



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS**

**HIDROXIAPATITA ASSOCIADA À QUITOSANA NA REPARAÇÃO ÓSSEA –
REVISÃO DE LITERATURA E ESTUDO EXPERIMENTAL EM COELHOS**

FABRÍCIA GEOVÂNIA FERNANDES FILGUEIRA

**PATOS-PB
2012**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS**

**HIDROXIAPATITA ASSOCIADA À QUITOSANA NA REPARAÇÃO ÓSSEA –
REVISÃO DE LITERATURA E ESTUDO EXPERIMENTAL EM COELHOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de
Campina Grande – UFCG,
como parte das exigências para
a obtenção do título de Mestre
em Medicina Veterinária.

FABRÍCIA GEOVÂNIA FERNANDES FILGUEIRA

Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto
Orientador

Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá
Co-orientador

**PATOS-PB
2012**

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO CSTR /
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CAMPUS DE PATOS-PB

F481h

2012 Filgueira, Fabrícia Geovânia Fernandes

Hidroxiapatita associada à quitosana na reparação óssea –
Revisão de literatura e estudo experimental em coelhos. /
Fabrícia Geovânia Fernandes Filgueira - Patos - PB:

UFCG/PPGMV, 2012.

68p.: il. Color.

Inclui Bibliografia.

Orientador: Pedro Isidro da Nóbrega Neto.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Centro
de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de
Campina Grande.

1-Cirurgia ortopédica - coelhos. 2- Biomateriais. 3-
Reparação óssea

CDU: 616.089:636.9

FICHA DE AVALIAÇÃO

Nome: FILGUEIRA, Fabrícia Geovânia Fernandes

Título: Hidroxiapatita associada à quitosana na reparação óssea – Revisão de literatura e Estudo experimental em coelhos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

DATA: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto - UFCG
Orientador

Prof. Dr. Bruno Watanabe Minto - UNESP
Primeiro Membro

Prof. Dr. João Moreira da Costa Neto– UFBA
Segundo Membro

DEDICO

À Deus que me deu saúde e forças para chegar até aqui.

Aos meus pais, que me incentivaram e me ajudaram em tudo.

Aos meus irmãos, pelo apoio e amizade.

À minha avó, pelo amor e palavras sábias.

Tudo é difícil até que se aprenda!

“Ainda que eu tivesse o dom da profecia, o conhecimento de todos os mistérios e de toda a ciência; ainda que eu tivesse toda a fé, a ponto de transportar montanhas, se não tivesse o amor, eu não seria nada.”

1 Coríntios 13,2

AGRADECIMENTOS

À Deus por ser tudo em minha vida, por ter me dado forças, saúde, por ter me levantado quando cai, enfim por estar sempre ao meu lado.

Aos meus pais, que me educaram com muito carinho e amor, e me apoiaram emocionalmente e financeiramente em tudo.

Aos meus irmãos, Leandro e Patrícia, pelo apoio e amizade.

Às minhas avós, Maria Fernandes e Dalva Filgueira *in memoriam*, pelo carinho e palavras sábias.

Ao meu primo, Rodolfo e minha amiga Kaliane, pela amizade.

Ao meu tio, João, pelo apoio e incentivo.

Aos animais utilizados no experimento, que tornaram possível escrever esse trabalho.

Ao Professor Pedro Isidro da Nóbrega Neto, meu orientador e amigo, que me deu forças para continuar mesmo quando tudo parecia perdido, mesmo quando o experimento deu errado muitas vezes e eu queria desistir. Obrigada professor! É o teu exemplo que quero seguir na minha carreira acadêmica.

Ao professor Marcelo Jorge Cavalcante de Sá, pela oportunidade de trabalho com ortopedia e biomateriais.

Ao professor Marcus Vinícius Lia Fook, por ter produzido o compósito utilizado neste trabalho.

Ao professor Almir Pereira de Souza, pela amizade e pelo exemplo de professor!

Ao Jonas, pela amizade e por me ajudar na parte burocrática do mestrado.

Ao meu amigo Eduardo, pela amizade, confiança e companheirismo durante o mestrado.

Às Famílias Perônico e Lucena, por todo acolhimento, carinho, ajuda e orações, em especial à Bel, Tonho, Denise e Everson

Aos colegas de mestrado, Adílio, Atticcus, Fabrine, Clarice, pelo apoio.

Aos colegas, Ana Lucélia, Leonardo e Iana pela anestesia dos coelhos.

Ao Rodrigo Mendes, pela ajuda na eutanásia e no manejo dos animais.

Ao Matheus Rodrigues, pela ajuda nas radiografias dos animais

Às meninas que moram comigo, Iana, Cris e Anni, pelo apoio e amizade que foi construída nessa longa jornada, apesar das desavenças.

Ao meu amigo Diego, pela amizade e confidências.

Ao Laboratório de Patologia Animal da UFCG, em especial a Diego Medeiros e ao Prof. Antônio Flávio, pela ajuda com as lâminas.

Às minhas amigas da turma da sete mulheres: Carla, Gabriela, Geyanna, Isabella, Leíse e Maíra, pela amizade de longa data e por estarem sempre à disposição quando precisei.

Ao meu amigo Paulo Vinícius, pela confiança e pelas sugestões.

A Isabella, Érico, Layse, Guilherme e Thiago por terem me ajudado no início do experimento.

Aos funcionários do HV, em nome de Dona Céu, Dona Joana, Dona Neuma, Dona Neném, Dona Fátima, Dona Socorro e Seu Cuité. Vocês foram muito importantes no meu crescimento profissional.

À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de mestrado.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	3
CAPÍTULO I - Revisão de literatura: Utilização de compósito de hidroxiapatita/quitosana na regeneração óssea na medicina veterinária.....	4
Resumo.....	5
Abstract.....	5
Introdução.....	6
Regeneração óssea.....	7
Enxertos ósseos.....	9
Biomateriais.....	11
Hidroxiapatita.....	12
Quitosana.....	14
Associação hidroxiapatita/quitosana.....	16
Conclusões.....	17
Agradecimentos.....	17
Referências.....	17
CAPÍTULO II - Hidroxiapatita associada à quitosana no preenchimento de falha	

óssea em coelhos.....	28
Resumo.....	29
Abstract.....	30
Introdução.....	30
Material e métodos.....	32
Resultados e discussão.....	35
Conclusões.....	39
Agradecimentos.....	39
Referências bibliográficas.....	40
CONCLUSÕES GERAIS.....	44
ANEXOS.....	45

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIACÕES

°C - graus Celsius

% - por cento

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior,

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição

CC – craniocaudal

CSTR – Centro de Saúde e Tecnologia Rural

GB - grupo biomaterial

GC - grupo controle

HE – hematoxilina e eosina

HV - Hospital Veterinário

Kg - quilo

mg/kg – miligrama por quilo

ML - mediolateral

mL/kg – mililitro por quilo

mm - Milímetro

NaCl – cloreto de sódio

UFMG – Universidade Federal Campina Grande

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Capítulo II	
Figura 1: Imagem radiográfica da tíbia de coelhos na projeção craniocaudal. Respectivamente, A e D - GC e GB, imediatamente pós-operatório; B e E - GC e GB nos 30 dias após a cirurgia; C e F – GC e GB 60 dias de pós-cirúrgico. As setas indicam o defeito ósseo provocado experimentalmente.....	36
Figura 2: Fotomicrografia da tíbia de coelho do GB no momento 60 dias, no aumento de 40x. Os círculos indicam presença do compósito hidroxiapatita/quitosana.....	37
Figura 3: Fotomicrografias no aumento de 10x da tíbia de coelho dos grupos biomaterial (A e C) e controle (B e D). A e B – 30 dias; C e D – 60 dias. TF: tecido conjuntivo frouxo; OT: osso trabecular; MO: medula óssea; OC: osso compacto; HAQ: compósito hidroxiapatita associada à quitosana.....	38

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Capítulo II	
Tabela 1: Escala gradual para avaliação do grau de radiopacidade da lesão óssea produzida experimentalmente na tíbia de coelhos.....	34
Tabela 2: Média e desvio padrão da radiopacidade da lesão óssea provocada, experimentalmente, na tíbia de coelhos produzida pelo biomaterial (GB) em relação ao grupo controle (GC), segundo o momento experimental (30 e 60 dias).....	36

INTRODUÇÃO GERAL

A regeneração óssea é requerida em muitas condições ortopédicas, principalmente nos casos de defeitos provocados por fraturas, não-uniões e nos casos de perda óssea devidos a neoplasias ou processos infecciosos, afetando significativamente a qualidade de vida dos seus portadores. Em muitos casos, o tratamento requer o uso de implantes ósseos, sendo dessa forma os biomateriais alvo de pesquisas constantes.

Os biomateriais são compostos naturais ou sintéticos que auxiliam no reparo ósseo e devem apresentar biocompatibilidade, previsibilidade, aplicação sem riscos transoperatórios e ínfimas sequelas pós-cirúrgicas, além da boa adaptação relacionada ao paciente. Entre eles estão os materiais metálicos, os polímeros e as cerâmicas (TEIXEIRA, 2001; ZAMBUZZI et al., 2005).

A hidroxiapatita é uma das cerâmicas mais biocompatíveis devido à semelhança com os constituintes minerais dos ossos e dentes humanos (FOOK et al., 2010). Possui vantagens como a sua composição uniforme, alta biocompatibilidade, segurança (não é tóxica, nem alergênica ou carcinogênica) e pelo fato de sua microestrutura (tamanho dos poros) ser completamente controlável (ONO et al., 2000). Por isso, vem sendo estudada como um possível material substituto para osso e implantes dentários (PRETORIOUS et al., 2005).

A quitosana é um polímero natural proveniente da reação de desacetilação da quitina, um dos mais abundantes polissacarídeos encontrados na natureza. A quitina é originada principalmente de exoesqueletos de crustáceos, moluscos e insetos (DAROZ et al., 2008). Assim, sua própria estrutura química, similar à estrutura do ácido hialurônico, reforça a sua indicação como agente cicatrizador e reparador, pois a quitosana é capaz de aumentar as funções das células inflamatórias como os leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, promovendo organização celular e atuando no reparo de feridas amplas (UENO et al., 2001).

A combinação da quitosana com outros materiais têm sido amplamente estudada (SPIN NETO, 2008). O “mix” entre substâncias sintéticas e naturais, orgânicas e inorgânicas, cria novos biomateriais com propriedades fisicoquímicas e biológicas mais amplas, favorecendo a aplicação clínica desses materiais (KIM et al., 2008).

