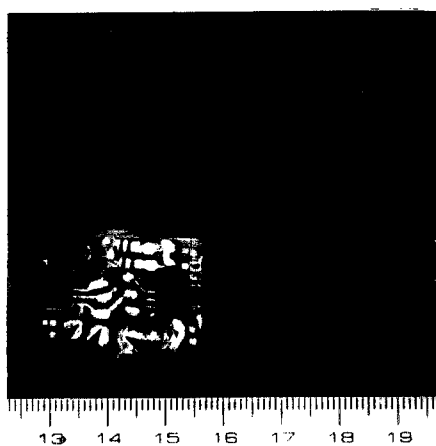


Fig. 55

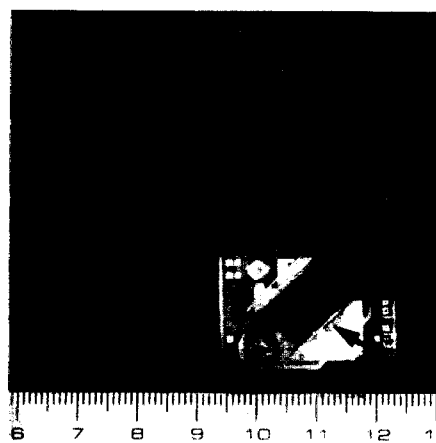


Fig. 56

De acordo com o previamente estabelecido, foram construídos vários protótipos debitando respectivamente 10, 15 e 20 microAmperes, que designamos Tipo **I**, **II** e **III**.

## 2 - Animal de Experiência

Foram a exemplo dos trabalhos anteriores, utilizados coelhos da raça doméstica, com idades entre as 4 e as 6 semanas.

## MÉTODOS

Os animais de experiência, foram anestesiados com "katalar" IM, na dose de 50 mg/Kg de peso.

Após o acto anestésico foi abordada a extremidade inferior do fémur Dt., pelo seu lado externo e efectuadas as furagens necessárias à introdução dos eléctrodos (Fig. 57).



Fig. 57

Os mesmos eram constituídos pelo próprio fio condutor preparado de modo a que só houvesse passagem de corrente no interior do osso (Fig. 58). Ao serem ajustados, podíamos verificar a impossibilidade de passagem de corrente, que não fosse através da C.C., uma vez que não havia exteriormente á zona estimulada qualquer parte do fio condutor visível (Fig. 59).



Fig. 58



Fig. 59

Em todos os animais, após a introdução dos eléctrodos, foram os fios condutores passados subcutâneamente até à parte anterior do dorso dos mesmos (Fig.60) e fixados através de fios de sutura às apófises espinhosas (Fig. 61).



Fig. 60



Fig. 61

Todos os animais tiveram durante o período de estimulação, uma jaula individual, de modo a não haver deterioração dos eléctrodos ou fontes de estimulação, provocada pelo contacto com outros animais. Houve também o cuidado de dar a todos os animais o mesmo tipo de alimentação.

O tempo médio de duração das várias experiências foi de quatro semanas, sendo todos os animais radiografados após o acto de introdução dos eléctrodos e após a necrópsia (Fig. 62-63).



Fig. 62

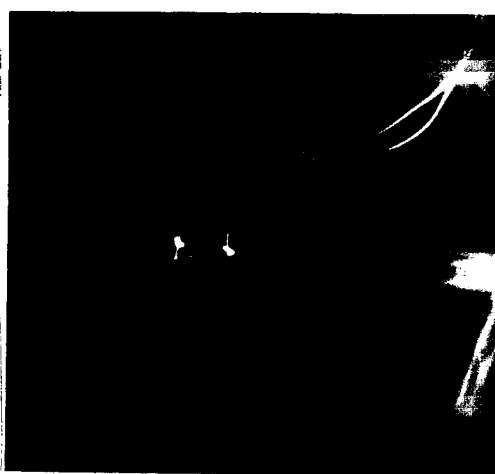


Fig. 63

Foram operados sempre grupos de 3 animais, provenientes da mesma "ninhada", sendo colocados estimuladores de 10, 15 e 20 mA. (Tipo I, II e III respectivamente), sendo efectuadas 4 séries completas.

Dada a experiência adquirida aquando da primeira fase experimental, não tivemos desta vez qualquer intercorrência no decorrer das quatro semanas. Pensamos ter contribuído para isso, o facto de termos utilizado jaulas individuais e de todos os animais

terem efectuado cobertura antibiótica (Penicilina) durante todo o tempo da estimulação.

Após a necrópsia foram retirados de cada animal os dois fêmures, que depois de cuidadosamente limpos (Fig. 64), foram medidos com o auxílio de um micrótomo (Fig. 65), radiografados (Fig. 66 e 67) e preparados para os cortes histológicos (5 para cada C.C.).

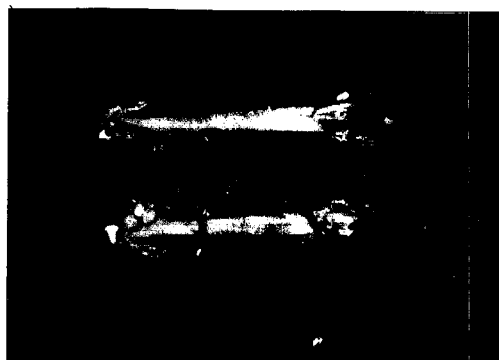


Fig. 64

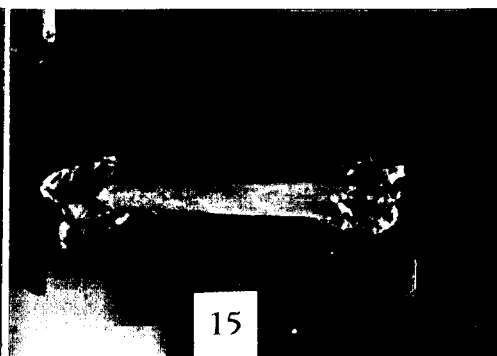


Fig. 65

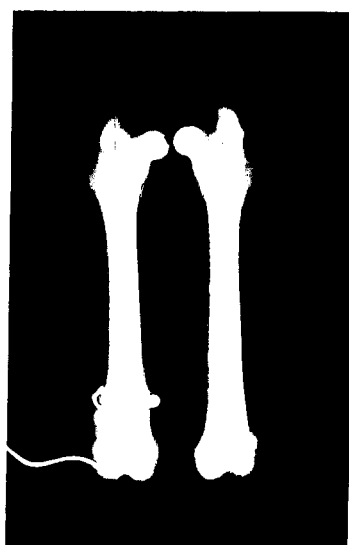


Fig.66

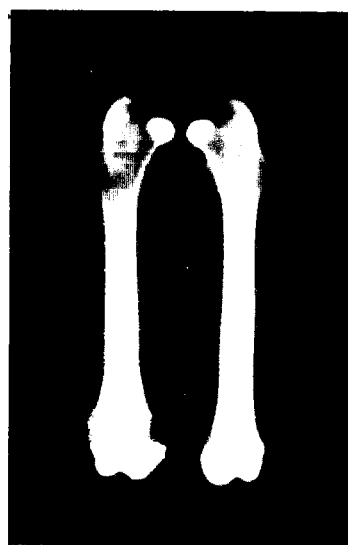


Fig.67

Neste campo queremos também agradecer a colaboração prestada pelo Departamento Técnico da Faculdade de Medicina Dentária, onde efectuamos os cortes para futura observação microscópica.

Do ponto de vista Microscópico, foram estudados tal como para a primeira fase de experiências:

- A) Média dos Núcleos empilhados da Zona Proliferativa
- B) Média da Espessura de "Osso Novo" (1/10 mm)
- C) Média da Espessura Total da Cartilagem (1/10 mm)

**GRUPO I**

Estimulador de 10 mA

Quatro animais de experiência

**Análise Macroscópica**

Após cuidadosa limpeza, todos os fêmures foram medidos com o auxílio de um micrômetro (Fig. 68 e 69), tendo sido encontrados os seguintes valores:

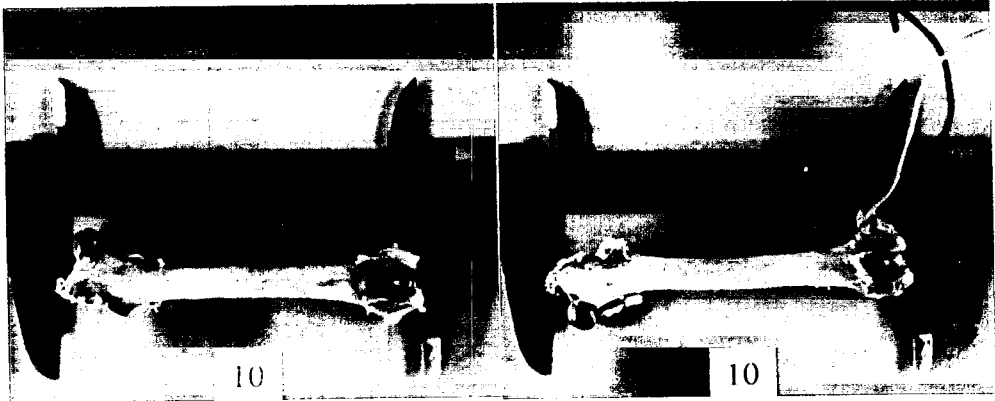


Fig. 68

Fig. 69

|              | Estimulado    | N/Estimulado  |
|--------------|---------------|---------------|
| Animal 1     | 8,64          | 7,99          |
| Animal 2     | 8,35          | 6,90          |
| Animal 3     | 8,85          | 7,27          |
| Animal 4     | 8,37          | 7,41          |
| <b>Média</b> | <b>8,5525</b> | <b>7,3925</b> |

Aumento de comprimento = 1,16 mm

A análise deste quadro leva-nos a concluir não serem de valorizar os aumentos de comprimento obtidos, já que os mesmos são perfeitamente sobreponíveis aos encontrados com as Furagens Simples durante a primeira fase deste trabalho. Daí se poder concluir que os 10 mA empregues serão de valor idêntico à carga eléctrica presente no osso vivo e relacionada com as forças de pressão que as condicionam, podendo perfeitamente os aumentos verificados estarem relacionados com a "agressão cirúrgica", ocorrida aquando das furagens.

#### Análise Microscópica



Fig. 70 - Estimulado

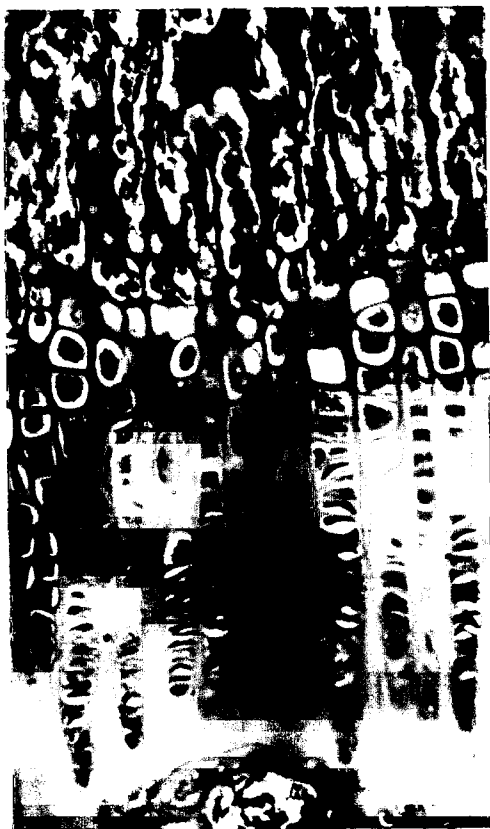


Fig. 71 - N/ Estimulado

**A) - Média de núcleos empilhados**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/ Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|----------------------|
| Animal 1     | 18                | 17                   |
| Animal 2     | 17                | 17                   |
| Animal 3     | 16                | 16                   |
| Animal 4     | 17                | 16                   |
| <b>Média</b> | <b>17</b>         | <b>16,5</b>          |

Diferença = 0,5

Não há portanto qualquer aumento de actividade da Zona proliferativa aquando da utilização de correntes de 10mA, o que vem de encontro aos dados já obtidos nas medições obtidas nas peças anatómicas.