Dessa forma a utilização de biomateriais, de forma isolada ou combinada, deve ser cada vez mais estimulada na Medicina Veterinária, seja na rotina clínico-cirúrgica, com o emprego daqueles implantes que já foram testados e que provaram sua eficácia na regeneração óssea, seja na experimentação, para se conhecer as vantagens e desvantagens de cada material especificamente. Assim, esse trabalho foi dividido em dois capítulos, objetivando-se com o primeiro fazer uma revisão de literatura acerca dos biomateriais utilizados para reparação óssea na Medicina Veterinária, dando maior ênfase ao compósito hidroxiapatita/quitosana que recentemente vem sendo estudado; e com o segundo avaliar a utilização de um compósito de hidroxiapatita associada à quitosana, no preenchimento de falha óssea na tíbia de coelhos, por meio de uma análise clínico-cirúrgica, radiológica e histológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DAROZ, L.R.D. et al. Prevention of postoperative pericardial adhesions using thermal sterile carboxymethyl chitosan. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v.23, n.4, p.480-487, 2008.
- FOOK, A.C.B.M. et al. Desenvolvimento de biocerâmicas porosas de hidroxiapatita para utilização como scaffolds para regeneração óssea. **Revista Matéria**, v. 15, n. 3, p.392–399, 2010.
- KIM, I.Y. et al. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. **Biotechnology Advances**, 26, p.1-21, 2008.
- ONO, I. et al. Evaluation of a high density polyethylene fixing system for hydroxyapatite ceramic implants. **Biomaterials**, v.21, p.143-151, 2000.
- PRETORIUS, J.A. et al. Histomorphometric evaluation of factors influencing the healing of bone defects surrounding implants. **International Journal Oral Maxillofacial Implants**, v.20, p.387-98, 2005.
- SPIN NETO, R. **Desenvolvimento e aplicação de biomateriais à base de quitosana para reconstrução óssea: avaliação radiográfica e histológica**. 2008. 130f. Dissertação (Mestrado em Periodontia), Curso de pós-graduação em periodontia, Universidade Estadual Paulista.
- TEIXEIRA, E. R. Superfícies dos implantes: o estágio atual, In: DINATO, J.C.; POLIDO, W. D. **Implantes osseointegrados: cirurgia e prótese**. São Paulo: Artes Médicas, 2001. cap. 05, p. 63-80.
- UENO, H.; NAKAMURA, F.; MURAKAMI, M. et al. Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and the growth factors production by macrophages. **Biomaterials**, v. 22, p. 2125-2130, 2001.
- ZAMBUZZI, W.F.; NEVES, M.C.M.; OLIVEIRA, R.C. et al. Reação tecidual e perfil de fosfatases após o implante de matriz óssea desmineralizada xenogênica em músculo de ratos. **Ciência Odontológica Brasileira**, São José dos Campos, v. 8, n. 2, p. 90-98, 2005.

CAPÍTULO I
UTILIZAÇÃO DE COMPÓSITO DE HIDROXIAPATITA/QUITOSANA NA
REGENERAÇÃO ÓSSEA EM MEDICINA VETERINÁRIA
(Revisão de Literatura)

Manuscrito submetido à revista
Ciência Rural - [ISSN 0103-8478](#).

**Utilização de compósito de hidroxiapatita/quitosana na regeneração óssea em
medicina veterinária**

**Use of composite hydroxyapatite/chitosan on bone regeneration in veterinary
medicine**

**Fabírcia Geovânia Fernandes Filgueira^{I*}, Pedro Isidro da Nóbrega Neto^{II},
Marcelo Jorge Cavalcante de Sá^{II}, Marcus Vinícius Lia Fook^{II}.**

-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA-

RESUMO

Os biomateriais com atuação na área médico-odontológica que objetivam aumentar e/ou acelerar o processo de reparação óssea, são atualmente muito utilizados na Medicina Veterinária, tendo como foco principal fraturas e afecções ósseas. Dentre os diversos materiais que estão constantemente sendo testados e avaliados em laboratório, existem a hidroxiapatita com a comprovada função osteocondutora e a quitosana que é um biopolímero que tem a capacidade de estimular a liberação de indutores celulares de citocinas. A combinação desses biomateriais possibilita unir as vantagens dos dois, em um só composto e assim acelerar o processo de regeneração óssea principalmente nos casos de fraturas com má união óssea ou união tardia.

Palavras-chave: medicina veterinária, hidroxiapatita, quitosana, reparação óssea.

ABSTRACT

Biomaterials with applications in the medicine and dentistry have the aim increased and/or accelerate the process of bone repair, are currently very widely used in veterinary

medicine, with focus in the fractures and bones disorders. Among the various materials that are constantly being tested and evaluated in the laboratory, there is composite of hydroxyapatite associated chitosan. The hydroxyapatite osteoconductive function and chitosan is a biopolymer which ability to stimulate to release of cellulars and citocines inductors. The combination of these biomaterials allows to merge the advantages of both in a single compound and accelerating the healing process especially in the cases of bone fractures with non-union and delayed union.

Key-word: veterinary medicine, hydroxyapatite, chitosan, bone repair.

INTRODUÇÃO

As afecções ósseas e fraturas vêm ocorrendo cada vez mais em animais de estimação, sendo crescente a demanda de tratamentos cirúrgicos mais eficientes para que o paciente retorne o quanto antes a utilizar o membro operado, principalmente quando há necessidade de corrigir grandes falhas ósseas. De acordo com OLIVEIRA et al. (2007) e GALEA et al. (2008), a estratégia usual para tratamento de defeitos ósseos resultantes de traumas e patologias é o preenchimento com osso autólogo. Porém, essa técnica tem sido restringida devido à disponibilidade limitada de material, às complicações cirúrgicas e ao dano causado no sítio de colheita. Uma alternativa para o enxerto ósseo é a substituição por materiais sintéticos ou biomateriais (FOOK et al., 2010). Assim, a substituição ou reparo ósseo utilizando-se implantes ou próteses possibilita ao médico veterinário diminuir a dor e melhorar a qualidade deambulatória e de vida de seu paciente (DELLA NINA, 2008).

A aplicação de biomateriais no tratamento do tecido lesionado é uma área da saúde que tem alcançado muitos avanços, dando com isso, incentivo à pesquisa de materiais para esse fim (NICOLOSI & MORAIS, 2005). Esses compostos auxiliam no reparo ósseo e devem apresentar biocompatibilidade, previsibilidade, aplicação sem riscos transoperatórios e com ínfimas sequelas pós-cirúrgicas, além da boa adaptação relacionada ao paciente (ZAMBUZZI et al., 2005).

A hidroxiapatita é um biomaterial do grupo das cerâmicas de fosfato de cálcio muito difundida na área ortopédica, principalmente, devido ser biocompatível, atóxica e não alergênica e possuir boa bioatividade, ou seja, forte interação cerâmica/tecido ósseo, características que, de acordo com ABE et al. (1990), levam esse material a ter uma grande aceitação como implante.

A utilização da quitosana como biomaterial é interessante devido à sua compatibilidade com organismos vivos, além de economicamente ser muito viável por ser derivada de um material abundante na natureza (FRAGA et al., 2006).

Dessa forma a utilização de biomateriais, de forma isolada ou combinada, deve ser cada vez mais estimulada na Medicina Veterinária, seja na rotina clínico-cirúrgica, com o emprego daqueles implantes que já foram testados e que provou sua eficácia na regeneração óssea, seja na experimentação, para se conhecer as vantagens e desvantagens de cada material especificamente. Assim, esse trabalho tem o objetivo de fazer uma revisão de literatura a cerca dos biomateriais utilizados para reparação óssea na Medicina Veterinária, dando maior ênfase ao compósito hidroxiapatita/quitosana que recentemente vem sendo estudado.

Regeneração óssea

O osso é um sistema vivo com inúmeras funções, além de propiciar uma estrutura sobre a qual a musculatura pode funcionar. O esqueleto protege os órgãos vitais e abriga a medula óssea, essencial na produção de células do sistema hematopoiético e imune (DENNY & BUTTERWORTH, 2006). A sua função metabólica primária é servir como depósito e promover a reciclagem principalmente do cálcio, que é necessário para a condução nervosa, contração muscular, formação do coágulo e secreção celular (CASTANIA, 2002). É o único tecido capaz de reparar sem deixar cicatriz, além de viver em constante processo de remodelação (SALGADO et al., 2004).

A reparação da fratura é um processo biológico que ocorre após a ruptura do osso e/ou da cartilagem, que restaura a continuidade tecidual necessária à sua função (JONHSON, 2008). Assim, a união óssea pode ocorrer por meio de dois mecanismos diferentes de reparo: consolidação direta ou reconstrução osteonal e consolidação indireta. O que define se vai ocorrer o primeiro ou o segundo tipo de cicatrização citadas, é a quantidade de movimentação no foco da fratura, a qual vai variar com o método de estabilização utilizado (HULSE & HYMAN, 2007).

A reconstrução osteonal ocorre com o alinhamento anatômico das extremidades da fratura e com estabilidade absoluta, podendo ocorrer de dois modos: consolidação por contato, que ocorre nas zonas de contato ósseo cortical e é caracterizada pela modelagem osteonal por meio do plano de fratura, não existindo espaço entre os segmentos ósseos; e consolidação lacunar, que ocorre quando o espaço entre as extremidades ósseas é inferior a 1 mm, existindo pequenas lacunas que serão preenchidas por tecido fibroso que posteriormente será transformado em osso (HULSE & HYMAN, 2007).

A consolidação óssea indireta ocorre em um ambiente mecanicamente instável, que propicia a movimentação dos segmentos ósseos (JONHSON, 2008). Neste tipo de consolidação um calo ósseo é formado inicialmente, sendo basicamente constituído por cartilagem, que mais tarde sofrerá calcificação, ocorrendo uma combinação entre os processos de ossificação intramembranosa e endocondral. A calcificação da cartilagem do calo da fratura ocorre por um mecanismo similar ao que ocorre na placa de crescimento (SCHENK, 2003).

As técnicas biológicas de estabilização de fraturas enfatizam a manipulação mínima do ambiente da fratura para preservar os mediadores inflamatórios que irão estimular a angiogênese, a reabsorção óssea pelos osteoclastos e a proliferação de células osteoprogenitoras (JONHSON, 2008).

Enxertos ósseos

A enxertia óssea é uma parte essencial no tratamento cirúrgico de muitas condições ortopédicas, porém frequentemente pouco utilizada. Os enxertos ósseos podem ser utilizados para fazer uma ponte entre os defeitos ósseos ou para estabelecer a continuidade de um osso longo, auxiliar na fusão das articulações, preencher as cavidades ou defeitos e promover união óssea em fraturas com união tardia ou não-união (MILLIS & MARTINEZ, 2007).

Um enxerto ósseo ideal ou um substituto ósseo devem propiciar: células osteogênicas que produzem osso novo (osteogênese), fatores osteoindutores que induzem a diferenciação de células ósseas a partir de células mesenquimais indiferenciadas (osteoindução), uma matriz osteocondutora que atua como estrutura para o crescimento interno de osso novo (osteocondução) e suporte estrutural para coluna óssea (MILLIS & MARTINEZ, 2007). A escolha do material a ser utilizado vai

dependem das funções requeridas e do estado de saúde do paciente. Assim, os enxertos são classificados de acordo com seu local de coleta e sua composição.

De acordo com o seu local de origem, os enxertos podem ser classificados em auto-enxerto, enxerto alógeno ou homogêneo, xenoenxerto e enxerto aloplástico (TEIXEIRA, 2009).

O auto-enxerto é um tecido retirado de uma parte do corpo e transplantado para outro local no mesmo indivíduo. São os mais utilizados, devido à ausência de resposta imunológica, sendo sempre compatíveis (MORAES, 2002). No entanto esse tipo de enxerto tem a inconveniência de morbidade cirúrgica da fonte doadora, além de disponibilidade limitada, problemas arquitetônicos e estruturais do enxerto (VITAL, 2005).

Os enxertos alógenos ou homogêneos são obtidos de indivíduos da mesma espécie, porém com diferentes genótipos (CHIAPASCO & ROMEO, 2007). Suas principais vantagens são a disponibilidade, a eliminação de um sítio doador no paciente, a diminuição do tempo cirúrgico e a diminuição da perda sanguínea. As desvantagens estão relacionadas principalmente ao fato dos tecidos serem oriundos de outro indivíduo, com possibilidades de transmissão de doenças infecciosas (TEIXEIRA, 2009).

Os xenoenxertos consistem na transferência de tecidos retirados de um animal e transplantado em outro de espécie diferente. Dentre as várias opções de biomateriais disponíveis o enxerto bovino tem se mostrado como uma alternativa para as mais diversas modalidades, existindo uma variedade de estudos que sustentam as suas indicações (MAIORANA et al., 2005).

Os enxertos aloplásticos são dispositivos de origem sintética. São exemplos de biomateriais mais utilizados nas cirurgias médicas e odontológicas os metais ou ligas metálicas (titânio, titânio-alumínio-vanádio, ferro-cromo-níquel), as cerâmicas (hidroxiapatita, trifosfato de cálcio), os polímeros (poliamida, polipropileno, polimetilmetacrilato) e os compósitos (amálgama) (CALIXTO, 2001).

Quanto à composição, os enxertos/implantes podem ser esponjosos, corticais, corticoesponjosos, osteocondrais ou de medula óssea. O esponjoso consiste de tecido ósseo trabecular altamente celular, removido da cavidade medular da região metafisária dos ossos longos; o cortical é composto por osso compacto, que promove principalmente suporte estrutural; o cortico-esponjoso é a associação dos dois anteriores; o osteocondral resulta da associação entre cartilagem articular e osso subcondral; e o de medula óssea constitui-se de células mesenquimais indiferenciadas (MILLIS & MARTINEZ, 2007).

Biomateriais

Os biomateriais podem ser definidos como substâncias, ou a combinação de duas ou mais substâncias, de origem natural ou sintética, que são toleradas de forma transitória ou permanente pelos diversos tecidos que constituem os órgãos dos vertebrados (CALIXTO, 2001). Eles devem ser inertes, degradáveis e/ou absorvíveis, além de favorecerem o crescimento ósseo por condução e, se possível, por indução. Essas características dependem das propriedades físicas e químicas do material, que devem ser compatíveis com as reações fisiológicas do osso (BORGES, 1998). Dessa forma, seu constante uso no reparo de partes danificadas do tecido ósseo tem revolucionado a ortopedia e a odontologia atuais (FRANCO et al., 2001; LEGEROS, 2002; MORAES, 2002).

Alguns biomateriais sintéticos com estrutura físico-química similar à matriz óssea têm sido desenvolvidos para permitir a rápida penetração das células, nervos e vasos sanguíneos em direção ao interior do material. Com isso é possível a regeneração e remodelação do tecido natural, mantendo sua função biológica (YUNOKI et al., 2005), uma vez que servem como arcabouço para células específicas no estágio desejado e/ou moléculas sinalizadoras, a fim de maximizar o crescimento do tecido ósseo e, portanto, a velocidade do reparo (WHAL & CZERNUSZKA, 2006).

A função dos biomateriais é promover rápida formação óssea, estabelecendo uma total integração e uma substituição gradual do biomaterial por osso novo (GAROFALO, 2007). Os mais utilizados na regeneração óssea são o fosfato tricálcio, que é uma forma porosa do fosfato de cálcio, e a hidroxiapatita, que tem como característica sua constituição semelhante ao osso, por ser formada basicamente por íons cálcio e fosfato (WILSON et al., 2007). Ressalva-se a possibilidade de formação de compósitos entre os vários tipos de implantes, possibilitando que vantagens específicas de cada biomaterial sejam somadas (PEREIRA et al., 2006).

Hidroxiapatita

A hidroxiapatita pertence ao grupo das cerâmicas de fosfato de cálcio. Sua estrutura química é representada pela fórmula $C_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (SCHMITZ et al., 1999), podendo ter origem nos corais e algas, ser derivado de mineral ósseo natural ou ainda desenvolvido sinteticamente. Quando sintetizada em laboratório fica livre de impurezas que retardam a osteogênese, além disso, o tamanho, a forma e a porosidade do produto podem ser controlados e pré-determinados (BORGES, 1998).

A hidroxiapatita é uma das cerâmicas mais biocompatíveis devido à semelhança com os constituintes minerais dos ossos e dentes humanos (FOOK et al., 2010). Possui

vantagens como a sua composição uniforme, alta biocompatibilidade, segurança (não é tóxica, nem alergênica ou carcinogênica) e pelo fato de sua microestrutura (tamanho dos poros) ser completamente controlável (ONO et al., 2000). Por isso, vem sendo estudada como um possível material substituto para osso e implantes dentários (PRETORIOUS et al., 2005).

A estrutura porosa da hidroxiapatita funciona como suporte passivo à neoformação vascular, o que leva à proliferação de fatores indutores da aposição óssea (BORGES, 1998). A porosidade, desta forma, irá permitir a migração e proliferação de osteoblastos e células mesenquimais, além da deposição de matriz óssea nos espaços vazios (MASTROGIACOMO et al., 2006), o que resulta em formação de novo osso, em aposição direta ao biomaterial (LEGEROS, 2002).

A hidroxiapatita sintética é considerada um material osteocondutor por acelerar a formação de osso novo ao redor do implante e, com isso, reduzir o tempo de cicatrização, diminuindo, conseqüentemente, o tempo total de tratamento (ALMEIDA et al., 2002). Assim, vários estudos foram realizados utilizando a hidroxiapatita com diferentes proporções de cálcio e fósforo, com o objetivo de verificar sua função na regeneração óssea, sendo comprovada essa sua propriedade osteocondutora (REZENDE et al., 1998; VITAL et al., 2006), com resultados satisfatórios o suficiente para ser indicada como alternativa para a enxertia óssea na rotina clínica (FRANCO et al., 2001; LEGEROS, 2002).

Esse biomaterial pode ser associado a diversos materiais, principalmente com o intuito de potencializar sua propriedade osteocondutora, sua capacidade de fixação ao osso e sua resistência mecânica (MORAES, 2002).

FRANCO (2000) avaliou o processo de reparação óssea utilizando hidroxiapatita associada ao colágeno e ao lipossoma, e observou que a reparação nos animais tratados com os dois tipos de compósitos foi normal e semelhante ao grupo que não recebeu tratamento. Esse mesmo autor ainda observou que o colágeno retarda a regeneração óssea, demonstrando ter menor capacidade osteocondutora do que a hidroxiapatita associada a outros componentes.

Outro estudo, realizado por VITAL et al. (2006), analisou a hidroxiapatita sintética associada apenas ao carbono e associada ao carbono e ao fosfato biácido de sódio, no preenchimento de defeito ósseo na ulna de coelhos e observou que o processo de regeneração óssea ocorreu mais cedo do que nos animais do grupo-controle, comprovando a capacidade osteocondutora da hidroxiapatita.

CARLO et al. (2009) investigou a resposta ao compósito associando a hidroxiapatita sintética ao polihidroxibutirato (PHB), no qual essa combinação mostrou-se biocompatível, já que as características mecânicas do PHB são compatíveis com as do osso, mas este não é bioativo, que é uma característica importante para a osteointegração.

MARTINEZ et al. (2009) avaliaram em seu estudo a eficácia da hidroxiapatita associada à lignina no processo de osseointegração entre um implante metálico e o tecido ósseo em coelhos, observando que o compósito não mostrou indícios clínicos de rejeição e que ocorreu a integração com o tecido ósseo.

Quitosana

A quitosana é um polímero natural proveniente da reação de desacetilação da quitina, um dos mais abundantes polissacarídeos encontrados na natureza. A quitina é originada principalmente de exoesqueletos de crustáceos, moluscos e insetos (DAROZ

et al., 2008). É um dos compostos mais utilizados para preparar compósitos de fosfato de cálcio devido às suas características de biocompatibilidade, biodegradação e inocuidade (PENICHE et al., 2010). Genericamente sua estrutura molecular é $(C_6H_{11}O_4)_N$, sendo classificado como um polissacarídeo e apresentando estrutura molecular bem semelhante a celulose (AZEVEDO, 2007).

Suas aplicações na área de biomateriais são: sistema de liberação controlada de fármacos, pele artificial, manufatura de lentes de contato, engenharia tecidos, membranas artificiais, periodontais e ortopédicas, entre outras (BERGER et al., 2004). Ainda tem sido usada como floculante e adsorvente no tratamento de águas residuais (KAWACHI et al., 2000). Todas essas aplicações da quitosana só tem sido possível devido suas características como biocompatibilidade e biodegradabilidade (JAYAKUMAR et al., 2011). Polímeros de quitina são constituídos por arranjos paralelos de pontes de hidrogênio que conferem melhores propriedades mecânicas, com alta resistência a cargas, bem como estabilidade ao enxerto, características extremamente importantes especialmente nos estágios iniciais de formação óssea, assim este polímero pode atuar como material substituto ósseo que ao longo do tempo vai sendo substituído por osso natural (MUZZARELI & MUZZARELI, 2002).

A quitosana pode ser apresentada na forma de gel, pasta, membranas e em diferentes granulações do pó (GERENTES et al., 2002). Assim sua própria estrutura química, similar a estrutura do ácido hialurônico, reforça a sua indicação como agente cicatrizador e reparador, pois a quitosana é capaz de aumentar as funções das células inflamatórias como os leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, promovendo organização celular e atuando no reparo de feridas amplas (UENO et al., 2001). Além disso, ela apresenta características como não induzir resposta inflamatória em modelos

implantados (DONATI et al., 2004) e propriedades semelhantes ao glicosaminoglicano, sugerindo que é um polímero bioativo, uma vez que esta garante adesão celular através de proteínas receptoras presentes nas membranas das células, estimulando a proliferação e diferenciação (DI MARTINO et al., 2005).

A combinação da quitosana com outros materiais têm sido amplamente estudadas (SPIN NETO, 2008). O “mix” entre substâncias sintéticas e naturais, orgânicas e inorgânicas cria novos biomateriais com propriedades físicoquímicas e biológicas mais amplas, favorecendo a aplicação clínica desses materiais (KIM et al., 2008).

O polímero quitosana vem sendo estudado em muitos campos biomédicos, incluindo a engenharia de tecidos para o osso (ZHAO et al., 2006) e tecido nervoso (AO et al., 2006). No entanto, não é o material ideal, pois como maioria dos polímeros, sua bioatividade precisa ser melhorada combinando-a a outros materiais bioativos (KONG et al., 2006). Esse mesmo autor realizou um estudo *in vitro* para investigar a bioatividade da quitosana/hidroxiapatita e observou que os compósitos apresentaram melhor bioatividade do que a quitosana isolada.

Associação hidroxiapatita/quitosana

Recentemente alguns estudos relatam a caracterização e testes principalmente *in vitro* da associação hidroxiapatita/quitosana (MOHAMED et al., 2011; SARAVANAN et al., 2011;), isso se torna necessário para somar as vantagens de cada biomaterial.

A hidroxiapatita não tem capacidade osteoindutiva, atuando como matriz passiva para o crescimento ósseo, razão pela qual é considerada como um material osteocondutor (BORGES, 1998; REZENDE et al., 1998).

SPIN NETO (2008) desenvolveu biomateriais a base de quitosana e utilizou na correção de defeitos ósseos críticos na calvária de ratos. Os resultados radiográficos e histológicos indicaram que o uso desses biomateriais, não foi capaz de promover neoformação óssea nos defeitos ósseos críticos criados em calvária de ratos.