**B) - Espessura de “osso novo” ou “neoformado”**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/ estimulado</b> |
|--------------|-------------------|----------------------|
| Animal 1     | 1,35              | 1,00                 |
| Animal 2     | 1,38              | 1,10                 |
| Animal 3     | 1,17              | 0,92                 |
| Animal 4     | 1,30              | 1,10                 |
| <b>Média</b> | <b>1,30</b>       | <b>1,03</b>          |

Diferença = 0,27 mm

Pensamos que as diferenças encontradas continuam a não ser significativas, do ponto de vista do aumento de compri-

mento, mas não deixam de poder ser relacionadas com as alterações encontradas aquando da estimulação por uma agressão cirúrgica ou fractura.

### C - Média de espessura total da cartilagem (1/10mm)

|              | Estimulado  | N/Estimulado |
|--------------|-------------|--------------|
| Animal 1     | 4,10        | 4,00         |
| Animal 2     | 4,00        | 4,05         |
| Animal 3     | 4,20        | 4,00         |
| Animal 4     | 3,70        | 3,75         |
| <b>Média</b> | <b>4,00</b> | <b>3,95</b>  |

Diferença = 0,05 mm

### Conclusões:

Quando são utilizadas correntes de 10mA não são valorizáveis, do ponto de vista da Estimulação Eléctrica, os dados obtidos já que os mesmos são sobreponíveis aos que se encontram aquando da simples estimulação através de furagens justa-articulares. Efectivamente os pequenos aumentos encontrados, não traduzem qualquer tipo de estimulação da C.C., pois não houve interferência de valor mensurável sobre a capacidade de crescimento da Cartilagem, traduzida pelo aumento do número de núcleos da Camada Proliferativa.

**GRUPO II**

Estimulador de 15 mA  
4 Animais de Experiência

**Análise Macroscópica**



Fig. 72- Estimulado

Fig. 73 - N/ Estimulado

Diferença de comprimento medida com micrômetro

|          | Estimulado | N/Estimulado |
|----------|------------|--------------|
| Animal 1 | 9,37       | 6,61         |
| Animal 2 | 9,36       | 6,62         |
| Animal 3 | 10,04      | 7,50         |
| Animal 4 | 10,63      | 8,43         |
| Média    | 9,85       | 7,29         |

Diferença = 2,56 mm

## **Análise Microscópica**

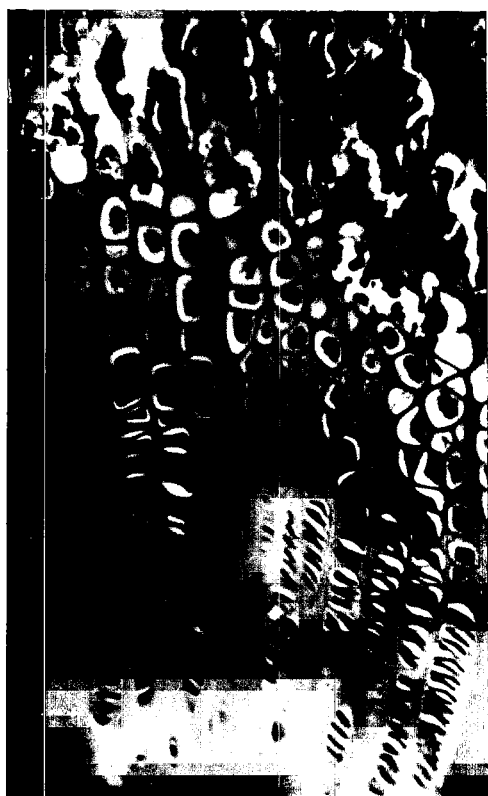


**Fig. 74 - Estimulado**



**Fig. 75 - N/ Estimulado**

### **A - Número de Núcleos Empilhados da Zona Proliferativa**

Do ponto de vista microscópico também se começam a notar as alterações já observadas aquando da medição macroscópica, que apontam claramente para uma estimulação efectiva

da Cartilagem de Crescimento quando empregamos correntes da ordem dos 15 mA.

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 18                | 14                  |
| Animal 2     | 19                | 13                  |
| Animal 3     | 20                | 15                  |
| Animal 4     | 19                | 14                  |
| <b>Média</b> | <b>19</b>         | <b>14</b>           |

Diferença = 5

**B - Espessura de “osso novo” ou “neoformado” (1/10mm)**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 2,10              | 1,30                |
| Animal 2     | 2,00              | 1,40                |
| Animal 3     | 2,40              | 1,90                |
| Animal 4     | 2,50              | 1,60                |
| <b>Média</b> | <b>2,25</b>       | <b>1,55</b>         |

Diferença = 0,70 mm

Também aqui se nota uma influência significativa na estimulação da Cartilagem de Crescimento, sendo de notar que o aumento de osso neoformado, se nos apresenta de uma forma ordenada e principalmente não aparentando qualquer tipo de “desorganização” da C.C. no seu todo. A medular junto ao osso neoformado aparece “reactiva” e sem sinais de necrose (Fig. 76).

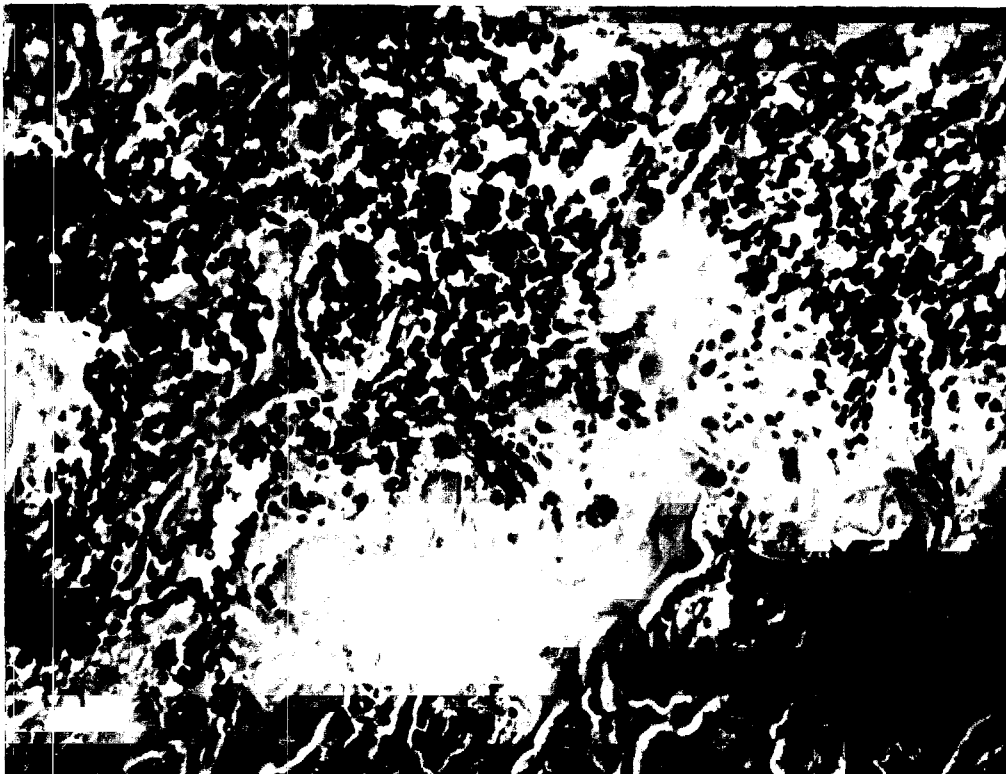


Fig. 76

**C - Média da Espessura Total da Cartilagem de Crescimento  
(1/10mm)**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 4,50              | 3,50                |
| Animal 2     | 4,00              | 2,50                |
| Animal 3     | 5,00              | 3,30                |
| Animal 4     | 4,50              | 3,50                |
| <b>Média</b> | <b>4,50</b>       | <b>3,20</b>         |

Diferença = 1,30 mm

**Conclusões:**

Neste grupo em que foram utilizados estimuladores com correntes da ordem dos 15 mA, do ponto de vista microscópico constatou-se numa análise global que:

1) A espessura e constituição da Cartilagem de Crescimento é muito diferente, consoante se trate de "ossos estimulados" e "ossos não estimulados", havendo aumento significativo da espessura de osso neoformado.

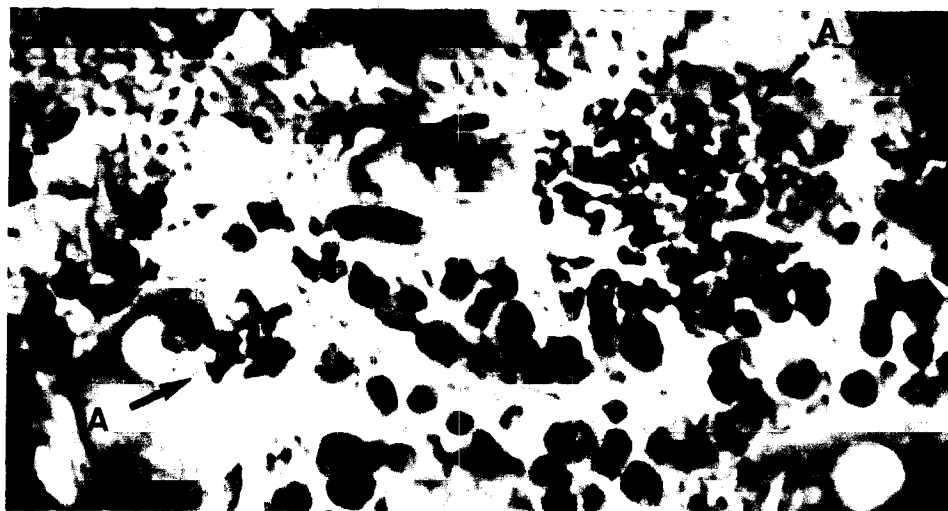


Fig. 77

2) Começam a aparecer algumas reacções de intolerância traduzidas pela presença de granulomas de corpo estranho, células gigantes multinucleadas (Fig. 77-A).