Apesar de poucos trabalhos relatarem o uso *in vivo* do compósito hidroxiapatita/quitosana (DANILCHENKO et al., 2009; KASHIWAZAKI et al., 2010; POGORELOV et al., 2011), estes citam que esse compósito foi totalmente substituído por tecido ósseo recém-formado no interior da falha óssea produzida experimentalmente.

CONCLUSÃO

O compósito hidroxiapatita-quitosana auxilia no processo de reparação óssea em humanos, cães, coelhos e ratos, sendo necessários mais estudos utilizando outras espécies animais para que se possa indicar com mais segurança seu uso na rotina cirúrgica nos casos de afecções ósseas e fraturas.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado.

REFERÊNCIAS

ABE, Y. et al. Apatite coatings on ceramics, metals and polymers utilising a biological process. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 1, p. 536- 540, 1990. *doi*: 10/1089/ten.tea.2008.0023.

ALMEIDA, J.M.V. et al. Avaliação da adesão de hidroxiapatita sobre implantes metálicos utilizando jato com suspensão de bicarbonato de sódio. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 18, n. 3, p. 133-139, 2002.

AO, Q. et al. Manufacture of multimicrotubule chitosan nerve conduits with novel molds and characterization in vitro. **Journal Biomedical Materials Research A.**, v.77, n.1, p.11–8, 2006. Disponível em: <
<http://www.chemeng.queensu.ca/courses/CHEE874/lectures/documents/Pohn.pdf>>. Acesso: 20 set.2011. doi: 10.1002/jbm.a.30593.

AZEVEDO, V.V.C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos.** v. 23, p. 27-34, 2007.

BERGER, J. et al. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.57, p.19-34, 2004. Disponível em: <
<http://www.journals.elsevier.com/european-journal-of-pharmaceutics-and-biopharmaceutics/#description>>. Acesso em 20 set. 2011. doi: 10.1016/S0939-6411(03)00160-7.

BORGES, A.P.B. **O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço proximal da tíbia de cães (*Canis familiaris*): estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodisperção.** 1998. 112p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Curso de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.

CALIXTO, R.F.E. **Implante de um floculado derivado de resina do óleo de mamona (*Ricinus communis*) em alvéolo de rato imediatamente após a extração dental. Avaliação histológica e histométrica da biocompatibilidade e da cronologia do reparo ósseo.** 2001.72f. Tese (Mestrado em Odontologia) Universidade de São Paulo.

CARLO, E.C. et al. Compósito para fabricação de implantes reabsorvíveis para osteossíntese: avaliação da biocompatibilidade em coelhos. **Ciência Rural**, v.39, n.1, p.135-140, 2009.

CASTANIA, V. A. **Enxerto cortiço-esponjoso homólogo processado quimicamente e esterilizado com óxido de etileno em cães – Análise mecânica e estudo de integração por meio de radiografias**. 2002. 72f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia (EESC/FMRP/IQSC), Universidade de São Paulo.

CHIAPASCO, M.; ROMEO, E. Cirurgia pré-implante nas atrofia dos maxilares. In: _____ Reabilitação oral com prótese implantossuportada para casos complexos. São Paulo: Santos, 2007. 3v, Cap.10, p.131-62.

DAROZ, L.R.D. et al. Prevention of postoperative pericardial adhesions using thermal sterile carboxymethyl chitosan. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v.23, n.4, p.480-487, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-76382008000400005>.

Acesso em: 20 set. 2011. doi: 10.1590/S0102-76382008000400005 .

DANILCHENKO, S. N. et al. Chitosan–hydroxyapatite composite biomaterials made by a one step co-precipitation method: preparation, characterization and in vivo tests. **Journal of Biological Physics and Chemistry**, v.9, p.119–126, 2009.

DELLA NINA, M.I. **Estudo biomecânico do comportamento de diferentes espessuras de capa de cimento ósseo em novo modelo de prótese modular diafisária femoral em cão submetidas a ensaio de torção**. 2008. 150f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Pós-graduação em clínica cirúrgica veterinária, Universidade de São Paulo.

DENNY, H.R.; BUTTEWORTH, S.J. **Cirurgia ortopédica em cães e gatos**. 4.ed. São Paulo: Roca, 2006.496p.

DI MARTINO, A. et al. Chitosan: A versatile biopolimer for orthopaedic tissue engineering. **Biomaterials**, v.26, p. 5983-90, 2005. Disponível em: www.elsevier.com/locate/biomaterials. Acesso em: 20 dez. 2011. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.03.016.

DONATI, I. et al. The aggregation of pig articular chondrocyte and synthesis of extracellular matrix by a lactose-modified chitosan. **Biomaterials**, v.26, p. 987-998, 2004.

FOOK, A.C.B.M. et al. Desenvolvimento de biocerâmicas porosas de hidroxiapatita para utilização como scaffolds para regeneração óssea. **Revista Matéria**, v. 15, n. 3, p.392–399, 2010.

FRAGA, A.F. et al. Ensaio mecânico de membranas de quitosana recobertas com hidroxiapatita: efeito da adição de hidróxido de sódio, Foz do Iguaçu, PR, 2006. In: 17º CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 1., 2006, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...**Foz do Iguaçu: Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 2006.v.1. 10, 2715-2725.

FRANCO, K.L. **Avaliação clínico-cirúrgico, radiológica e histológica da reparação óssea após a utilização HAP-91, COL. HAP-91, INT. HAP-91 em defeito provocado experimentalmente na tíbia de cães**. 2000. 22f. Monografia (Especialização em Medicina Veterinária) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa.

FRANCO, K.L. et al. Hidroxiapatita sintética pura, hidroxiapatita associada ao colágeno e hidroxiapatita sintética associada ao lipossoma como substitutos ósseos em defeitos

provocados na tíbia de cães: aspectos da osteointegração à microscopia de luz transmitida. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, p.431-436, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352001000400007>.

Acesso em: 04 ago. 2010. doi: 10.1590/S0102-09352001000400007.

GALEA, L.G. et al. Bone substitute: transforming β -tricalcium phosphate porous scaffolds into monetice. **Biomaterials**, v. 29, pp. 3400-3407, 2008.

GAROFALO, G.S. Autogenous, allogenic and xenogenic grafts for maxillary sinus elevation: literature review, current status and prospects. **Minerva Stomatol**, v.56, p.373-392, 2007.

GERENTES, P. et al. Study of a chitin-based gel as injectable material in periodontal surgery. **Biomaterials**, v.23, p.1295-302, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961201002472>>. Acesso em: 12 dez. 2011. doi: 10.1016/S0146-9612(01)00247-2.

HULSE, D.; HYMAN, B. Biomecânica e biologia das fraturas. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. Manole: São Paulo, 2007. v.2, Cap. 122, p. 1785 – 1792.

JAYAKUMAR, R. et al. Fabrication of chitin-chitosan/nano ZrO(2) composite scaffolds for tissue engineering applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2011.

JOHNSON, A.L. Fundamentos da cirurgia ortopédica e manejo de fraturas. In: FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2008. Cap. 31, p. 930-1114.

KASHIWAZAKI, H. et al. *In vivo* Evaluation of a Novel Chitosan/ HAp Composite Biomaterial as a Carrier of rhBMP-2. **Journal of Hard Tissue Biology**, v.19, n.3, p.181-186, 2010.

KAWACHI, E.Y. et al. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, v.23, p.518-522, 2000.

KIM, I.Y. et al. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. **Biotechnology Advances**, 26, p.1-21, 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975007000948>>. Acesso em: 20 dez. 2011. doi: 10.1016/j.biotechadv.2007.07.009.

KONG, L. et al. A study on the bioactivity of chitosan/nano hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. **European Polymer Journal**, v.42, p.3171–3179, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305706002746>>. Acesso em: 12 dez. 2011. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2006.08.009.

LEGEROS, R.Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v.395, p.81-98, 2002.

MAIORANA, C. et al. Reduction of autogenous bone graft resorption by means of Bio-Oss coverage: A prospective study. **International Journal Periodontics Restorative Dentistry**, v.25, p.19-25, 2005.

MARTINEZ, M.M. et al. Osseointegração clínica-radiológica do compósito hidroxiapatita-lignina entre implante metálico e tecido ósseo em coelho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.4, p.835-843, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352009000400010>. Acesso em: 20 ago. 2011. doi: 10.1590/S0102-09352009000400010.

MASTROGIACOMO, M. et al. Role of scaffold internal structure on in vivo bone formation in macroporous calcium phosphate bioceramics. **Biomaterials**, v.27, p.3230-3237, 2006. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961206000883> >. Acesso em: 20 ago. 2011. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.01.031.

MILLIS, D.L.; MARTINEZ, S.A. Enxertos Ósseos. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. Manole: São Paulo, 2007. 2v., Cap. 133, p. 1875 – 1889.

MOHAMED, K.R.A. et al. In vitro properties of nano-hydroxyapatite/chitosan biocomposites. **Ceramics International**, v.37, p.3265–3271, 2011. doi: 10.1016/j.ceramint.2011.05.121.

MORAES, P.C. **Biocompatibilidade e comportamento do cimento de fosfato de cálcio, reforçado com diferentes tipos de fibras, implantado no rádio de coelhos**. 2002. 73f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Curso de pós-graduação em cirurgia veterinária, Universidade Estadual Paulista.

MUZZARELLI, C.; MUZZARELLI, R.A. Natural and artificial chitosan-inorganic composites. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.92, p.89-94, 2002. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0162013402004865> >. Acesso: 20 ago. 2011. doi: 10.1016/S0162-0134(02)00486-5.

NICOLOSI, J.G; MORAIS, A.M. Biomateriais destinados à terapia de queimaduras: Estudo entre o custo e o potencial de efetividade de curativos avançados, Campinas, SP, 2005. In: VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 2005, Campinas, SP. **Anais...**Campinas: Faculdade de engenharia química, 2005, v.1,p.3-6.

OLIVEIRA, A.A.R. et al. Avaliação das propriedades mecânicas de espumas híbridas de vidro bioativo/álcool polivinílico para aplicação em engenharia de tecidos. **Revista Matéria**, v. 12, n. 1, p. 140 – 149, 2007.

ONO, I. et al. Evaluation of a high density polyethylene fixing system for hydroxyapatite ceramic implants. **Biomaterials**, v.21, p.143-151, 2000. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961299001416> >. Acesso: 20 ago. 2011. doi: 10.1016/S0142-9612(99)00141-6.

PENICHE, C. et al. Chitosan/hydroxyapatite-based composites. **Biotecnología Aplicada**, v.27, p.202-210, 2010.

PEREIRA, M.M. et al. Materiais cerâmicos – ciência e aplicação como biomateriais. In: ORÉFICE, R. L. et al. **Biomateriais Fundamentos & Aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura médica, 2006. Cap. 3, p. 61-81.

POGORELOV, M.V. et al. In-vivo tests of new chitosan hydroxyapatite composite biomaterials. **Bone**, v. 48, n.2, p.167, 2011.

PRETORIUS, J.A. et al. Histomorphometric evaluation of factors influencing the healing of bone defects surrounding implants. **International Journal Oral Maxillofacial Implants**, v.20, p.387-98, 2005.

REZENDE, C.M.F. et al. Aspectos clínicos cirúrgicos e radiográficos da hidroxiapatita sintética na diáfise proximal da tíbia de cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, p.537-545, 1998.

SALGADO, A.J. et al. Bone tissue engineering: state of the art and future trends. **Macromolecular Bioscience**, Weinheim, v. 4, p. 743-765, 2004. Disponível em: <<http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/4035/1/0091.pdf>>. Acesso: 20 ago.2011. doi: 10.1002/mabi.20040002.

SARAVANAN, S. et al. Preparation, characterization and antimicrobial activity of a bio-composite scaffold containing chitosan/nano hydroxyapatite/nanosilver for bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.49, n.2, p.188-193, 2011.

SCHENK, R.K. Biology of fracture repair. In: Browner, B.D. **Skeletal trauma: basic science, management, and reconstruction**. 3.ed. Philadelphia: Elsevier, 2003. 2v., p. 29-73.

SCHMITZ, J.P. et al. Reconstruction of bone using calcium phosphate bone cements: a critical review. **Journal Oral Maxillofacial Surgery**, v.57, p.1122-1126, 1999. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278239199903385> >. Acesso em: 23 jul. 2011. doi: 10.1016/S0278-2391(99)90338-5.

SPIN NETO, R. **Desenvolvimento e aplicação de biomateriais à base de quitosana para reconstrução óssea: avaliação radiográfica e histológica**. 2008. 130f. Dissertação (Mestrado em Periodontia), Curso de pós-graduação em periodontia, Universidade Estadual Paulista.

TEIXEIRA, L.J.C. **Potencial osteocondutor de grânulos de hidroxiapatita em defeitos críticos na calvária de ratos**. 2009. 71f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Curso de pós-graduação em odontologia, Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”.

UENO, H. et al. Chitosan accelerates the production of osteopontin from polymorphonuclear leukocytes. **Biomaterials**, v.22, p. 1667-73, 2001. Disponível em: < <http://144.206.159.178/FT/114/41806/732060.pdf> >. Acesso: 10 mar.2010. doi: S0142-9612(00)00328.

VITAL, C.C. **Hidroxiapatita associada à lignina no preenchimento de falha óssea experimental na tíbia de coelhos**. 2005. 57f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Curso de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa.

VITAL, C.C. et al. Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.2, p.175-183, 2006.

YUNOKI, S. et al. Control of pore structure and mechanical property in hydroxyapatite/collagen composite using unidirectional ice growth. **Materials Letters**, v.60, p. 999-1002, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167577X05010499>>. Acesso: 20 mar. 2010. doi: 10.1016/j.matlet.2005.10.064.

ZAMBUZZI, W.F. et al. Reação tecidual e perfil de fosfatases após o implante de matriz óssea desmineralizada xenogênica em músculo de ratos. **Ciência Odontológica Brasileira**, São José dos Campos, v. 8, n. 2, p. 90-98, 2005. doi: ojs.fosjc.unesp.br/index.php/cob/article/download/393/320.

ZHAO, F. et al. Effects of hydroxyapatite in 3-D chitosan-gelatin polymer network on human mesenchymal stem cell construct development. **Biomaterials**, v.27, n.9, p.1859–67, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961205008793>>. Acesso: 20 jan. 2012. Doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.09.031.

WAHL, D.A.; CZERNUSZKA, J.T. Collagen- Hydroxyapatite Composites for Hard Tissue Repair. **European Cells and Materials**, v. 11, p. 43-56, 2006. Disponível em: <<http://www.ecmjournal.org/journal/papers/vol011/pdf/v011a06.pdf>>. Acesso: 20 jan. 2012.

WILSON, L.F. et al. Comparative performance of three ceramic bone graft substitutes. **The Spine Journal: Official Journal of the North American Spine Society**, v. 7, n. 4, p. 475-490, 2007. Disponível em: <<http://www.apatech.com/lib/docs/155805-sp2correctingtsj2006.pdf>>. Acesso: 20 jan. 2012.

CAPÍTULO II
HIDROXIAPATITA ASSOCIADA À QUITOSANA NO PREENCHIMENTO DE
FALHA ÓSSEA EM COELHOS

Manuscrito submetido à revista
Arquivo Brasileiro de Medicina
Veterinária e Zootecnia - ISSN 1678-
4162 versão online.

Hidroxiapatita associada à quitosana no preenchimento de falha óssea em coelhos

[Hydroxyapatite associated to chitosan in filling bone defects in rabbits]

F.G.F. Filgueira^{1*}, P.I. Nóbrega Neto², I.C.P. Uchôa¹, A.L. Araújo³, L.M. Oliveira¹,
M.J.C. Sá², M.V.L. Fook⁴

¹ Mestrando (a) do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande/Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Avenida Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos/PB CEP: 59.618-000. *E-mail: bricia_geovana@hotmail.com, Telefone: (084)3314-5702; ² Professor Doutor da UFCG/CSTR; ³ Doutoranda em Medicina Veterinária da UFCG/CSTR; ⁴ Professor Doutor da UFCG/Campina Grande.

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar um compósito de hidroxiapatita associada à quitosana, no preenchimento de falha óssea na tíbia de coelhos, por meio de uma análise clínico-cirúrgica, radiológica e histológica. Para tanto, foram utilizados 12 coelhos adultos, nos quais foi produzida uma falha óssea na face medial de ambas as tíbias. Na tíbia esquerda introduziu-se o compósito, sendo este o grupo biomaterial (GB), e na tíbia direita não se colocou nada, sendo esse o grupo controle (GC). A avaliação clínica baseou-se na presença de reação inflamatória, infecção, dor e deiscência da sutura. Foram realizadas radiografias imediatamente após a cirurgia e aos 30 e 60 dias de pós-cirúrgico. Para a avaliação histológica foi realizado um estudo comparativo das reações entre os grupos e momentos. Nas feridas cirúrgicas não foram observados secreção, dor ou deiscência. Na avaliação radiográfica, a radiopacidade do GB foi maior que a do GC apenas aos 30 dias pós-cirúrgicos. Na histologia comparativa entre os grupos, o GB apresentou regeneração óssea mais rápida em relação ao GC. Concluiu-se que o compósito é biocompatível, promove a osseointegração, acelera a fase inicial do processo de reparação óssea e sua biodegradação demora mais de 60 dias.

Palavras-chave: biomateriais, cirurgia, reparação óssea

ABSTRACT

The objective this work was to evaluate a composite of hydroxyapatite associated to chitosan in filling bone defects of rabbit's tibia, by analyzing clinical-surgical, radiological and histological findings. Twelve rabbits were used. A defect was made in the proximal region of medial surfaces of both tibias. The left tibia defect received the composite (biomaterial group - GB), and in right tibia don't put anything (control group - GC). Clinical evaluation was based on the presence of inflammation, infection, pain and dehiscence. Radiographs were made immediately after surgery and on 30th and 60th postoperative days. For the histological evaluation a comparative study of reactions between groups and moments was carried out. In the surgical wounds weren't observed secretions, pain or dehiscence. In radiographic evaluation, the radiopacity of the GB was higher than the GC only at 30th postoperative day. In comparative histology between the groups, the GB showed faster bone regeneration compared to the GC. It can be concluded that the composite is biocompatible, promotes osseointegration, accelatares the initial phase of bone repair process and their biodegradation takes more than 60 days.

Key-words: biomaterials, surgery, bone repair

INTRODUÇÃO

A regeneração óssea é requerida em muitas condições ortopédicas, principalmente nos casos de defeitos provocados por fraturas, não-união e nos casos de perda óssea devido a neoplasias ou processos infecciosos, afetando significativamente a qualidade de vida dos seus portadores. Em muitos casos, o tratamento requer o uso de implantes ósseos, sendo dessa forma os biomateriais alvo de pesquisas constantes.

Os biomateriais são compostos naturais ou sintéticos que auxiliam no reparo ósseo e devem apresentar biocompatibilidade, previsibilidade, aplicação sem riscos transoperatórios e ínfimas sequelas pós-cirúrgicas, além da boa adaptação relacionada ao paciente. Entre eles estão os materiais metálicos, os polímeros e as cerâmicas (Teixeira, 2001; Zambuzzi et al., 2005).

A hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ pertence ao grupo das cerâmicas de fosfato de cálcio, apresentando uma grande semelhança com os constituintes minerais dos ossos e dentes dos animais (Fook et al., 2010). Esse material tem sido sintetizado e utilizado

para fabricação de diversas formas de implantes, tais como blocos, grânulos e recobrimentos, densos ou porosos (Billotte, 2006). Apresenta-se como referência para substituição e regeneração óssea, pois além da sua similaridade com a parte mineral de ossos e dentes, exibe excelente osteocondutividade, bioatividade, permite a proliferação de células ósseas (fibroblastos e osteoblastos), as quais não a distinguem da superfície do osso, e hidrofiliçidade, permitindo a umidificação de sua superfície por líquidos corporais (Rey et al., 2007).

A quitosana tem sido considerada como um dos mais atraentes polímeros naturais para aplicação na engenharia biomédica, devido à sua semelhança estrutural com as glicosaminoglicanas, encontradas nos ossos, além de características como biodegradabilidade, biocompatibilidade e excelentes propriedades mecânicas (Yamaguchi et al., 2001; Rusu et al., 2005). Sua fórmula química é representada por 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose, unidas por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$. Genericamente sua estrutura molecular é $(C_6H_{11}O_4)_N$, sendo classificada como um polissacarídeo e apresentando estrutura molecular bem semelhante à celulose (Tonhi e Plepis, 2002; Azevedo et al., 2007).

Vários autores recomendaram a associação da hidroxiapatita particulada com outras substâncias, tais como quitosana (Danilchenko et al., 2009; Kashiwazaki et al., 2010), lignina (Martinez et al., 2009) e polihidroxibutirato (Carlo et al., 2009), entre outros, para facilitar o manuseio e a adaptação adequada do material, minimizando o desalojamento das partículas (Costa et al., 2009). Pereira et al. (2006), ressalvaram a possibilidade de formação de compósitos entre os variados tipos de implantes possibilitando que vantagens específicas de cada biomaterial sejam somadas.

Mohamed et al. (2011), estudaram o comportamento *in vitro* de compósitos de nano-hidroxiapatita/quitosana e verificaram que estes biomateriais podem ser aplicados na engenharia de tecidos ósseos. Dessa forma, com o intuito de buscar substitutos ósseos que estimulem uma reparação óssea mais rápida e sem causar danos ao paciente, objetivou-se avaliar a utilização de um compósito de hidroxiapatita associada à quitosana, no preenchimento de falha óssea na tíbia de coelhos, por meio de uma análise clínico-cirúrgica, radiológica e histológica.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado Hospital Veterinário (HV) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) em Patos, Paraíba e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição (CEP – Protocolo Nº 28/2010).

Foram utilizados 12 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) hípidos, adultos, machos, sem raça definida, pesando $1,95 \pm 0,27$ kg (média \pm desvio padrão), e $1 \pm 0,2$ anos de idade, provenientes de um criatório comercial. Eles foram mantidos em gaiolas individuais onde receberam ração comercial e água *ad libitum*. Foram tratados com uma dose única de ivermectina¹ (0,5 mg/kg, por via subcutânea) antes de serem confinados nas gaiolas, com finalidade de desverminação. Todos os animais passaram por um período de adaptação de no mínimo sete dias, antes do início do experimento.