### GRUPO III

Estimulador de 20 mA

4 Animais de experiência

#### Análise Macroscópica

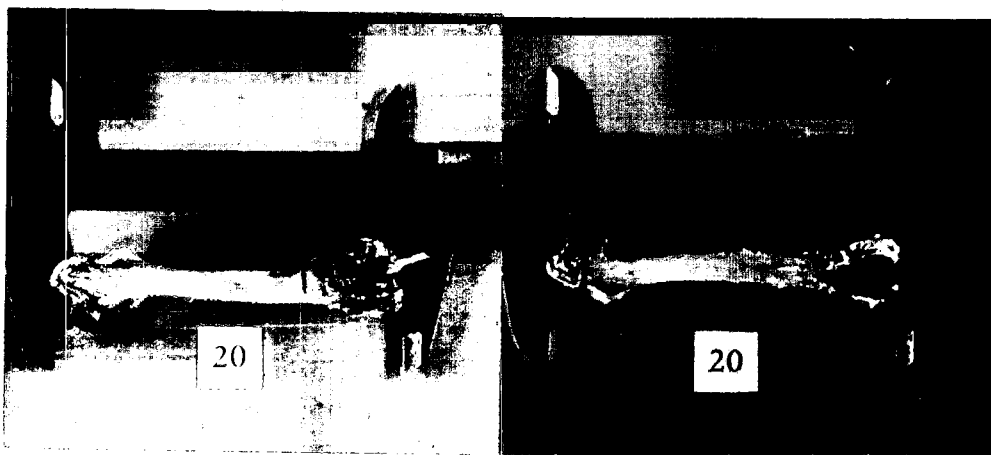


Fig. 78

Fig. 79

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 8,60              | 7,10                |
| Animal 2     | 8,30              | 7,00                |
| Animal 3     | 8,90              | 7,10                |
| Animal 4     | 9,60              | 7,60                |
| <b>Média</b> | <b>8,85</b>       | <b>7,20</b>         |

Diferença = 1,65 mm

Macroscopicamente, não parece haver diferença significativa entre ossos “estimulados” e “não estimulados”, no que respeita ao aumento de comprimento. Contudo nota-se uma certa deformação de toda a zona metáfiso/epifisária, que aparece mais larga e algo deformada (Fig. 80). Esta aumento de espessura, está provavelmente relacionado com alterações histológicas encontradas ao longo de toda a zona metafisária, nomeadamente fenómenos de necrose celular e verdadeiras reacções de corpo estranho.



Fig. 80

### Análise Microscópica



Fig. 81 - Estimulado



Fig. 82 - N/ Estimulado

#### A - Número de Núcleos Empilhados da Zona Proliferativa

Houve necessidade de recorrer à contagem em vários cortes da mesma preparação, de modo a se encontrarem valores para todas as séries, o que foi bastante difícil devido à presen-

ça de numerosas zonas com trabéculas ósseas necrosadas envolvidas por linfócitos infiltrados (Fig. 83 - N).

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 17                | 15                  |
| Animal 2     | 16                | 16                  |
| Animal 3     | 17                | 16                  |
| Animal 4     | 19                | 17                  |
| <b>Média</b> | <b>17,25</b>      | <b>16</b>           |

Diferença = 1,25

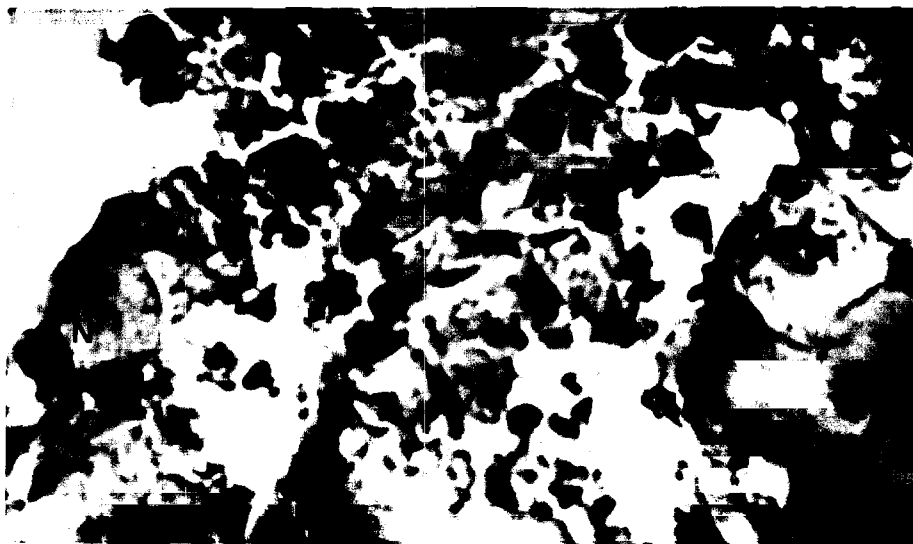


Fig.83

Conforme o quadro demonstra, quanto ao nº de núcleos da Zona Proliferativa a diferença entre "estimulado" e "não estimulado", não tem valor digno de se lhe atribuir qualquer significado.

**B - Espessura de "osso novo" ou "neoformado" (1/10mm)**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 1,50              | 1,30                |
| Animal 2     | 1,60              | 1,50                |
| Animal 3     | 1,40              | 1,20                |
| Animal 4     | 1,50              | 1,20                |
| <b>Média</b> | <b>1,50</b>       | <b>1,30</b>         |

Diferença = 0,20 mm

Como se pode comprovar pelos dados obtidos, é praticamente nula a produção de "osso novo" e é notória a desorganização da Cartilagem de Crescimento, sendo necessário a exemplo das contagens anteriores neste Grupo, percorrer vários pontos de cada preparação, para conseguir obter um número significativo de valores, que pudessem dar uma média estatisticamente correcta.

**C - Média da Espessura Total da Cartilagem de Crescimento**

|              | <b>Estimulado</b> | <b>N/Estimulado</b> |
|--------------|-------------------|---------------------|
| Animal 1     | 3,80              | 3,60                |
| Animal 2     | 3,50              | 3,10                |
| Animal 3     | 3,70              | 3,30                |
| Animal 4     | 3,80              | 3,60                |
| <b>Média</b> | <b>3,70</b>       | <b>3,40</b>         |

Diferença = 0,30 mm

Do ponto de vista global, não se encontram diferenças significativas entre “estimulados” e “não estimulados”, constata-se no entanto, como dado importante, a presença de necrose óssea asséptica maciça.

## APRECIAÇÃO GLOBAL DOS RESULTADOS OBTIDOS

### 1- Dados Macroscópicos

Vamos começar por fazer uma observação de conjunto entre os valores obtidos macroscopicamente, nos três grupos estudados.

|           | Estimulado | N/Estimulado | Diferença (mm) |
|-----------|------------|--------------|----------------|
| GRUPO I   | 8,55       | 7,39         | 1,16           |
| GRUPO II  | 9,85       | 7,29         | 2,56           |
| GRUPO III | 8,85       | 7,20         | 1,65           |

A análise deste quadro, é claramente favorável ao Grupo em que foram utilizados estimuladores com 15 mA de intensidade de corrente o que nos leva a concluir, pelo menos do ponto de vista macroscópico, ser esta a intensidade de corrente ideal para obter, com um mínimo de alterações estruturais, um máximo de aumento de comprimento.

Ainda do ponto de vista macroscópico, enquanto que no Grupo I (10 mA), são mínimas as alterações visíveis ao nível da zona justa-medular estimulada, mantendo-se uma espessura

idêntica à do lado não estimulado, nos Grupos II e III já tal não acontece.

Efectivamente, se podemos considerar que no Grupo II (15 mA) as alterações de forma encontradas apresentam macroscopicamente um aumento proporcional, quer no sentido longitudinal, quer transversal, no Grupo III (20 mA) observamos um espessamento no sentido transversal superior aos anteriores, claramente metafisário, cuja origem estará relacionada com os fenómenos de necrose que aí têm lugar, histologicamente comprovados na Fig. 83.

Se bem que os valores obtidos macroscopicamente tenham pouco valor científico, atendendo à relativa falibilidade do seu processo de medida, não deixam contudo de ter significado, pois o facto de serem "paralelos", em valor relativo, aos dados microscópicos, acaba por valorizar ainda mais estes últimos.

## **2- Dados Microscópicos**

A apreciação global do quadro correspondente, leva-nos a concluir que não têm interesse do ponto de vista da estimulação da Cartilagem da Crescimento, valores de intensidade de corrente, que se afastem dos 15 mA, pois para além de não corresponderem a resultados valorizáveis, condicionam, no caso dos 20 mA alterações da forma e conteúdo da C.C., traduzidas pela desorganização da sua estrutura normal e pela presença de zonas de necrose asséptica.

Quadro Global

|       | A     |        | B    |        | C    |        |
|-------|-------|--------|------|--------|------|--------|
| Grupo | Est.  | N/Est. | Est. | N/Est. | Est. | N/Est. |
| I     | 17,00 | 16,50  | 1,30 | 1,03   | 4,00 | 3,95   |
| II    | 19,00 | 14,00  | 2,25 | 1,55   | 4,50 | 3,20   |
| III   | 17,25 | 16,00  | 1,50 | 1,30   | 3,70 | 3,40   |

A - Média de núcleos empilhados da Zona Proliferativa

B - Média de espessura de "osso novo" (1/10 mm)

C - Média de espessura total da cartilagem (1/10 mm)

Vamos passar a analisar estes parâmetros:

#### **A - Média de Núcleos Empilhados (Camada Proliferativa)**

Consideramos não serem de valorizar os resultados obtidos nos Grupos I e III, no que respeita à actividade "formadora" da Cartilagem de Crescimento, uma vez que não apresentam diferenças significativas, (Grupo I – 1/2 núcleo, Grupo III – 1 e 1/4 de núcleo). Contudo acabam por ser valorizados pela negativa ou seja, conseguimos demonstrar a ineficácia destas intensidades de corrente, como forma de conseguir a estimulação da C.C., ao contrário do que já afirmaram outros autores, aos quais podemos contrapor o rigor científico inquestionável do nosso trabalho, nomeadamente após termos calculado o valor da Resistência eléctrica da C.C.

### **B - Média de Espessura de “osso novo”**

Os resultados obtidos para o Grupo II, são o reflexo das constatações anteriores pois logicamente, ao maior número de núcleos na camada proliferativa, corresponde um aumento proporcional de “osso neoformado”. No Grupo III, ao aumento de espessura de “osso novo”, não corresponde diferença proporcional no número de núcleos empilhados da zona proliferativa, provavelmente pela presença de factores estranhos ao crescimento, como sejam a necrose óssea e a diminuição da actividade medular metafisária.

### **C - Média de Espessura Total da Cartilagem**

Trata-se aqui de juntar os dados anteriores e verificar sequencialmente o resultado obtido com cada valor de estimulação. Salientamos uma vez mais, as qualidades do estimulador que utilizou 15 mA, com o qual os resultados conseguidos foram francamente animadores.

## **Anatomia - Patológica**

### **Comentário**

Anatomo-patologicamente a Cartilagem de Crescimento, ao ser estimulada por uma corrente eléctrica contínua, reage de forma diferente, em função da intensidade da mesma.

Atendendo aos resultados obtidos, verifica-se que quando se utilizam correntes de 10 mA não há qualquer interferência sobre a estrutura normal das C.C. (Fig. 70 e 71), bem como a medular justa-epifisária se apresenta normal quanto à sua actividade.

Os grupos de animais em que foram utilizadas correntes de 20 mA, revelam nas diversas camadas da C.C., alterações estruturais, traduzidas por uma certa desorganização da mesma, inclusivamente no lado não estimulado (Fig. 81 e 82). Também ao nível metafisário encontramos alterações medulares com sinais de "pouca estimulação" (Fig. 84), bem como lesões de necrose óssea (Fig. 83).