Os implantes utilizados neste estudo foram fornecidos pelo Grupo de Biomateriais do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e apresentavam formato cilíndrico, com 5 mm de diâmetro e 3 mm de altura, sendo necessário durante o procedimento cirúrgico reduzir seu tamanho com o auxílio de uma lâmina de bisturi número 24 estéril, sendo implantando em cada animal 3 mm por 1 mm. Antes do uso os implantes foram esterilizados em estufa, a 180° Celsius, por 30 minutos.

Foram compostos dois grupos experimentais, representados por cada um dos membros pélvicos de cada animal, sendo um constituído pelas tíbias tratadas com hidroxiapatita/quitosana (proporção 40:1) (grupo biomaterial - GB) e o outro formado pelas tíbias que não receberam tratamento com o biomaterial (grupo controle - GC).

No pré-operatório os animais foram submetidos a jejum alimentar por seis horas e hídrico por uma hora. Imediatamente antes do procedimento cirúrgico realizou-se tricotomia de região femoral distal até o calcâneo. Em seguida induziu-se a anestesia com propofol², na dose de 4 mg/kg, por via intravenosa. Após a anestesia geral, procedeu-se a anestesia epidural lombossacra, usando uma associação de xilazina³ (0,3 mg/kg) e lidocaína⁴ na quantidade suficiente para completar a dose de 0,2 mL/kg. Cinco

¹ Ivomec – Merial Brasil Ltda. – Paulínia - SP

² Propovan 1% - Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda. – São Paulo - SP

³ Sedomin 10% - König do Brasil Ltda. – Santana de Parnaíba - SP

⁴ Lidovet 2% - Laboratório Bravet Ltda. – Rio de Janeiro - RJ

minutos após a realização da anestesia epidural o animal foi colocado em decúbito lateral esquerdo, sobre colchão térmico, e realizou-se a antissepsia da área operatória, com clorexidina 0,5%⁵. Após a delimitação da área operatória com panos de campo, uma incisão cutânea foi efetuada ao nível da face medial da crista da tíbia esquerda, expondo-a por meio de divulsão do tecido subcutâneo e tecido muscular com auxílio de tesoura Metzembaun e elevador de periósteo. Em seguida, foi produzido um orifício córtico-medular na tíbia com uma broca de 3 mm de diâmetro com irrigação constante de solução salina isotônica, após o que introduziu-se o implante de hidroxiapatita/quitosana. Os tecidos incisados foram suturados utilizando-se fio de náilon 3-0 com padrão simples separado tanto na redução de espaço morto como na dermorráfia. Em seguida o animal foi colocado em decúbito lateral direito e o mesmo procedimento foi realizado na tíbia direita, exceto pelo preenchimento do orifício cortico-medular tibial, não realizado neste membro. Todas as cirurgias foram realizadas pelo mesmo cirurgião.

Nos primeiros sete dias do pós-cirúrgico, foi realizada a limpeza da ferida cirúrgica com solução de NaCl 0,9%⁶ e aplicação tópica de rifamicina spray⁷, além da administração de enrofloxacin 10%⁸, na dose de 10 mg/kg, via intramuscular, a cada 24 horas, durante sete dias; e meloxicam 0,2%⁹, na dose de 0,2 mg/kg no primeiro dia e 0,1 mg/kg no segundo e terceiro dias, a cada 24 horas, por via subcutânea. As suturas cutâneas foram removidas no oitavo dia pós-operatório.

A avaliação clínica das feridas cirúrgicas foi feita diariamente, durante os dez primeiros dias de pós-operatório, observando a presença de reação inflamatória, infecção, dor e deiscência da sutura.

Foram realizadas radiografias nas projeções craniocaudal (CC) e mediolateral (ML) dos membros operados, imediatamente após a cirurgia e aos 30 e 60 dias pós-operatórios, visando avaliar a morfologia óssea das tíbias e acompanhar o processo de reparação óssea. Para a avaliação radiográfica foi empregada uma escala gradual de radiopacidade, proposta por Azevedo (2011) (Tab. 1). Essa avaliação foi realizada por

⁵ Riohex 0,5% - Rioquímica Indústria Farmacêutica Ltda. – São José do Rio Preto - SP

⁶ Solução de Cloreto de Sódio 0,9% - Isofarma Industrial farmacêutica Ltda. – Eusébio - CE

⁷ Rifocina spray – Laboratório Sanofi do Brasil Ltda. – Suzano - SP

⁸ Floxiclin 10% - Biofarma Química e Farmacêutica Ltda. – Jaboticabal - SP

⁹ Maxicam injetável 2% - Ouro Fino Saúde Animal Ltda. – Cravinhos - SP

três avaliadores, tendo-se somado os valores e obtido a média para cada lesão óssea avaliada.

Tabela 1: Escala gradual para avaliação do grau de radiopacidade da lesão óssea produzida experimentalmente na tíbia de coelhos.

Graus de Radiopacidade	Valores atribuídos	Descrição da reação óssea
Ausência de radiopacidade	0	Ausência de reação periosteal
Radiopacidade discreta	1	Reação periosteal apenas nas bordas da lesão óssea
Radiopacidade moderada	2	Reação periosteal nas bordas da lesão com radiopacidade evoluindo concentricamente sem consolidação completa da lesão óssea
Radiopacidade acentuada	3	Consolidação completa da lesão óssea

Fonte: AZEVEDO, 2011.

Para a coleta dos fragmentos ósseos seis animais foram eutanasiados aos 30 dias e outros seis aos 60 dias pós-operatórios. As eutanásias foram realizadas seguindo as normas da resolução nº 714 do Conselho Federal de Medicina Veterinária, tendo os animais sido submetidos à anestesia geral com propofol 1%, na dose de 4 mg/kg, por via intravenosa, e após a perda do reflexo corneal, administrou-se cloreto de potássio 10% na dose de 1 mL/kg, pela mesma via. Após a parada cardíaca e respiratória, retirou-se a metáfise proximal da tíbia dos dois membros de cada animal, com auxílio de uma serra manual. Logo após a coleta, os fragmentos foram acondicionados em frascos contendo formalina tamponada a 10% durante quatro dias.

O material foi lavado em água corrente e descalcificado em solução de ácido fórmico à 5% e ácido clorídrico à 5% durante 15 dias. Em seguida os fragmentos foram incluídos em parafina líquida e posteriormente cortados em fatias transversais de cinco

micrômetros de espessura dos blocos e montados em lâminas de vidro. De cada bloco foram obtidas duas lâminas, sendo estas submetidas às técnicas de hematoxilina-eosina (HE) para visualização histológica através de microscópio óptico de luz nas lentes de 10 e 40x, avaliando-se a interface osso-implante os graus de reação endosteal e periosteal, proliferação e diferenciação celular no tecido cicatricial e presença de tecido conjuntivo.

A análise estatística dos dados radiográficos foi efetuada em microcomputador, empregando o programa Graphpad Instat¹⁰. Os dados referentes à avaliação radiográfica foram avaliados pelo teste de Mann-Whitney, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

RESULTADOS e DISCUSSÃO

Cessado o efeito da anestesia epidural os animais deambularam normalmente, sem claudicação, provavelmente devido à rapidez do procedimento e o mínimo trauma aos tecidos adjacentes, apesar de ambos os membros pélvicos terem sido operados, estando esses achados de acordo com os relatados por Azevedo (2011).

Com relação às feridas cirúrgicas, apenas três animais apresentaram edema, em ambos os membros, que perdurou até o quinto dia pós-cirúrgico, não apresentando sensibilidade ao toque. Nos demais animais não foram observados secreção, dor ou deiscência. Estes achados podem ser justificados pela assepsia e técnica cirúrgica adequadas, além da administração de antibioticoterapia e analgesia eficientes. Esses resultados clínicos levam a confirmar a biocompatibilidade do compósito de hidroxiapatita/quitosana, estando de acordo com Vital et al. (2006).

Os exames radiográficos do pós-cirúrgico imediato mostraram que o compósito foi eficientemente implantado no osso. De acordo com Yamamoto et al. (2000), esse exame é importante para comprovar que houve um adequado preenchimento da falha durante o trans-operatório.

Os resultados da análise radiográfica demonstraram diferença estatística entre os grupos apenas no 30º dia pós-cirúrgico, ou seja, o compósito testado acelerou a reparação óssea apenas nos primeiros estágios da regeneração. Com relação aos momentos experimentais, em ambos os grupos ocorreu aumento significativo da radiopacidade aos 60 dias pós-cirúrgicos, em relação aos 30 dias (Tab. 2 e Fig. 1),

¹⁰ GraphPad Software, Inc. – San Diego, California, USA.

estando este achado relacionado com a neoformação tecidual normal do osso (Kealy e Mcallister, 2005).

Tabela 2 – Média e desvio padrão da radiopacidade da lesão óssea provocada experimentalmente na tíbia de coelhos e preenchida pelo biomaterial (GB) ou não preenchida (grupo controle - GC), segundo o momento experimental (30 e 60 dias pós-operatórios).

Grupo	Momento experimental (dias)	
	30	60
GB	1,7±0,3 ^{Aa}	2,7±0,3 ^{Ab}
GC	0,7±0,3 ^{Ba}	2,1±0,8 ^{Ab}

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha denotam diferença estatística ($p < 0,05$).



Figura 1: Imagem radiográfica da tíbia de coelhos na projeção craniocaudal. Respectivamente, A e D - GC e GB, imediatamente pós-operatório; B e E - GC e GB nos 30 dias após a cirurgia; C e F - GC e GB 60 dias de pós-cirúrgico. As setas indicam o defeito ósseo produzido experimentalmente.

No 30º dia pós-operatório o GB apresentou radiopacidade de discreta a moderada, enquanto o GC apresentou de ausência de reação periosteal a radiopacidade discreta. Esse resultado foi atribuído à deposição óssea induzida pelo compósito na fase inicial da regeneração e, de acordo com Borges (1998) e Fehlberg (2001), esses achados

são indicativos radiográficos da reparação óssea, corroborando também com os estudos de Vital (2005) quando avaliou um compósito de hidroxiapatita associado à lignina.

Aos 60 dias, todos os defeitos ósseos do GB apresentaram grau de radiopacidade superior aos do GC, embora não se tenha verificado diferença estatística entre os grupos. Portanto, pode-se afirmar que, radiograficamente, a implantação do compósito tendeu a abreviar o processo de reparação óssea, resultado semelhante ao obtido por Duarte et al. (2007) que avaliou a osteointegração na mandíbula de cães utilizando a hidroxiapatita.

Na análise histológica o compósito hidroxiapatita/quitosana (Fig. 2) se apresentou sob a forma de material amorfo, acelular, bem delimitado, semelhante ao descrito por Borges (1998) e Vital et al. (2006) para a hidroxiapatita, e com coloração esverdeada, não sendo possível distinguir a hidroxiapatita da quitosana.