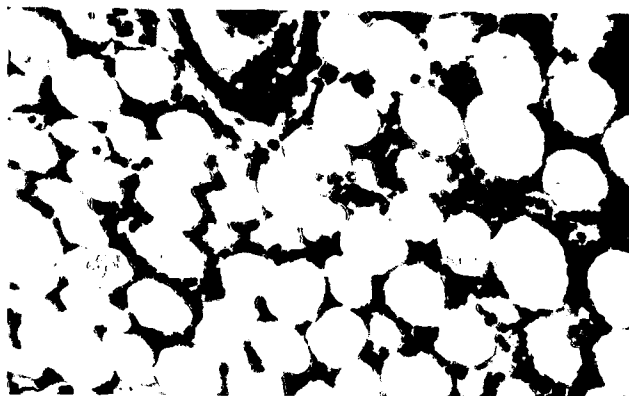


Fig. 84

Quanto ao Grupo II são relevantes, do ponto de vista anato-patológico, as alterações encontradas a todos os níveis da estrutura da Cartilagem de Crescimento;

1- claro aumento da sua capacidade produtiva, comprovada em todos os parâmetros que medimos.

2- estrutura das camadas que a constituem pouco ou nada alterada.

3- medula com francos sinais de estimulação (Fig. 85).

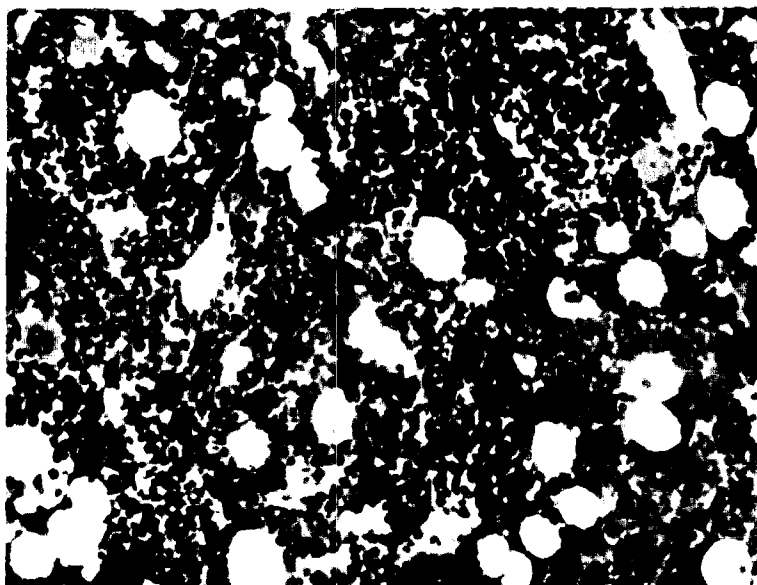


Fig. 85

## CONCLUSÕES

Sendo a Cartilagem de Crescimento a estrutura responsável pelo desenvolvimento ponderal do Homem, constituiu para nós um desafio aliciante o seu estudo, de forma a contribuir ainda que modestamente para o seu melhor conhecimento.

O facto de termos traçado um projecto, que à partida, nos pareceu demasiado ambicioso e o termos conseguido levar a bom termo, constituiu só por si uma recompensa bem cara e gratificante.

Como conclusões deste trabalho, salientámos:

A estrutura da Cartilagem de Crescimento, é realmente uma *"unidade"* de transformação rica em trabalho productivo e também exigente quanto aos materiais que emprega na sua *"laboração"*, com o objectivo de obter um *"producto acabado"* de qualidade.

O que procuramos estudar neste trabalho, foi toda esta *"linha de montagem"*, começando por tentar compreender a *"unidade"* no seu todo, perceber a *"técnica de fabrico"* e procurar a forma de contribuir, não só para um aumento da quantidade do *"producto final"*, mas também que o mesmo fosse de qualidade.

## **1º - Estrutura da Cartilagem de Crescimento**

### *"Unidade de transformação"*

Apresenta-se-nos com uma diferenciação tão acentuada que ao analisarmos detalhadamente a sua estrutura e ponderando os resultados obtidos na parte experimental, somos levados a concluir que a *"unidade central de transformação"*, se encontra colocada na Camada Proliferativa, dependendo do número de núcleos empilhados da mesma, a sua capacidade de produção.

Consideramos como dado adquirido, que comparando duas Cartilagens de Crescimento simétricas do mesmo animal, podemos considerar como estimulada no sentido do aumento de comprimento, a que tiver maior número de núcleos empilhados. A determinação da média dos mesmos deve contemplar pelo menos 20 contagens em cada preparação histológica.

## **2º - Células Produtoras**

### *"Matéria prima"*

São as células da Camada Proliferativa, que verdadeiramente constituem a *"matéria prima"*, da unidade de transformação, sendo a mesma quantificada pelo nº de células de cada coluna. Estruturalmente não há diferenças quando comparamos o

Lado Estimulado (10 e 15 mA) com o Não Estimulado. Verifica-se desorganização quanto à disposição colunar do Lado Estimulado (20 mA), traduzindo influências exógenas bem codificadas, nomeadamente, infecções, isquemia, lesões traumáticas e acção directa da intensidade de corrente utilizada.

### **3º - Estimulo da Cartilagem de Crescimento**

*"Aumento da capacidade de produção da unidade"*

Sendo o objectivo deste trabalho, foram os resultados obtidos uma agradável recompensa para os esforços desenvolvidos ao longo de todos estes anos.

Assim, somos levados a concluir que com interacções eléctricas e ou electromagnéticas, podemos influenciar positivamente a Cartilagem de Crescimento, variando os resultados obtidos com a tensão de corrente aplicada.

Quanto à influência pelos campos electromagnéticos, a mesma tem lugar na Zona de Ossificação Encondral, traduzindo-se por um aumento da quantidade de "osso novo", sem relação com igual aumento do número de núcleos empilhados da zona proliferativa. Trata-se portanto de um tipo de influência claramente metafisária, que embora levando a um aumento total da espessura da Cartilagem de Crescimento, não interfere directamente sobre a sua capacidade de produção. Aliás, as qualidades osteogénicas dos Campos Electromagnéticos estão perfeitamente demonstradas e daí a sua aplicação no acelerar da consolidação de algumas fracturas.

Os objectivos do nosso trabalho foram conseguidos sequencialmente em 3 fases experimentais:

**1ª-** Utilizando desde os materiais inertes como o silastic, até outros portadores de interacções electromagnéticas e ou eléctricas, concluímos serem estes últimos os que interferiam mais significativamente sobre a actividade produtiva da Cartilagem de Crescimento.

**2ª-** Aparece como ponto de ligação entre a 1ª e a 3ª fase, na sequência das deficiências encontradas na 1ª e no sentido de dar rigor científico à 3ª fase, constituindo a determinação da resistência eléctrica da Cartilagem de Crescimento, uma contribuição original e inédita deste trabalho.

**3ª-** Apoiada nas duas anteriores e utilizando estimuladores com intensidades de corrente de 10, 15 e 20 mA, conclui ser o valor intermédio (15 mA), aquele que com um mínimo de alterações da estrutura da Cartilagem de Crescimento e regiões vizinhas, condiciona maior estimulação da mesma. A análise dos resultados obtidos leva-nos a concluir que são de desprezar em futuras aplicações, embora por razões diferentes, os valores extremos de 10 e 20 mA.

**a)** Quanto aos 10 mA, todos os dados apontam para uma quase ausência de estimulação, acompanhada de alterações mínimas da estrutura da C.C., quer na sua forma, quer no seu conteúdo.

**b)** Em relação às correntes de 20 mA, as mesmas para além de não proporcionarem estimulação da C.C., condicionam

modificações estruturais importantes e que por si só são impeditivas da sua utilização pois, desde os fenómenos de necrose óssea até à completa desorganização da C.C. tudo podemos constatar. Pensamos mesmo que alguns dos resultados, de outros autores, podem ser questionados quanto ao seu rigor, pois não levaram em linha de conta o cálculo por nós efectuado da Resistência Eléctrica da C.C., valor este que modifica por completo a "quantidade" de corrente eléctrica que atravessa em dado momento a C.C.

Por último, a referência à nossa "joia da coroa", os 15 mA como intensidade de corrente ideal de estimulação. Face aos resultados obtidos se conclui ser esta a intensidade de corrente ideal, se pretendermos com segurança estimular uma Cartilagem de Crescimento. Obtivemos valores que entusiasma a continuação deste estudo, mas agora procurando construir estimuladores com possibilidades de aplicação prática no Homem.

Pensamos pois ser possível a aplicação deste método às pequenas dismetrias nas crianças, estando neste momento a ser desenvolvido no Departamento de Engenharia Electrotécnica da Universidade do Porto, um projecto de estimulador que tendo sido "pensado" para utilização humana, será realizado em materiais de reconhecida tolerância pelo organismo e com a possibilidade de ser esterilizado.

Dado estar já salvaguardada, do ponto de vista deontológico a utilização da corrente eléctrica para fins terapêuticos no homem (Maio 1979), iremos desenvolver este projecto que tem as suas bases científicas nos dados deste trabalho experimental.

O rigor e valor científico do mesmo, acaba por se apoiar nas conclusões a que chegamos durante a fase final deste trabalho, fundamentalmente pela determinação dos critérios de avaliação do grau de estímulo da Cartilagem de Crescimento e que acabam também por constituir um parâmetro de valorização deste estudo experimental.

## BIBLIOGRAFIA

ALBERTY, A.; PELTONEN, J.; RITSICA, V. - *Distraction effects of the physis in rabbits.*

*Act. Orthop. Scand.* 61: 258 - 262, 1990.

ALBERTY, A. - *Effects of physeal distraction on the vascular supply of the growth area: A microangiographical study rabbits.*

*J. Ped. Orthop.* 13: 373 - 377, 1993.

ALEXANDRE STEVENS - *Translation of Boyer's treatise in Surgica Diseases and the operations.*

New York, 1816.

ANDERSON, W.V. - *Leg lengthening.*

*J.B.J.S.*, 34-B: 150, 1962.

ANDERSON, M.; GREEN, W.T.; MESSNER, M.B. - *Growth and predictions of growth in lower extremities.*

*J.B.J.S.*, 45-A: 1 - 14, 1963.

ANDERSON, W.V. - *Lengthening of the lower limb: Its place in the problems of limb length discrepancy.*

*In Graham, W.D. (ed). Modern Trends in Orthopedics, Vol V, London 1967.*

ANDERSON, J.C. and ERIKSON, C. - *Electrical properties of wet collagen.*

*Nature*, 218:166 - 168, 1968

ANDERSON, J.C.; ERIKSSON, C. - *Piezoelectric properties of dry and wet bone.*

*Nature*, 227: 491 - 492, 1970.

ARGUELLES; GARCIA PENALVA; GOMAR SANCHE; ESQUERDO - *Estudio experimental sobre los efectos de la radiation gamma en el cartilago articular y fisario em crescimento.*

*Rev. Esp. de Cir. Ort.*, 10: 1 - 23, 1975.

ARKIN, A. M. et KATZ, J. F. - *The effect of pressure on epiphyseal growth.*

*J.B.J.S.* 38-A: 1056 - 1076, 1956.