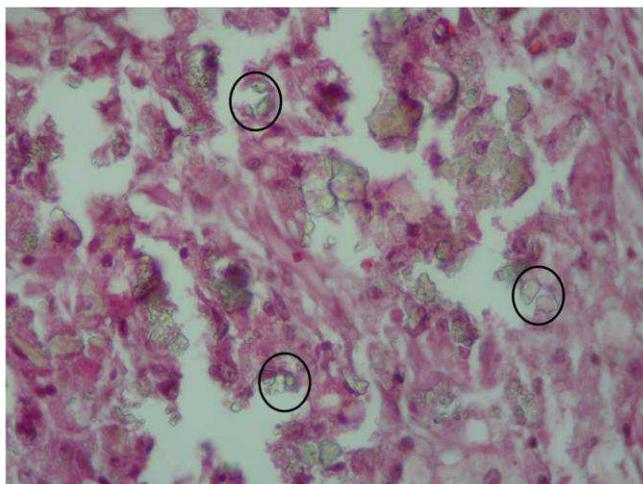


Figura 2: Fotomicrografia da tíbia de coelho do GB no momento 60 dias, no aumento de 40x. Os círculos indicam presença do compósito hidroxiapatita/quitosana.

Nos locais onde foram implantados os compósitos não foi observado nenhum sinal de infecção, uma vez que não se observaram nenhum infiltrado celular, nem de rejeição ao implante, concordando com o descrito por Cheng et al. (2006) e Carlo et al. (2009), podendo afirmar que a associação hidroxiapatita/quitosana é biocompatível.

Aos 30 dias pós-cirúrgicos, o GB apresentava uma maior quantidade de proliferação de tecido conjuntivo frouxo, de atividade osteoblástica e de formação de osso trabecular nas bordas da lesão, em relação ao GC (Fig. 3). Estas características, segundo Vital (2005), estão de acordo com o processo de reparação óssea normal, sendo que na presença da hidroxiapatita observa-se a neoformação óssea e neovascularização muito mais evidentes, sugerindo a característica osteocondutora do compósito.

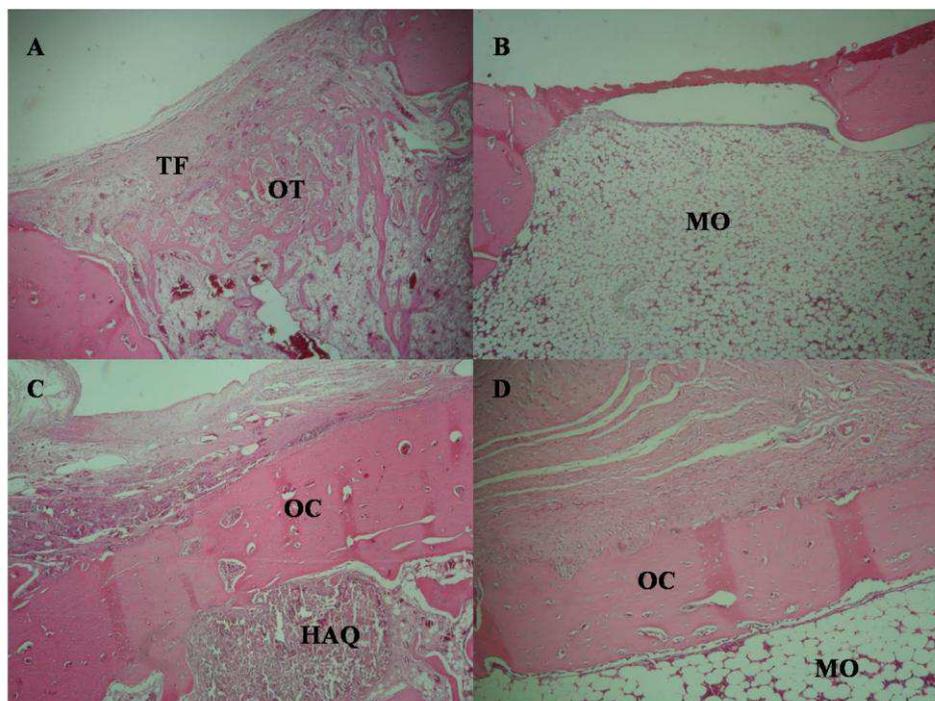


Figura 3: Fotomicrografias no aumento de 10x da tíbia de coelho dos grupos biomaterial (A e C) e controle (B e D). A e B – 30 dias de pós-cirúrgico; C e D – 60 dias de pós-cirúrgico. TF: tecido conjuntivo frouxo; OT: osso trabecular; MO: medula óssea; OC: osso compacto; HAQ: composto hidroxiapatita associada à quitosana.

No 60º dia pós-operatório observaram-se os mesmos achados do 30º dia, porém com maior intensidade, em ambos os grupos, sendo que no GB havia maior quantidade de tecido de granulação e presença de osso compacto no local do defeito provocado, indicando reparação óssea. Estes dados são semelhantes aos obtidos por Azevedo (2011), que relatou que a hidroxiapatita, associada ou não ao trifosfato de cálcio, estimulou a formação de osso novo.

A quantidade do composto em meio ao osso trabecular ainda estava presente ao 60º dia pós-cirúrgico, diferindo do relatado por Duarte et al. (2006), que não observou aos 60 dias após a cirurgia a presença de hidroxiapatita em defeito provocado na mandíbula de cães, e de Vital (2005) que observou, neste momento experimental, uma diminuição da quantidade de hidroxiapatita e lignina implantados na tíbia de coelhos. Esse achado significa que houve osteointegração do biomaterial com o tecido ósseo hospedeiro juntamente com uma grande quantidade de células ativas em torno do composto, corroborando os dados obtidos por Danilchenko et al. (2009).

Outro achado histológico foi a presença de biomaterial dentro de macrófagos, aos 60 dias após a cirurgia. Isto provavelmente ocorreu devido às características de biodegradabilidade de ambos os biomateriais, citadas por Borges (1998), com relação à hidroxiapatita. Já Vital (2005) não observou nenhum sinal de fagocitose do implante de

hidroxiapatita/lignina empregado. Duarte et al. (2007) cita que as controvérsias sobre a biodegradação da hidroxiapatita entre alguns experimentos podem ser justificadas pelas diferentes características físicas dos vários tipos deste biomaterial. Quanto à quitosana, Gorzelanny et al. (2010) afirmam que a mesma tem a capacidade de ativar macrófagos, porém não se sabe ao certo como ocorre esse processo. A hipótese mais provável foi proposta no estudo de Feng et al. (2004), no qual foi referido que o processo é mediado por receptores presentes na estrutura do biopolímero, estimulando dessa forma os macrófagos. Essas células em contato com a quitosana liberam citocinas e outros fatores de crescimento que atuam no processo de proliferação celular, promovendo a cicatrização dos tecidos (Ueno et al., 2001).

Kashiwazaki et al. (2010) cita que o interessante de se utilizar uma associação de hidroxiapatita e quitosana, como é proposto no trabalho aqui relatado, é unir a característica de osteocondução do primeiro com a biodegradabilidade e a resistência mecânica no segundo. Neste trabalho, aos 60 dias não se observou a degradação completa dos biomateriais. Entretanto, Danilchenko et al. (2009) avaliaram que o mesmo compósito, implantado na tíbia de ratos, apresentou boas propriedades de osteocondução e a biodegradação foi praticamente completa, sugerindo que a substituição total do implante de quitosana/hidroxiapatita pelo tecido ósseo recém-formado no interior da falha óssea ocorre até o 24º dia após a implantação. Essa diferença provavelmente ocorreu devido à diferença entre as espécies (a taxa de metabolismo dos ratos ser superior à dos coelhos), uma vez que, Fontes (2009) em estudo com hidroxiapatita a regeneração de osso alveolar de cães, constatou que aos 60 dias ainda havia presença do biomaterial. Outros trabalhos são necessários para avaliar o tempo de biodegradação desse compósito.

CONCLUSÕES

A associação hidroxiapatita-quitosana é um compósito biocompatível, promove a osseointegração, acelera a fase inicial do processo de reparação óssea e sua biodegradação demora mais de 60 dias.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado.

Ao Laboratório de Engenharia de Biomateriais da UFCG, Campina Grande, pela síntese do compósito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, A.S. *Utilização de fosfatos de cálcio, quitosana e medula óssea no reparo ósseo em coelhos. Estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico*. 2011. 60f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba.
- AZEVEDO, V.V.C.; CHAVES, S.A.; BEZERRA, D.C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 23, p. 27-34, 2007.
- BILLOTTE, W.G. *The Biomedical Engineering Handbook: Ceramic Biomaterials*. 2ed. Boca Raton: CRC Press LLC, 2006.1560p.
- BORGES, A.P.B. *O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço proximal da tíbia de cães (Canis familiaris): estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodisperção*. 1998. 112p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Curso de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.
- CARLO, E.C.; BORGES, A.P.B.; POMPERMAYER, L.G. et al. Compósito para fabricação de implantes reabsorvíveis para osteossíntese: avaliação da biocompatibilidade em coelhos. *Ciência Rural*, v.39, n.1, p.135-140, 2009.
- CHENG, S.; CHEN, G.Q.; LESKI, M. et al. The effect of d,l-2-hydroxybutyric acid on cell death and proliferation in L929 cells. *Biomaterials*, v.27, n.20, p.3758-3765, 2006.
- COSTA, A.C.F.M.; LIMA, M.G.; LIMA, L.H.M.A. et al. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v.4.3, p. 29-38, 2009.
- DANILCHENKO, S.N.; KALINKEVICH, O.V.; POGORELOV, M.V et al. Chitosan–hydroxyapatite composite biomaterials made by a one step co-precipitation method: preparation, characterization and in vivo tests. *Journal of Biological Physics and Chemistry*, v.9, p.119–126, 2009.
- DUARTE, T.S.; BORGES, A.P.B.; LAVOR, M.S.L. et al. Osteointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar da mandíbula de cães: aspectos histológicos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.58, n.5, p. 849-853, 2006.

DUARTE, T.S.; BORGES, A.P.B.; LAVOR, M.S.L. et al. Osteointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar da mandíbula de cães: aspectos clínicos e radiográficos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.1, p. 114-118, 2007.

FEHLBERG, A.F. *Hidroxiapatita sintética na regeneração de falha óssea provocada em fratura completa de terço intermédio de tibia imobilizada pela fixação percutânea em cães*. 2001.42f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

FENG, J.; ZHAO, L.; YU, Q. Receptor-mediated stimulatory effect of oligochitosan in macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 317, p. 414-420, 2004.

FONTES, E.B. *Hidroxiapatita sintética associada ou não à fração total de células mononucleares na regeneração de osso alveolar de cães*. 2009. 71f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Curso de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

FOOK, A.C.B.M.; APARECIDA, A.H.I.I.; FOOK, M.V.L. Desenvolvimento de biocerâmicas porosas de hidroxiapatita para utilização como scaffolds para regeneração óssea. *Revista Matéria*, v. 15, n. 3, p.392–399, 2010.

GORZELANNY, C.; PÖPPELMANN, B.; PAPPELBAUM, K. et al. Human macrophage activation triggered by chitotriosidase mediated chitin and chitosan degradation. *Biomaterials*, v. 31, p. 8556-8563, 2010.

KASHIWAZAKI, H.; YAMAGUCHI, K.; HARADA, N. et al. *In vivo* Evaluation of a Novel Chitosan/ HAp Composite Biomaterial as a Carrier of rhBMP-2. *Journal of Hard Tissue Biology*, v.19, n.3, p.181-186, 2010.

KEALY, J.K.; MCALLISTER, H. *Radiografia e ultra-sonografia do cão e do gato*. Barueri: Manole, 2005. 346p.

MARTINEZ, M.M.; BORGES, A.P.B.; POMPERMAYER, L.G. et al. Osseointegração clínica-radiológica do compósito hidroxiapatita-lignina entre implante metálico e tecido ósseo em coelho. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.61, n.4, p.835-843, 2009.