- ARMSTRONG, P.F. ; BRIGHTON, C.T. - *Failure of the rabbit tibial growth plate to the long term application of a capacitively coupled electrical field.*  
*J. Orthop. Res.* 4: 446-451, 1986
- ARMSTRONG, P.F. ; BRIGHTON, C.T. - *Capacitively coupled electrical stimulation of bovine growth plate chondrocytes grown in pelle form.*  
*J. Orthop. Res.* 6: 265-271, 1988
- BASSETT, C.A.L. et BECKER, R.O. - *Generation of electrial potenciales by bone in response to mechanical stress.*  
*Science*, 137: 1063 - 1064, 1962.
- BASSETT, C.A.L.- *Electrical effects in bone.*  
*Sci. Americ*, 213:18 - 25, 1965.
- BASSETT, C.A.L. - *Biological significance of piezoelectricity.*  
*Calc. Tis. Res.* 1:252, 1968.
- BASSETT, C.A.L. - *Biophysical principles affecting bone structure.*  
*Biochemistry and Physiology of Bone.* - I. Ed. G.H.Bourne. Edit.  
 Academic Press, Ney York, 1971
- BASSETT, C.A.L.; PAWLUK, R.J. and PILLA, A.A. - *Accelaration of fracture repair by electromagnetic fields, a surgically non-invasive method.*  
*Ann. N.Y. Acad. Sci.* 238: 242-577, 1974
- BASTIANI, G.; ALDEGHER, R.; RENZI BRIVIO, L.; TRIVELLA, G.- *Limb leng the-ning by distraction of the epiphyseal plate. A composon of the techeniques in the rabbit.*  
*J.B.J.S. (Br)*, 68 - (4): 545 - 549, 1986.
- BAUNACH, A. - 1935  
*Citado por Goran Sunden, 1967.*
- BECKER, R.O. - *Bioelectric factors in amphillian limb regeneration.*  
*J.B.J.S.* 43: 643, 1961
- BECKER, R.O. ; BASSETT, C.L.A. and BACHMAN, C.H. - *Bioelectric factors controlling bone struture.*  
*Bone Biodynamics* : 209-232, 1964
- BECKER, R.O. - *The significance of bioelectric potenciales.*  
*Bioelectroch. Bioenerg.*, I: 187-199, 1974.

BECKER, R.O.; SPADARO, J.A. and MARINO, A.A.-*Clinical experiences with low intensity direct current stimulation of bone growth.*  
*Clin. Orthop.* 124: 75-83, 1977

BECKER, R.O.; SPADARO, J.A.-*Treatment of orthopaedic infections with electrically generated silver ions.*  
*J.B.J.S.* 60-A, n°7: 871-881, 1978

BECKER, R.O.- *Electrical osteogenesis.*  
*Pro and Concalcified tissue Research*, 26: 93-97, 1978

BECKER, R.O. - *The significance of electrically stimulated osteogenesis. More questions than answers.*  
*Clin Orthop.* 141:266-274, 1979

BELCHIER, J. - 1736  
*Citado por Cañadell.*

BERRENGER FERRAND - 1871 - *Citado por B. Moyen.*

BERTRAND, P. ; TRILLAT, A. - *Le traitement des inégalités de longueur des membres inférieurs pendant la croissance.*  
*Rev. Chir. Orthop.*, 34:264, 1948.

BIERENS-DE-HAAN-B.; WEXLER, M.R.; PORAT, S.; NYSCA, A.; TEITELBAUM,  
*-The effects of cold upon bone growth.*  
*Am. Plastic. Surg.*, Vol.-16: 509 - 515, 1986.

BINDERMAN, I. e Cols. - *Stimulation of skeletal-derived cell cultures by different electric field intensities is cell-specific.*  
*Biochim.-Biophys. Act.*: 273-279, 1985

BIRNSTINGL, M. - *Congenital arteriovenous fistula with increased limb growth.*  
*Proc. Roy. Soc. Med.*: 55:797, 1962.

BLACK, J. - *Strain related potentials in viable human cortical bone.*  
*University of Pensilvania Press, Edit Philadelphia*, 1972.

BLACK, J.- *Tissue response to exogenous electromagnetic signals.*  
*Orthop. Clin. North. Am.*, vol-15:15-31, 1984

BLOUNT - *Control of bone growth by epiphyseal stapling.*  
*J.B.J.S.* 31-A: 464, 1949

- BLOUNT, W.P. and ZEIER, FRANK - *Control of bone length.*  
*J. Am. Med. Ass.*, 148: 451 - 457, 1952.
- BOREL, G. - 1922 - *Citado por Goren Sundén.*
- BOURNE, G.H. - *The biochemistry and physiology of bone.*  
*Academic Press Inc., New York, 1956*
- BRASH, J.C. - 1934 - *Citado por Cañadell*
- BRIGHTON, C.T. e HEPPENSTALL, R.B. - *Oxygen tension in zones of the epiphyseal plate, the metaphysis and diaphyses; an in vitro and in vivo study in rats and rabbits.*  
*J.B.J.S.* 53-A: 719 - 728, 1971.
- BRIGHTON, C.T.; FRIEDENBERG, Z.B. - *Direct current stimulation of non union and congenital pseudarthrosis.*  
*J.B.J.S.* 57-A: 366-377, 1975
- BRIGHTON, C.T.; CRONKEY, J. and OSTERMAN, A.L. - *In vitro epiphyseal growth plate in various constant electrical fields.*  
*J.B.J.S.* 58-A: 971- 978, 1976
- BRIGHTON, C.T.; FRIEDENBERG, Z.B.; MITCHELL, E.I. et BOOTH. R.E. - *Treatment of non-union with constant direct current.*  
*Clin. Orthop.* 124:106-123, 1977
- BRIGHTON, C. T. - *Structure and function of the growth plate.*  
*Clin. Orthop.*, 136: 22 - 32, 1978
- BRIGHTON, C.T. and Cols. - *Electrically induced osteogenesis: Relationship between charge, current density and the amount of bone formed: Introduction of a new cathode concept.*  
*Clin. Orthop.* 161:122- 132, 1981
- BRIGHTON, C.T.; PFEFFER, G.B.; POLLACK, S.R. - *In vivo growth plate in various capacitively couple electrical fields.*  
*J. Orthop. vol.-1:* 42-49, 1983
- BRIGHTON, C.T. ; JENSEN, L. ; CLARK and cols. - *Proliferative and synthetic response of bovine growth plate condrocytes to various capacitively coupled electrical fields.*  
*J. Orthop. Res. vol.-7:* 759-765, 1989

- BROCA. - *Les aneurysmes et leur traitement.*  
Paris, 1856 - Citado por Goran Sunden
- BRONDIN, H. - *Longitudinal bone growth, the nutrition of the epiphyseal cartilages and the local blood supply. An experimental study in the rabbit.*  
*Act. Orthop. Scand. Supl. 20, 1955.*
- BUCH, F.; ALBREKTSSON, T.; HERBTS, E. - *Effects of direct currents on bone growth into delrin implants*  
*Scand.J. Plast. Rec. Cirg. Vol.-19: 223-230, 1985*
- BUDACH, V.; STUSCHKE, M.; BUDACH, W.; MOLLS, M.; SACK, H. - *Univ. of Essen, Germany.*  
*Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 19: 941- 943, 1990.*
- CAÑADELL, J. e PABLOS, J. - *Breaking bone bridges by physeal distracti on. A new approach.*  
*In Orthop. 9:223-229, 1985*
- CAÑADELL, J - *Lesiones del Cartilago de Crescimento.*  
1976, 1988
- CARPENTER, E.B.; DALTON, J.B.Jr. - *A critical evaluation of a method of epiphyseal stimulation.*  
*J.B.J.S. 38-A:1089, 1956*
- CHAPCHAL, G.; ZELDENRUST, J.- *Experimental research for promoting longitudinal growth of the lower extremities by initiation of the growth region of fémur and tibia.*  
*Acta Orthop. Scandinávia 17: 371-396, 1948*
- CIESZYNSKI, T. - *Clinical report about the influence of positive electricity on delayed callus and pseudarthrosis.*  
*Acta Morphol. Acad. Sci., Ung. 15: 309-312, 1967*
- COCHRAN, G.V.B. - *Electromechanical characteristics of moist bone.*  
*M.D. Thesis, Columbia. College of physians and surgeons.*  
*Edit New York - 1966*
- COCHRAN, G.V.B.; PAWLUK, R.J.; BASSETT, C.A.L. - *Electromechanical characteristics of bone physiologic moister conditions.*  
*Clin. Orthop. 58:249-270, 1968.*

- COCHRAN, G.V.B.- *A method for direct recording of electromechanical data from skeletal bone in living animals.*  
*J. Biochem:* 353-365, 1974.
- CONNOLLY, J.F.; ORTIZ, J.; PRICE, R. e BAYUZICK, R. - *The effect of electrical stimulation on the biophysical properties of fracture healing.*  
*Ann. N.Y. Acad. Sci.:* 238-519, 1974.
- CONNOLLY, J.F. ; HUURMAN, W. e RAY, S.- *Physeal distraction treatment of fracture deformities.*  
*Orthop. Trans.* 3:131-321, 1979
- CONNOLLY, J.F. - *Selection, evaluation and indications for electrical stimulation of ununited fractures.*  
*Clin. Orthop.* 161:39-53, 1981
- CONNOLLY, J.F.; HUURMAN, W. ; PANKAJ, R. - *Long term effect of physeal distraction.*  
*Orthop. Trans* 6:267, 1982
- CONNOLLY, J.F.; HUURMAN, W.; LIPPIENOL, L.; PANKA, J.R.- *Epiphyseal traction to correct acquired growth deformities.*  
*Clin. Orthop.* 202: 258-268, 1986
- COPENHAUER, W.M. - *Bailey's textbook of histology.*  
*Williams and wilkins. Baltimore, 1969*
- CRILLY, R.- *Longitudinal overgrowth of chicken radius.*  
*J. Anat.* 112:11-18, 1972
- CHRISTEL, P.; CERF, G. et PILLA, P.A.- *Modulation de la consolidation des fractures chez le rat.*  
*S.O.F.C.O.T., Montreal, Mai 1980*
- DALE, G.C.; HARRIS, W.R.- *Prognosis of epiphyseal separation. An experimental study.*  
*J.B.J.S.* 40:116- 122, 1958 e 37-B : 304, 1975
- DELPECH, J.M. - *De l'orthomorphie par rapport a l'espece humaine.*  
*pg. 301. Paris, Gabon 1829*
- DIMEGLIO, A. - *Comment juger de la croissance en orthopedie?*  
*Cartilag. de Conjugaison et croissance. Paris, 1980*

- DIMEGLIO, A. - *La croissance en orthopedie.*  
*Encycl. Med. Chir. Paris, Appareil locomoteur, 14009 A10, 3, 1984*
- DIMEGLIO, A. - *Croissance en oethopedie.*  
*Sauramps Medical, Montpellier, 1991*
- DOYLE, J.R.; SMART, B.W.- *Stimulation of bone growth by short-wave diathermy.*  
*J.B.J.S. 45-A: 15-24, 1963*
- DUHAMEL DU MORCEAU, H. - *Citado por Pous, Cañadell e Trigo Cabral*
- DUTHIE, R. y BARKER, A.R. - *An autorradigrappie study of mucopolysacharide and phosphate complexes. In bone growth and repair.*  
*J.B.J.S. 37-B : 304, 1955*
- DWIGHT, A.W.; SPADARO, J.A. ; BECKER, R. O. and KRAMER, S. - *Silver anode treatment of chronic osteomyelitis.*  
*Clin. Orthop. 161:105-114, 1981*
- ELO, J.O. - *The effect of subperiosteally implanten autogenous whole - thickness skin graft on growing bone.*  
*Act. Orthp. Scand. Supl. 55, 1960*
- EYDELSHTEYN, BN; UDALOVA, NF; BOCHKAREN, G.F. - *Dynamics of reparative regeneration after lengthening by the method of distraction epiphysiolysis.*  
*Act. Chir. Plast.; 149-154, 1973*
- FALKNER, F. - *General considerations in Human Developement.*  
*Human Developement. 10-39 W.B. sanders, Philadelphia and London, 1966*
- FISHBANE, B.M. ; RILEY, L.H. - *Continous trans-physeal traction experimental observations.*  
*Clin. Orthop.; 136: 120-124, 1978*
- FLUJORENS, J.P.M. - *Recherche sur le developement des os et des dens.*  
*Paris, 1892*
- FORGON, M. ; VAMHIDY, V. ; KELLENYI, L. - *Bone growth acelerated by stimulation of the epiphyseal plate with electrical current.*  
*Arch. Orthop. Traum. Surg., vol.-104 : 121-124, 1985*
- FRIEDENBERG, Z.B. and BRIGHTON - *Bioelectric potentials in bone.*  
*J.B.J.S. 48-A: 915, 1966*

- FRIEDENBERG Z.B. and KOHANIM M. - *The effect of direct current on bone.*  
*Surg. Gynec. Obst.* 127: 97-102, 1968
- FRIEDENBERG, Z.B. ; ANDREWS, E.T. ; SMOLENSKI, B.I. ; PEARL, B.W. et  
 BRIGHTON, C.T. - *Bone reaction to varying amounts of direct current.*  
*Surg. Gynec. Obstet.* 131: 884-889, 1970
- FRIEDENBERG, Z.B. ; ROBERTS, Jr. ; DIDIZIAN ; BRIGHON, C.T. - *Stimu-  
 lation of fracture healing by direct current in rabbits fibula.*  
*J.B.J.S.* 53-A:1400-1408, 1971
- FRIEDENBERG, Z.B. ; ZEMSKY, L.M. ; POLLIS, R. P. and BRIGTON, C.T. - *The  
 response of non-taumatized bone to direct current.*  
*J.B.J.S.* 56-A:1023-1030, 1974
- FROST, H.M.- *Measurement of the biological half-life of bones with the aid of te  
 tracyclines.*  
*Henry Ford Hospital bull:* 9 -78, 1961 Citado por Pous
- FUKADA, E. ; YASUDA, I. - *On the piezoelectric effect on bone.*  
*J. Physiol. Soc. Jap.* 12: 1158-1162, 1957
- GARRATT, A.C. - *Electrophysiology and electrotherapeutics. Showing the best  
 methods for the medical uses of electricity.*  
*Boston, Tickson and Fields, pg 637, 1861*  
 Citado por Lechner and Leonard
- GARRETT. - 1869  
 Citado por B. Moyer
- GERBKE, H. - *The influence of pressure and tension on growing bone in experi-  
 ments with animals.*  
*J.B.J.S.* 28: 60, 1946 e 33-A: 947, 1951
- GORAN SUNDEN - *Some aspects of longitudinal bone growth (an experimental  
 study of the rabbit tibia).*  
*Act. Orthop. Scand. Supl.* 103, 1967
- GREEN, W.T. ; WYATT, G.M. y ANDERSON, M. - *Orthoroentgenography as a  
 method of measuring the bones of the lower extremity.*  
*J.B.J.S.* 28: 60, 1946

- GREEN, W.T. y ANDERSON - *Experiencies with epiphyseal arrest in correcting discrepancies in lenght of the lower eztremities in infantil paralysis.*  
J.B.J.S. 29: 659, 1947
- GREEN, W.T. y ANDERSON, M. - *Discrepancy in lenght of the lower extremities.*  
A.A.O.S. Instructional Course Lectures, vol.-8  
Am. Ar. J.E. Edwards: 294, 1951
- GREEN, W.T. y ANDERSON, M. - *The problem of unequal leg lenth.*  
Pediat. Clin. Nort. Am. 2 : 1137, 1955
- GREEN, W.T. y ANDERSON, M. - *Epiphyseal arrest for the correction of discrepancies in lengh of the lower extremities.*  
J.B.J.S. 39-A: 353, 1957
- GREEN, W.T. y ANDERSON, M. - *Skeletal age and the control of bone growth.*  
A.A.O.S. Instructional Course Lectures  
Vol. 17 St. Louis, C. V. Mosby Co.: 199, 1960
- GRENLICH, W.W. y PYLE, S.I. - *Radiografic Atlas of Skelectal Developement of the hand and wrist.*  
2ª Ed. Stanford University Press., 1959
- GUILLEN, G. P. - *El concepto de la vacuna magnetica como posibilidad terapeutica de los retardos de consolidacion osea. Conceptos basicos y su aplicacion.*  
Rev. Orthop. Traum. 29-1B: 7-20, 1985
- HAAS, S.L. - *The localization of the growing point in the epiphyseal cartilage plate of bones.*  
Am. J. Orthop. Surg. 15: 563, 1917
- HAAS, S.L. - *Retardation of bone growth by a wire loop.*  
J.B.J.S. 27:25, 1945
- HAAS, S.L.- *Restriction of bone growth by pins through the epiphyseal cartilage plate.*  
J.B.J.S. 32-A: 338-343, 1950
- HAAS, S.L. - *Stimulation of bone growth with an electric current.*  
J.B.J.S. 45-A: 656, 1963

- HALL, M.C. - *The locomotor system. Funtional histology.*  
Charles C. Thomas  
Springfield, 1965
- HANSSON, L.I. - *Determination of endochondral bone growth in rabbit by means of oxytetracycline.*  
*Acta Univ. Lund. Sect II: No. 1, 1964*
- HANSSON, L.I. - *Daily growth in length of diaphysis measured by oxytetracycline in rabbit normally and after medullary plugging.*  
*Act. Orthop. Scand. Supl. 101, 1967*
- HARKNESS, E. et TROTTER, W. - *Growth of transplants of rat humeros following circunferential division of the periosteum.*  
*J. Anat. 126:275-289, 1978*
- HARRIS, R.I. ; McDONALD, J.L. - *The effect of lumbar sympathectomy upon the growth of legs paralyzed by anterior poliomyelitis.*  
*J.B.J.S. 18: 35, 1936*
- HARRIS, W.H.; JACKSON, R.H. et JOWSEY, J. - *The in vivo distribution of tetracyclines in canine.*  
*J.B.J.S. 44-A: 1308, 1962*
- HARTS HORNE, E. - *The causes and treatement of pseudartrosis.*  
*Am. J. Med. Sci. 1: 143, 1841*
- HASSLER, C.R.; RYBICKI, E.F. ; DIEGLE, R.B. and CLARK, L.C. - *Studies on enhanced bone healing via electrical stimulation. Comparative effectiveness of various parameters.*  
*Clin. Orthop. 124: 9-19, 1977*
- HARRINGTON, B.D. ; BECKER, R.O. - *Electrical stimulation of ARN and protein synthesis in the grog erythrocyte.*  
*Exp. Cell Res. 76: 95-98, 1973*
- HECKMAN, J.D.; INGRAM, A.J.; LOYD, R.D. and Cols.- *Nonunion treatment with pulsed electromagnétic fields.*  
*Clin. Orthop. 161: 58-66, 1981*
- HEIKEL, H. - *Experimental epiphyseal transplantation Part I. Roentgenographic observation on survival and growth of epiphyseal transplant.*  
*Act. Orthop. Scand. 29: 257-275, 1960*

- HENRIR, V.A. ; HEIKEL - *On ossification and growth of certain bones of the rabbit; with a comparison of the skeletal age in the rabbit and man.*  
*Act. Orthop. Scand. vol-XXIX, fasc. 3, 1958*
- HERBSTT, E. - *A review of different stimulation methods in: Electrical stimulation of bone growth and repair.*  
*Proceedings of the 1º European Symposium of Electral Stimulation, 1978*  
*Citado por Moyen.*
- HERBSTT, E. - *Electrical pulsed current stimulation in five cases of congenital pseudarthrosis of the tibia.*  
*In Electrical Properties of Bone and Cartilages - Brighon, C.T. ; Black, J. e Pollack, S.*  
*New Yorq, 1979 - Citado por Stazger*
- HERT, J. - *Acceleration of the growth after decrease of load on epiphyseal plates by means of spring distractions.*  
*Folia Morphol. 17:194 -203, 1969*
- HINKEL, C.L. - *The effects of roentgen rays upon the growing long bones of albino rat. Histopathological changes involving endochondral growth centers.*  
*Am. J. Roent., 49: 321-348, 1943*
- HINSENKAMP, M. ; CHIABRERA, A. ; RUABY, J. ; PILLA, A.A and BASSETT, C.A.L. - *Cell behaviour and DNA modification in pulsing electromagnetic fiels.*  
*Act. Orthop. Belg. 4: 636-650, 1978*
- HINSENKAMP, M.; BOURGOIS, R.; BASSETT, C.L.; CHIABRERA, A.; BURNY, F. e Cols.- *Electromagnetic stimulation of fracture repair. Influence on healing of fresh fractures.*  
*Act. Orthop. Belg. 4: 671- 698, 1978*
- HORTON, B.T.- *Hemihypertrophy of extremities associated with congenital arterio-venous fistulas.*  
*J. Am. Med. Ass. 98: 373, 1932*
- HUETER, C. - 1862  
*Citado por Pous e Goran Sunden*
- HUNTER, J. - *Experiments and observations of the growth of bones from the papers of the date.*  
*1798 - Citado por Trigo Cabral, Trueta, Burri e Cañadell*

- HUTCHINSON, W.J. y BURDEAUX, B.D.Jr - *The influence of stasis on bone growth.*  
*Surg. Gynec. Obst.* 99: 453, 1954
- IANNACONE, W.M. ; PIENKOWSKI, D. ; POLLACK, S.R. ; BRIGHTON, C. - *Pulsing electromagnetic field stimulation of the in vitro growth plate.*  
*J.Orthop. Res.* vol.-6: 239-247, 1988
- ILIZAROV, G.A. y SOYBELMAN, L.M. - *Some clinical and experimental data on the bloodness lengthening of lower limbs.*  
*Exp. Anest.* 4: 27-32, 1969
- ILIZAROV, G.A. - *Comunicação pessoal.*  
*XXII Convenção do Clube Italiano A.O., 1981*
- JAMES, J.M. y MUSGROVE, J.E. - *Effect of arteiovenous fistula on growth of bone.*  
*Surg. Clin. North. Am.* 30:1191, 1950
- JAMES, J.M. y JENNINGS, W.K. - *Effects of induced arteriovenous fistula on leg length. 10 years of observations.*  
*Proc. Surg. Mayo Clin.* 366:1, 1961
- JORGENSEN, T.E. - *The effects of electric current on the healing time of crural fractures.*  
*Acta Orthop. Scand.* 43: 421-437, 1972
- JORGENSEN, T.E. - *Asymmetrical slow-pulsating direct current.*  
*Clinic. Orthop. Rel. Res.* 161: 67-70, 1981
- JUSTER, M. et MOSCOFIAN, A. - *Apparition première d'un point de calcification. Sur la formation du squelette I. Croissance d'un os long.*  
*Pathol. Biol.* 19: 21-31, Paris, 1971
- JUSTER, M. et MOSCOFIAN, A. - *Metaphyse et virole pericondrale. Sur la formation du squelette II. Croissance d'un os long.*  
*Pathol. Biol.* 19: 33-42, Paris, 1971
- KALNICKI, S. - *Radiation therapy in the treatment of and soft sarcoma.*  
*Orth. Clin. Not. Am.* 20: 505, 1989

KELLY, P.J. ; JANES, J.M. ; PETERSON, L.F.A. - *The effect of arteriovenous fistulae on the vascular pattern of the femora of immature dogs. A microangiographic study.*  
*J.B.J.S. 41-A:1101, 1959*

KEMBER, N.F. - *Cell division in endochondral ossification. A study of cell proliferation in rat bones by the method of tritiated thymidine autoradiography.*  
*J.B.J.S. 42-B: 842, 1960*

KENWRIGHT, J.; APTE, S. ; KERSHAW, C. J. - *Biologic responses of the normal and bridged physis to distraction.*  
*Act. Orthop. Scand. Supl. 237: 64, 1990*

KENWRIGHT, J. ; SPRINGINS, A.J. ; CUNNINGHAM, J.L. - *Responses of the growth plate to distraction close to skeletal maturity. Is fracture necessary?*  
*Clin. Orthop. 250: 61-72, 1990*

KERSHAW, C.J. ; KENWRIGHT, J. - *Epiphyseal distraction for bony bridges: A biomechanical and morphologic study.*  
*J. Pediatric Orthop. vol.13: 46-50, 1993*

KLEIN, N.J. ; VELDHUIJZEN, J.P. ; BURGER, E. - *Increased calcification of growth plate cartilage as a result of compressive force in vitro.*  
*Arthritis-Rheum. Aug. vol-29(8) : 1002-1009 ISSN: 0004-3591, 1986*

KLEIN, N.J. ; VELDHUIJZEN, J.P.; JONG, M. ; BURGER, E.H. - *Increased bone formation and decreased bone resorption in fetal mouse calvaria as result of intermittent compressive force in vitro.*  
*Bone-Miner Sep. vol.-2 (6): 441-448 ISSN. 0169-6009, 1987*

KRAUS, W. ; LECHNER. - 1972  
*Citado por Brighon e Zichner*

KUIJPERS ; JAGTMAM, A.H. ; BEX, J.H. - *Longitudinal growth of the rabbit femur after vascular and periosteal interference.*  
*An. Anat. vol.-167: 349-358, 1988*

LACROIX, P. - *Organizers and the growth of bones..*  
*J.B.J.S. 29: 294, 1947*

LACROIX, P. - *Excitation de la croissance en longueur du tibia par decollement de son perioste diaphysaire.*  
*Rev. chir. Orthop. 33: 341, 1947*

- LACROIX, P. - *The organization of bones.*  
MacGraw. Hill Book, New York, 1951 - Citado por Pous
- LANGENBECK, 1869 - Citado por Tupman.  
J.B.J.S. vol.-42, nº 3: 484-501, 1960
- LANGENSKIOLD, A. ; EDGREN, W. - *The growth mechanism of the epiphyseal cartilage in the light of experimental observations.*  
Act. Orthop. Scand. 19:19, 1949
- LANGENSKIOLD, A. - *Inhibition and stimulation of growth.*  
Act. Orthop. Scand. 26: 308, 1957
- LANGENSKIOLD, A. ; RYTOMAA, T. et VIDEMAN, T. - *An autoradiographic study with <sup>35</sup>S-sulfate on the growth in diameter of epiphyseal cartilage in rabbits.*  
Act. Orthop. Scand. suppl.106, 1967
- LANYON, L.E. et HARTMAN, W. - *Strain related electric potentials recorded in vitro and in vivo.*  
Calcif. Tissue Res. 22: 315-327, 1977
- LAVINE, L.S. ; LUSTRIN, I. ; SHAMOS, M.H. - *Treatment of congenital pseudarthrosis of the tibia with direct current.*  
Clin. Orthop. 124: 69-74, 1977
- LECHNER, F. ; ARCHER, L.R. - *Experiences and results of the electrodynamic fields treatment in cases of pseudarthroses and delayed bone repair.*  
Act. Orthop. Belg. 4: 699-705, 1978
- LECHNER, F. ; ARCHER, L.R. ; SCHON, G. ; OELLER, G. - *Recent experimental results and clinical survey of the electrodynamic field therapy.*  
Eur.Surg.Res. 12- suppl.25, 1980
- LECHNER, F. ; ARCHER, R. ; URAUS, W. - *Treatment of pseudarthroses with electrodynamic potentials of low frequency range.*  
Clin.Orthop. 161: 71-81, 1981
- LENTE, R.W. - *Case of un-united fractures tracted by electricity.*  
N.Y.J. Med. 5: 317, 1850 - Citado por Deltier
- LEONARD, F. ; PERTIER - *A brief historical note on the use of electricity in the treatment of fractures.*  
Clin. Orthop. 161: 4-7, 1981

- LETTIS, R.M. ; MEADOWS, L. - *Epiphysiolysis as a method of limb lengthening.*  
*Clin. Orthop.* 133: 230 -237, 1978
- LEVY, D.D. - *Induced osteogenises by electrical stimulation.*  
*J. Electrochemical Society*, 118:1438, 1971
- LEVY, D.D. - *Induced osteogenesis by electrical stimulation.*  
*Ph. D. thesis (Bioenginneering)*  
*The Polytechnic Institute of Brooklin*: 35, 1971
- LORRAINE, D. - *Electrical stimulation in the treatemnet of ununited fractures.*  
*Clin. Orthop. Rel. Res.* 161: 54-57, 1981
- MARSH, H. O.; ADAS, E. et LAROA, K. - *An experimental attemp to stimulate growth by distracting force across the lower femural epiphysis.*  
*Am. Surg.* 27: 615 - 618, 1961.
- MARINO, A. A. and BECKER, R. O. - *Piezoelectric effect and growwth control in bone.*  
*Nature* 228: 473, 1970.
- MARINO, A.A. and BECKER, R.O. - *Piezoelectricity in bone as a function of age.*  
*Calcf. Tiss. Res.* 14: 327, 1974
- MARINO, A. A. - *Electrical osteogenesis an analysis.*  
*Cln. Orthop.* 123: 280, 1977.
- MINEIRO, J. D. - *Vulnerabilidade das cartilagens de crescimento.*  
*Rev. Ortp. Traumatologia*, 18-IB: 161, 1974.
- MINKIN, C. ; POULTON, B.R. and HOOVER, W.H. - *The effects of direct current bone.*  
*Clin. Orthop.* 57: 303-309, 1968
- MONTICELLI, G. ; SPINELLI, R. - *Distraction epiphysiolysis as a method of limb lengthening.*  
I- *Experimental study.* - *Clin. Orthop.* 154: 254-261, 1981  
II - *Morphologic investigation.* - *Clin. Orthop.* 154: 262-273, 1981  
III - *Clinical aplications* - *Clin. Orthop.* 154: 274-285, 1981
- MOTT, V. - *Two cases of ununited fractures successfully treated by ston.*  
*Medical and Surgical Register 1 (part 2)*: 375, 1820  
*Citado por Leonard*

- MOYEN, B. et COMTET, J. J. - *La stimulation electric et eletromagnetique de l'osteogenese.*  
*Encycl. Med. Chir., Paris.*
- MULLER, H. - 1858  
*Citado por Geoffrey H. Boune.*
- MULLER, W. - 1928  
*Citado por Goran Sunden*
- NAGEL, D. - *Personal comunicacion, 1975*  
*Citado por Lavine, 1977*
- OKIHANA, H. ; SHIMOMURA, Y. - *Effects of direct curreny on cultural growth cartilage cells in vitro.*  
*J. Orthop. Res. vol.- 6: 690-694, 1988*
- OLERUD, C. ; DANCKWARDT - LILLIESTROM, G. - *Genu recurvatum caused by partial grouwth arrest of proximal tibial physis: simultaneous correction and lengthening with physeal distratcion. A repot of two cases.*  
*Arch. Orthop. Trauma. Surg., 106(1): 64 - 68, 1986.*
- OLLIER- *Traité experimental et clinique de la régénération des os et de la produ-  
 ction artificielle du tissue osseux.*  
*Masson et Fils, Paris Vo I- I: 236*  
*Citado por Cañadell e Goran Sunden*
- PABLOS, J.; VILLAS, C.; CAÑADELL, J. - *Bone lengthening by physial distractcion*  
*An experimental study.*  
*Int.Orthop. (Germany West),10 (3):163-170, 1986*
- PABLOS, J.; CAÑADELL, J. - *Experimental physeal distratcion in immature sheep.*  
*Clin. Orthop. 250: 73 - 80, 1990*
- PATERSON, D. ; LEWIS, G.N. and CASS, C.A. - *Treatement of delayed union and nonunion with an implanted direct current stimulator.*  
*Clin. Orthop. 148:117, 1980*
- PAYTON, G. C.  
*Journal Anat. 66: 414, 1932*
- PEARSE, H.Jr. y MORTON, J. - *The stimulation of bone growth by venous stasis.*  
*J.B.J.S. 12-A: 97, 1930*

- PELTONEN, J. - *Bone regeneration after physeal distraction by external fixation*  
*An experimental study.*  
*Thesis, University of Helsinki. Finland, 1988*
- PELTONEN, J.- *Bone formation and remodeling after symmetric and asymmetric physeal distraction.*  
*J. Ped. Orthop. vol-9 (2):191-196, 1989*
- PHEMISTER, D.B. - *Operative arrestment of longitudinal growth of bones in the treatment of deformities.*  
*J.B.J.S. 15, 1933.*
- PHILLIPS, R.D.; KIMELDORF, O.J. - *Age and dose dependence of bone growth retardation induced by X- irradiation.*  
*Radiat. Res. 27: 384, 1966*
- PILLA, A.A. - *Electrochemical information transfer at living cell membranes.*  
*Am. N. Y. Acad. Sci.: 149-170, 1974*
- POIRIER, J. ; COHEN, I.; BERNAUDIN, J.F. - *Le tissu osseux. pg. 79 - 102.*  
*Le tissu cartilagineux . pg. 70-78*  
*Histologie Humaine. Fasc.1, Maloine, Paris 1977*
- POUS, J.G. ; DIMEGLIO, A. - *Cartilage de conjugaison et croissance.*  
*Doin Editeurs, 1980.*
- RICHARDS, V.; STOFER, R. - *The stimulation of bone growth by internal heating.*  
*Surgery 46: 84, 1959*
- RING, P.A. - *Experimental bone lengthening by epiphyseal distraction.*  
*Br. J. Surg. 46:169 -173, 1958.*
- RIGAL, W. M. - *Proceeding and reports of Universities.*  
*J.B.J.S. 48-B:170, 1961.*
- ROBISON, R.A.; CAMERON, D.A. - *Electron microscopy of cartilage and bone matrix at the distal epiphyseal line of the femur in the newborn infant.*  
*J. Bioph., Bioch, Cytol. 2° Suppl.: 253-260, 1956*
- RUBINS, P.; ANDREWS, Jr.; SWARN, R. y GUMP, H. - *Radiation induced dysplasia of bone.*  
*Am. J. Roentg. 82: 206 -216, 1959.*

- SAGERMAN, R.H. - *The role of diagnostic radiology and radiation therapy in the management of soft tissue sarcomas in children.*  
*Cancer* 35: 946, 1975.
- SALTER, R.B. y FIELD, P. - *The effects of continuous compression on living articular cartilage. An experimental investigation.*  
*J.B.J.S.* 42-A: 31, 1966.
- SALTER, R.B. y HARRIS, W.R. - *Injuries involving the epiphyseal plate.*  
*J.B.J.S.* 45-A: 587, 1963.
- SATO, O.; AKAI, M. - *Effects of direct current stimulation on the growth plate. In vivo study with rabbits.*  
*Arch. Orthop. Traum. Surg.* vol.-109: 9-13, 1990
- SATZGER, G.V. and HERBST, E. - *Electric stimulation of osteogenesis: I. experimental study of bone healing in the rabbit. II. clinical study in two cases of congenital pseudarthrosis of the tibia.*  
*Electric stimulation of bone growth and repair.*  
 Springer éd.: 55-61, 1978
- SATZGER, G.V. and HERBST, E. - *Surgical and electrical methods in the treatment of congenital and posttraumatic pseudarthrosis of the tibia.*  
*Clin. Orthop. Rel. Res.* 161: 82-104, 1981
- SAWYER, P.N.; BRATTIN and BODDY, D.W. - *Electrochemical precipitation of human blood cells and its possible relation to intravascular thrombosis (impubliched) in; Friedenber 2.B and C.T. Brighton "bioelectric potential in bone".*  
*J.B.J.S.* 48-A: 915 - 922, 1966.
- SERVELLE, M. - *Stase veineuse et croissance osseuse.*  
*Bull. Acad. Nat. Med.* 132: 471, 1948.
- SHAMOS, M.H. ; LAVINE, L.S. - *Piezoelectric effects in bone.*  
*Nature, London* 197: 81, 1963
- SHAMOS, M.H.; LAVINE, L.S. - *Physical bases for bioelectric effects in mineralized tissues.*  
*Clin. Orthop.* 35:177, 1964
- SHAMOS, M.H.; LAVINE, L.S.- *Piezoelectricity as a fundamental property of biological tissues.*  
*Nature* 23: 267, 1967

- SHIM, S.S.- *Physiology of blood circulation*  
J.B.J.S. 50-A: 812-824, 1968
- SIFFER, R.S. - *The effect of staples and longitudinal wires on Epiphyseal Growth.*  
J.B.J.S. 38-A, n°-5: 1077, 1956
- SIFFER, R.S. - *Current concepts review lower limb-length discrepancy*  
J.B.J.S. vol 6:1100-1106, 1987
- SLEDGE, G.B.; NOBLE, J. - *Experimental limb lengthening by epiphyseal distraction.*  
Clin. Orthop., III-9:136, 1978.
- SMITH, R.L. ; NAGEL, D.A. - *Effects of pulsing electromagnetic fields on bone growth and articular cartilage.*  
Clin.Orthop. 181: 277-282, 1983
- SOLOMON - *Diametric growth of epiphyseal plate.*  
J.B.J.S. 48-B, 1966
- SOLA, C.K.; SILBERMAN, F.S.; CABRINI, R.L. - *Stimulation of longitudinal growth of long bones by periosteal stripping*  
J.B.J.S. 45-A: 1679, 1963
- SPADARO, J.A. - *Electrically stimulated bone growth in animals and man.*  
Clin.Orthop. 122: 325-333, 1977
- SPADARO, J.A. ; BERGER, T.J. ; BARRANCO, S.D. ; CHAPIN, S.E. and BECKER, R.O. - *Antibacterial effects of silver electrodes with weak direct current.*  
Antimicrob. Agents Chemother. 6:637, 1974
- STAN STEFAN ; SANDEN ; MULLER - *Experimental study on the electrical impedance bone and the effects of direct current on the healing fractures.*  
Cline. Orthop. 120: 262-267, 1975
- STEENDICK - 1969  
Citado por Moyen
- STEINBERG, M.E.; BUSENKELL, G.L.; BLACK, J. - *Stress-induced potentials in moist bone in vitro.*  
J.B.J.S. 56-A: 704-713, 1974

STEPHAN HALES - 1927

*Citado por Sissons H.A. - "The growth of bone"*  
*The Biochemistry and physiology of bone*  
 Edit. Geoffrey H. Bourne. Acad. Press N.York, 1956

STRAYER - *Human Embriology.*

*Clin. Orthop.* 74: 221, 1971

STREETER, G.L. - *Developmental horizons in human embryos.*

*Contrib. Embryolog.* 3-211, 1942 e 1951

SUIT, H.D. - *Radiotherapy in osteosarcoma.*

*Cli. Orthop.* 111: 71, 1975

TAILLARD, B. - *La stimulation de la croissance des os longs par la desperiostage.*

*Rev. Med. de la Suisse Romande*, 48.1: 28 - 38, 1959.

TERJE, O.F. and HARALD, S. - *Growth retardation after experimental limb lengthening by epiphyseal distraktion.*

*J. Pediat. Orthop.* vol.-10: 463-466, 1990

TAPP, E. - *The effects of hormone on bone in growing rats.*

*J.B.J.S.* 48-B: 526, 1966.

THYBERG, J. et FRIEBERG, U. - *The lysosomal system in endochondral growth.*

*Program. Histochem. Cytochem.*, 1978

*Citado por Pous*

TIDIA - 1956

*Citado por Moyen.*

TRESSERA, J. - *Secciones musculo-ligamentosas en el conejo comum em periodo de crescimento.*

*Tese Doctoral, Univ. Barcelona, 1964.*

TRIGO CABRAL, A. - *Célula Óssea .Estudo Experimental e Clínico*

*Tese de Doutoramento.*

*Universidade do Porto, 1982*

TRUETA, J. - *The influence of the blood supply in controlling bone growth.*

*Bull. Hosp. It. Dis.* 14: 147, 1953.

- TRUETA, J.; HARRISON, M.H.N. - *The normal vascular anatomy of the femoral head in adult man.*  
J.B.J.S. 35-B: 442, 1953
- TRUETA, J. y MORGAN, J.D. - *Late results in the treatment of one hundred cases of acute hematogenous osteomyelites.*  
J. Surg. 41: 449, 1954.
- TRUETA, J. - *Kuntsher type of nailing. An experimental study in the rabbit.*  
J.B.J.S. 37: 3, 1955.
- TRUETA, J. - *Trauma and bone growth.*  
VII Congreso S.I.C.O.T., Barcelona, 1957
- TRUETA, J. - *La vascularisation des os et osteogenese.*  
Rev. Chir. Orthop., 1958.
- TRUETA, J. y AMATO, V. P. - *The vascular contribution to osteogenesis III. Changes in the growth cartilage caused by experimental induce ischaemic.*  
J.B.J.S. 42-B: 571, 1960
- TRUETA, J.; LITTLE, K. - *The vascular contribution to osteogenesis. Studies with the electron microscope.*  
J.B.J.S. 42-B: 357, 1960
- TRUETA, J. y MORGAN, J.D. - *The vascular contribution to osteogenesis. Studies by the injection method.*  
J.B.J.S. 42-B: 97, 1960
- TRUETA, J.; TRIAS, A. - *The vascular contribution to osteogenesis I. The effect of pressure on the epiphyseal cartilage of the rabbit.*  
J.B.J.S. 43-B: 800, 1961
- TRUETA, J. - *The role of the vessels in osteogenesis.*  
J.B.J.S. 45-B: 402, 1963.
- TRUETA, J. y BUHR, A.J. - *The vascular contribution to osteogenesis III. The vasculature supplying the epiphyseal cartilage in rachitic rats.*  
J.B.J.S. 45-B: 572, 1963.
- TRUETA, J. - *La estructura del cuerpo humano. Estudio sobre su desarrollo y decadencia.*  
Ed. Labor, Barcelona, 1975.

VOLKMANN, R. - 1862

*Citado por Pous e Goran Sundén.*

VON HALLER - 1763

*Citado por Keith, A. K. ; Chase; Herndon; Trigo Cabral.*

WEINMAN, D.T. ; KELLY, P.J. ; OWEN, C.A.Jr - *Blood flow in bone distal to a femoral arteriovenous fistula in dogs.*

*J.B.J.S. 46-A:1676, 1964*

WILLIAM BORA, F. e Cols. - *The electrical treatment of scaphoid nonunion.*

*Clinic. Orthop. 161: 33-38, 1981*

WILSON, C.L. - *Experimental increase in leg length. A preliminary report.*

*Proc. Roy. Coll. Phys. and Surg., Canada, 1951.*

WILSON, C.L. - *Experimental increase in leg length. A preliminary report. In Surgical forum. Proceedings of the forum sessions, 37° Clin. Cong. of Americ. College of Surg.*

*San Francisco, California, pg. 438 - 443, 1951*

*Philadelphia, W. B. Sanders Co., 1952.*

WILSON, C.L. and PERCY, E.C. - *Experimental studies of epiphyseal stimulation.*

*J.B.J.S. 38-A: 1096 -1104, 1956.*

WILSON, C. L. - *Experimental attempts to stimulate bone growth.*

*J.B.J.S. 52-A: 1033 -1040, 1970.*

WITTBOL, P. et STEENDIJK, J.R. - *Piezoeffect en botstimulering.*

*Ned. Tydschr. Gemeskd, 113: 1929 -1930, 1969*

*Citado por Moyen.*

WITTEBOL, P. - *Stimulation of non-epiphysed bone growth.*

*Calcif. Tissue Res. (suplem.) 4: 122, 1970.*

WOLFF, J. - 1892

*Citado por Goren Sundén.*

WU, Y.K.; MILTNER, L.J. - *A procedure for stimulation of longitudinal growth of bone.*

*J.B.J.S. 19: 909, 1937.*

- WUTHIER, R.E. ; MAJESKA, R.J. et COLLINS, G.M. - *Biosynthesis of matrix vesicles in epiphyseal cartilage. In vivo incorporation of P32 orthophosphates into phospholipides of chondrocyte, membrane and matrix vesicle fractions.*  
*Calcif. Tissue Res.* 23: 135-139, 1977
- YASUDA, I. - *Piezoelectricity of living bone.*  
*J. Kyoto Pref. Univ. Med.* 53: 325, 1953.
- YASUDA, I. - *On the piezoelectric activity of bone.*  
*J. Jap. Orthop. Surg.* 28: 267, 1954.
- YASUDA, I. - *Dynamic callus and electric callus.*  
*J. B.J.S., 37-A:* 1292, 1955.
- ZANOLI, R. - *Scollamento del periostio de allungamento degliarti.*  
*Clin. Orthop.* 1:14, 1949.
- ZICHNER, L. - *Repair of nonunions by pulsed current stimulation.*  
*Clin. Orthop.* 161:115, 1981