- MOHAMED, K.R.A.; EL-RASHIDY, Z.M.A.; SALAMA, A.A. In vitro properties of nano-hydroxyapatite/chitosan biocomposites. *Ceramics International*, v.37, p.3265–3271, 2011.
- PEREIRA, M.M.; VASCONCELOS, W.L.; ZAVAGLIA, C.A.C. Materiais cerâmicos – ciência e aplicação como biomateriais. In: ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; NASUR, H. S. *Biomateriais Fundamentos & Aplicações*. Rio de Janeiro: Cultura médica, 2006, Cap. 3, p. 61-81.
- REY, C.; COMBES, C.; DROUET, C. et al. Physico-chemical properties of nanocrystalline apatites: implications for biominerals and biomaterials. *Materials Science and Engineering C*, v. 27, p. 198-205, 2007.
- RUSU, V.M.; NG, C-H.; WILKE, M. et al. Size-controlled hydroxyapatite nanoparticles as self-organized organic–inorganic composite materials. *Biomaterials*, v.26, n.26, p.5414–26, 2005.
- TEIXEIRA, E. R. Superfícies dos implantes: o estágio atual, In: DINATO, J.C.; POLIDO, W. D. *Implantes osseointegrados: cirurgia e prótese*. São Paulo: Artes Médicas, 2001. cap. 05, p. 63-80.
- TONHI, E.; PLEPIS, A.M.G. Obtenção e caracterização de blendas colágenoquitosana. *Química nova*, v. 25, p. 943-948, 2002.
- UENO, H.; NAKAMURA, F.; MURAKAMI, M. et al. Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and the growth factors production by macrophages. *Biomaterials*, v. 22, p. 2125-2130, 2001.
- VITAL, C. C. *Hidroxiapatita associada à lignina no preenchimento de falha óssea experimental na tíbia de coelhos*. 2005. 57f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.
- VITAL, C.C.; BORGES, A.P.B.; FONSECA, C.C. et al. Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.58, n.2, p.175-183, 2006.
- YAMAGUCHI, I.; TOKUCHI, K.; FUKUZAKI, H. et al. Preparation and microstructure analysis of chitosan/hydroxyapatite nanocomposites. *Journal of Biomedical Material Research*, v.55, n.1, p.20–7, 2001.

YAMAMOTO, T.; ONGA, T.; MARUI, T. et al. Use of hydroxyapatite to fill cavities after excision of benign bone tumours. *Journal of Bone & Joint Surgery*, v. 82-B, n. 8, p. 1117-1120, 2000.

ZAMBUZZI, W.F.; NEVES, M.C.M.; OLIVEIRA, R.C. et al. Reação tecidual e perfil de fosfatases após o implante de matriz óssea desmineralizada xenogênica em músculo de ratos. *Ciência Odontológica Brasileira*, São José dos Campos, v. 8, n. 2, p. 90-98, 2005.

CONCLUSÕES GERAIS

O compósito hidroxiapatita-quitosana:

- Auxilia no processo de reparação óssea em humanos, cães, coelhos e ratos, sendo necessários mais estudos utilizando outras espécies animais para que se possa indicar com mais segurança seu uso na rotina cirúrgica nos casos de afecções ósseas e fraturas;

- É biocompatível;
- Promove a osseointegração;
- Acelera a fase inicial do processo de reparação óssea;
- Demora mais de 60 dias para ser biodegradado, em coelhos.

ANEXOS



Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Saúde e Tecnologia Rural
Comissão de Ética em Pesquisa
Av. Sta Cecília, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia Patos,
CEP: 58700-970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511-3069

A (O): Sr. Pedro Izidro da Nóbrega (Coordenador)

Sr. Nóbrega;

Protocolo CEP nº 28/2010

CERTIDÃO

ASSUNTO: Solicitação de aprovação do projeto de pesquisa intitulado "Avaliação da hidroxiapatita sintética (HÁ) enxerto alógeno e placa de polietileno na reparação de defeito provocado na diáfise femoral de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). Estudo clínico cirúrgico, radiológico e histológico".

Cientificamos a V.Sa. que seu projeto teve parecer consubstanciado orientado pelo regulamento interno deste comitê e foi **APROVADO** em reunião ordinária nº 03 em 29-02-2011, estando à luz das normas e regulamentos vigentes no país atendidas as especificações para a pesquisa científica.

Secretaria do Comitê de ética em Pesquisa - CEP da UFCG.

Patos, 07 de abril de 2011.

Rosália Severo de Medeiros
Secretária do CEP.
Port. GD/CSTR/UFCG, nº 80.

Normas para publicação da Revista CIÊNCIA RURAL

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via [eletrônica](#) e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:
JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:
GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:
COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.
TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:
O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:
RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação:
COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad).** 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:
ROGIK, F.A. **Indústria da lactose.** São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal:
Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:
MATERA, J.M. **Afeções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico.** São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em:
<http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos.** Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em:
<http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

13. Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

(Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences)

Política Editorial

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science)*, ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins. Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ) citado como *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ.

Reprodução de artigos publicados

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados. A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <www.abmvz.org.br>. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis nos endereços www.scielo.br/abmvz ou www.abmvz.org.br.

Orientação para tramitação de artigos

- Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação online do ABMVZ no endereço www.abmvz.org.br.
- Apenas o autor responsável pelo artigo deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema.
- Toda comunicação entre os diversos atores do processo de avaliação e publicação (autores, revisores e editores) será feita exclusivamente de forma eletrônica pelo Sistema, sendo o autor responsável pelo artigo informado, automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status do artigo.
- A submissão só se completa quando anexado o texto do artigo em Word e em pdf no campo apropriado.
- Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridas no texto e também enviadas, em separado, em arquivo com extensão jpg em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido no campo próprio.
- Tabelas e gráficos não se enquadram no campo de arquivo zipado, devendo ser inseridas no corpo do artigo.
- É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no mesmo submetido.
- O ABMVZ comunicará via eletrônica a cada autor, a sua participação no artigo. Caso, pelo menos um dos autores não concorde com sua participação como autor, o artigo será recusado.

Tipos de artigos aceitos para publicação:

- **Artigo científico**

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa. Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências. O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas e figuras. O número de Referências não deve exceder a 30.

▪ **Relato de caso**

Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada. Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências. O número de páginas não deve exceder a 10, incluindo tabelas e figuras. O número de Referências não deve exceder a 12.

▪ **Comunicação**

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico. O texto, com título em português e em inglês, Autores e Filiação deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para “Artigo científico”, embora seguindo aquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um “Abstract” e quando redigida em inglês deve conter um “Resumo”. O número de páginas não deve exceder a 8, incluindo tabelas e figuras. O número de Referências não deve exceder a 12.

Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras.

Formatação do texto

- O texto deve ser apresentado em Microsoft Word, em formato A4, com margem 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), em fonte Times New Roman tamanho 12 e em espaçamento entrelinhas 1,5, em todas as páginas, com linhas numeradas.
- Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

Seções de um artigo

- **Título.** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 150 dígitos.
- **Autores e Filiação.** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. O autor para correspondência e seu e-mail devem ser indicados com asterisco.

Nota:

1. o texto do artigo em Word deve conter o nome dos autores e filiação.
 2. o texto do artigo em pdf **não** deve conter o nome dos autores e filiação.
- **Resumo e Abstract.** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 2000 dígitos incluindo os espaços, em um só parágrafo. Não repetir o título e incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação. Atenção especial às conclusões.

- **Palavras-chave e Keywords.** No máximo cinco.
- **Introdução.** Explanação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência e relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, suficientes para balizá-la.
- **Material e Métodos.** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Não usar subtítulos. Nos trabalhos que envolvam animais e organismos geneticamente modificados deverá constar, obrigatoriamente, o número do protocolo de aprovação do Comitê de Bioética e/ou de Biossegurança, quando for o caso.
- **Resultados.** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.
- ✓ **Tabela.** Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tab., mesmo quando se referir a várias tabelas. Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (menor tamanho aceito é 8).
- ✓ **Figura.** Qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Fig., mesmo se referir a mais de uma figura. As fotografias e desenhos com alta qualidade em formato jpg, devem ser também enviadas, em um arquivo zipado, no campo próprio de submissão.

Nota:

- ✓ Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.
- ✓ As tabelas e figuras devem preferencialmente, ser inseridas no texto no parágrafo seguinte à sua primeira citação.
- **Discussão.** Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer das partes).
- **Conclusões.** As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada.
- **Agradecimentos.** Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.
- **Referências.** As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética. Evitar referenciar livros e teses. Dar preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. São adotadas as normas ABNT/NBR-6023 de 2002, adaptadas conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

- Citações no texto deverão ser feitas de acordo com ABNT/NBR 10520 de 2002. A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:
- ✓ autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)
- ✓ dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
- ✓ mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979)

✓ mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

▪ *Citação de citação.* Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

▪ *Comunicação pessoal.* Não fazem parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

2. Periódicos (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*): ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88. FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

3. Publicação avulsa (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA

VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte.* 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

4. Documentos eletrônicos (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

[CR] Agradecimento pela Submissão

Voltar para mensagens |

Rudi Weiblen Adicionar a contatos
Para Srta FABRICIA GEOVÂNIA FERNANDES FILGUEIRA

13/02/2012

Responder

Os anexos, as imagens e os links desta mensagem foram bloqueados para sua segurança.
Mostrar conteúdo | Sempre mostrar conteúdo para suporte.aplicacao@scielo.org

Srta FABRICIA GEOVÂNIA FERNANDES FILGUEIRA,

Agradecemos a submissão do seu manuscrito "CR-6788 - Utilização de compósito de hidroxiapatita/quitosana na regeneração óssea em medicina veterinária" para Ciência Rural. Através da interface de administração do sistema, utilizado para a submissão, será possível acompanhar o progresso do documento dentro do processo editorial, bastando logar no sistema localizado em:

URL do Manuscrito:
<http://submission.scielo.br/index.php/cr/author/submission/61694>
Login: fabricia2012

Em caso de dúvidas, envie suas questões para este email. Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de transmitir ao público seu trabalho.

Rudi Weiblen
Ciência Rural

Ciência Rural
<http://submission.scielo.br/index.php/cr/index>

Hotmail (7) Messenger SkyDrive MSN

Novo | Responder | Responder a todos | Encaminhar | Excluir | Lixo Eletrônico | Limpar | Marcar como | Mover para | Categorias | Voltar para mensagens |

[ABMVZ - EDITORA VET/UFMG] - Confirmação de Inscrição de Artigo - ID 5408/2012

Arquivo brasileiro de Medicina Veterinária
Para bricia_geovana@hotmail.com

06/03/2012 Responder

1 anexo (472,7 KB) Exibição Ativa do Hotmail

7851-1010...pdf
Baixar (472,7 KB)

Baixar como zip

[PORTUGUÊS]

Esta é uma mensagem automática. Guarde este e-mail para referência. Não responda a este email. Para contato use journal@vet.ufmg.br

Prezado autor,

Recebemos a inscrição de um trabalho em que V. Sa. consta como um dos autores.

Título: Hidroxiapatita associada à quitosana no preenchimento de falha óssea em coelhos

Caso não seja participante do trabalho em questão, envie-nos um e-mail informativo para o seguinte endereço eletrônico:

journal@vet.ufmg.br

Atenciosamente,

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia