

1
2 UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
3 CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
4 CAMPUS DE PATOS-PB
5 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E CIÊNCIA
6 ANIMAL
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17

18 ANA CLARA DE FRANÇA SILVA AZEVEDO
19
20
21
22
23
24
25

26 AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA UTILIZANDO CIMENTO ÓSSEO
27 DE BRUSHITA
28
29
30
31
32
33
34
35

36 PATOS/PB

37 2020

ANA CLARA DE FRANÇA SILVA AZEVEDO

AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA UTILIZANDO CIMENTO ÓSSEO
DE BRUSHITA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ciência Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá

PATOS-PB

2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

A994a Azevedo, Ana Clara de França Silva
Avaliação da regeneração óssea utilizando cimento ósseo de Brushita /
Ana Clara de França Silva Azevedo. – Patos, 2020.

62f.: il; color.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Ciência Animal) – Universidade
Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2020.

“Orientação: Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá.”

Referências.

1. Biomateriais.
2. Cicatrização óssea.
3. Cirurgia ortopédica.
4. Cão. I. Título.

CDU 635.1

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

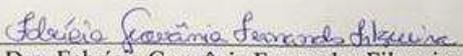
ANA CLARA DE FRANÇA SILVA AZEVEDO

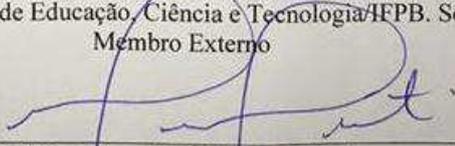
Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

APROVADO EM 12/07/2020

EXAMINADORES:


Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Presidente (Orientador)


Profa. Dra. Fabrícia Geovânia Fernandes Filgueira
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia/IFPB. Sousa-PB
Membro Externo


Prof. Dr. Marcelo Weinstein Teixeira
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal
Universidade Federal do Pernambuco
Membro Externo (Examinador)

AGRADECIMENTOS

77

78

79 Agradeço a Deus por derramar sobre mim os dons do Espírito Santo, por ser meu guia e
80 protetor em todos os momentos da minha vida pessoal e profissional.

81 Ao meu querido Adílio Santo de Azevedo (*in memoriam*) que mesmo distante se fez presente
82 em meus pensamentos e orações, obrigada por existir em minha vida, o que sempre me fez
83 refletir e agradecer a Deus pela vida e saúde que tenho. "Seja forte e corajoso", obrigada por
84 sempre me incentivar a ser uma pessoa melhor e a crescer na humildade. Amo você.

85 À meu filho BENJAMIM, MEU AMOR INCONDICIONAL, que no final da "reta" ainda na
86 minha barriga foi meu companheiro de estudos, sempre muito tranquilo. Te amo.

87 Ao meu namorado, Lucas Leitão, por ser tão dedicado ao nosso relacionamento, por segurar
88 firme em minha mão quando eu me senti perdida. Você se dispôs seguir comigo nessa
89 caminhada, sendo compreensivo, paciente e companheiro. Obrigada por ser meu seguro, te
90 amo meu bem.

91 A meus pais Cecília de França, Manoel Salvador e aos meus irmãos Ana Carla e Fábio
92 Emanuel por todo carinho e amor, por sempre me incentivarem a estudar e ir além. Agradeço
93 à Deus por ter vocês como minha família.

94 Aos animais utilizados neste experimento, que tornaram possível este estudo.

95 Ao meu orientador, Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá, pelos ensinamentos e ajuda na minha
96 formação profissional.

97 Aos amigos e colegas de equipe: Hítalo, Otto, Gracineide, Suelton, Edla, Ana Lucélia,
98 Jefferson, Fabrícia, Maísa, Thaís, Rauan e Nathália obrigada pelo apoio e contribuição.

99 Ao Professor Valdomiro da Universidade Federal Rural de Pernambuco pela grande
100 contribuição nesta pesquisa. Muito Obrigada.

101 Ao CERTIBIO, por disponibilizar o compósito utilizado neste experimento e ao doutorando
102 Otto, sempre disposto a contribuir.

103 Ao Setor de Cirurgia de Pequenos Animais da UFCG, em especial ao Prof. Pedro Izidro e
104 Professor Marcelo pela liberação do setor para realização das cirurgias.

105 A todos os funcionários do HV, Max, Edgar, Dona Fátima, Dona Neném e em especial a
106 Jailson que com todo carinho e atenção me ajudou no manejo com os animais.

107 Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de
108 Campina Grande, pela oportunidade.

| | |
|--|-----------|
| RESUMO..... | 6 |
| ABSTRACT..... | 8 |
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 15 |
| CAPÍTULO I - AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA APÓS ORIFÍCIO ÓSSEO DA TÍBIA PROXIMAL DE COELHOS UTILIZANDO CIMENTO ÓSSEO A BASE DE BRUSHITA..... | 20 |
| RESUMO..... | 21 |
| ABSTRACT..... | 21 |
| INTRODUÇÃO..... | 22 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 24 |
| RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 27 |
| CONCLUSÃO..... | 35 |
| CAPÍTULO II - UTILIZAÇÃO DO CIMENTO ÓSSEO DE BRUSHITA EM OSTEOSSÍNTESE DE TÍBIA EM CÃO..... | 38 |
| RESUMO..... | 39 |
| ABSTRACT..... | 39 |
| INTRODUÇÃO..... | 40 |
| METODOLOGIA..... | 41 |
| RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 44 |
| CONCLUSÃO..... | 49 |
| CONCLUSÃO GERAL..... | 51 |

ANEXOS.....

Essa dissertação é composta de dois capítulos. No primeiro capítulo objetivou-se avaliar a neoformação óssea com o uso do cimento ósseo a base de brushita após otectomia proximal em tíbias de coelhos. Foram utilizados 12 coelhos da raça Nova Zelândia clinicamente saudáveis. Os animais foram seu próprio controle, o membro pélvico direito era o grupo controle (GC) e o membro pélvico esquerdo era o grupo biomaterial de brushita (GB), dessa forma, formou-se dois grupos experimentais. Cada grupo foi subdividido em dois subgrupos, de acordo com os períodos de observação de 40 e 90 dias para análise histológica. Utilizou-se uma furadeira ortopédica, com broca de dois mm, sob irrigação constante de solução de cloreto de sódio 0,9% no membro pélvico direito (GC) cujo os defeitos não foram preenchidos. No membro pélvico esquerdo (GB) os defeitos foram preenchidos com o cimento ósseo de brushita. Realizou-se análises clínicas, radiológicas e histológicas. Na análise descritiva e comparativa das avaliações clínicas e histológicas não se observou diferença com relação à regeneração óssea entre os grupos. Foi verificado que aos 40 dias de pós-operatório a reparação óssea do grupo brushita foi mais intensa e acentuada quando comparada aos 90 dias. Na análise radiográfica o grupo brushita revelou reparo ósseo mais rápido, iniciando aos 30 dias. O cimento ósseo de brushita favorece a neoformação óssea. O segundo capítulo objetivou-se utilizar o cimento ósseo de brushita em animal jovem e politraumatizado. Foi atendido um cão sem raça definida, macho, pesando 11,800 kg, quatro meses de idade e não castrado. O animal apresentava fratura oblíqua curta em diáfise de rádio e ulna esquerda a qual foi estabilizada com placa compressiva no rádio, fratura cominutiva em diáfise de tíbia e fíbula esquerda estabilizada com pino intramedular, placa neutra e adição de biomaterial de brushita no gap da fratura, e fratura Salter Harris tipo II em femur distal direita estabilizada com pinos cruzados de Steinmann. Foram realizadas avaliações clínicas no período de 10 dias de pós-operatório e exames radiográficos imediato e com 15, 30 e 60 dias de pós-operatório. Na radiografia de 15 dias de pós-operatório da tíbia e fíbula esquerda foi possível observar fechamento parcial da linha de fratura com aumento de radiopacidade no local de implantação do cimento ósseo de brushita e aos 30 dias observou-se consolidação total. Na fratura Salter Harris tipo II obteve consolidação inicial aos 30 dias e total aos 60 dias, e nos ossos rádio e ulna esquerdo observou-se radiograficamente a consolidação inicial aos 60 dias. Dessa forma, o cimento ósseo de brushita favoreceu a rápida evolução cicatricial da fratura de tíbia e fíbula em cão politraumatizado.

144 **PALAVRAS-CHAVE:** biomateriais; cicatrização óssea; cirurgia ortopédica, cão.

145

ABSTRACT

146

147 This dissertation consists of two chapters. No first chapter aims to evaluate a new bone
148 formation using brush-based bone cement after proximal otectomy in rabbit tibias. Twelve
149 clinically sadistic New Zealand rabbits were used. The animals were their own control, or a
150 member of the right control group (CG) and a member of the left group was a brush
151 biomaterial group (GB), thus forming two groups of experiments. Each group was subdivided
152 into two subgroups, according to observation observations of 40 and 90 days for historical
153 analysis. He used an orthopedic drill, with a 2 mm drill bit, under constant irrigation of 0.9%
154 sodium chloride solution in the right pelvic limb (GC), whose defects were not filled. No left
155 pelvic limb (GB) had the defects filled with brush mineral cement. Clinical, radiological and
156 histological analyzes were performed. In the descriptive and comparative analysis of the
157 clinical and histological analyzes, there was no difference regarding bone regeneration
158 between the groups. It was selected that after 40 days postoperatively in bone repair of the
159 brush group it was more intense and accentuated when compared to 90 days. In the
160 radiographic or group analysis, the brush revealed the fastest repair, starting in 30 days. Brush
161 bone cement favors bone neoformation. The second chapter aimed to use brushite bone
162 cement in a young and multiple trauma animal. A mixed breed male dog, weighing 11,800 kg,
163 four months old and not neutered, was treated. The animal had a short oblique fracture in the
164 radial shaft and left ulna which was stabilized with a compression plate on the radius,
165 comminuted fracture in the tibial shaft and left fibula stabilized with an intramedullary pin,
166 neutral plate and addition of brushite biomaterial in the fracture gap, and Salter Harris type II
167 fracture in the right distal femur stabilized with crossed Steinmann pins. Clinical evaluations
168 were carried out within 10 days of the postoperative period and radiographic examinations
169 were performed immediately and at 15, 30 and 60 days after the operation. On the 15-day
170 postoperative radiograph of the tibia and left fibula, it was possible to observe partial closure
171 of the fracture line with increased radiopacity at the implantation site of the brushite bone
172 cement and at 30 days, total consolidation was observed. In the Salter Harris type II fracture,
173 initial consolidation occurred at 30 days and total consolidation at 60 days, and in the radius
174 bones and left ulna, initial consolidation was observed radiographically at 60 days. Thus,
175 brushite bone cement favored the rapid healing of tibial and fibular fractures in a
176 polytraumatized dog.

177

178

179 **KEY WORDS:** biomaterials; bone healing; orthopedic surgery, dog.

LISTA DE FIGURAS

| CAPÍTULO I | Páginas |
|--|---------|
| <p>Figura 1 - Fluxograma representando a preparação do cimento ósseo de brushita. Iniciou-se com a mistura da amostra líquida de 50 µL de politilenoglicol e 2,9 ml da solução de ácido fosfórico, posteriormente esta mistura foi adicionada a amostra sólida de 5g de pó de wollastonita, homogeneizou-se por um minuto e meio, permaneceu em descanso por 40 minutos e implantou no modelo animal.....</p> | 25 |
| <p>Figura 2 - Orifício ósseo na tíbia esquerda de coelho. A: lesão óssea com broca de 2 mm. B: defeito ósseo de 2 mm e coloração marrom ocasionada pela mistura do biomaterial e sangue. C: presença do biomaterial na lesão óssea e miorrafia com fio poliglactina 3-0.....</p> | 26 |
| <p>Figura 3 - Micrografia obtida de corte histológico dos animais eutanasiados aos 40 dias de pós-operatório (GB). A: células mesenquimais em processo de diferenciação com reação celular intensa (seta preta), osteoblastos (seta branca). B: vasos sanguíneos circundado por osteoblastos (seta preta), tecido ósseo induzido pelo biomaterial promovendo reposição óssea. HE. Objetiva de 40 X. Escala 200µm e 50µm, respectivamente.....</p> | 31 |
| <p>Figura 1 - Imagem radiográfica na projeção médio lateral de tíbia e fíbula de coelho aos 30 dias de pós-operatório. A: membro direito, grupo controle. B: membro esquerdo, grupo brushita. Destaca-se o local de orifício ósseo em A e B (seta preta).....</p> | 33 |
| <p>Figura 5 - Porcentagem de coelhos que apresentaram reação periosteal nas bordas da lesão e consolidação concêntrica não completa ao longo de 90 dias de recuperação pós-cirúrgica.....</p> | 33 |

Figura 6 - Porcentagem de coelhos que apresentaram reação periosteal apenas nas bordas da lesão ao longo de 90 dias de recuperação pós-cirúrgica..... **34**

Figura 7 - Porcentagem de coelhos que apresentaram consolidação completa do osso ao longo de 90 dias de recuperação pós-cirúrgica..... **34**

CAPÍTULO II

Figura 1 - Cimento ósseo de Brushita. A: observa-se no frasco o pó de wollastonita. B: confecção do bloco..... **42**

Figura 2 - Localização do cimento ósseo de brushita. A: implantação do cimento ósseo de brushita cranial e caudal ao defeito ósseo no momento do trans-operatório (círculo preto). B: imagem radiográfica imediata na projeção ML a identificação do biomaterial (círculo preto) cranial e caudal no local de defeito ósseo misturado com os fragmentos cominutivos. C: imagem radiográfica imediata na projeção crânio caudal..... **43**

Figura 3 - Radiografias de pós-operatório de 15 dias. A: na projeção CC observa-se em tibia e fíbula esquerda fechamento parcial da linha de fratura com aumento de radiopacidade no local de implantação do cimento de brushita. B: na projeção ML de rádio e ulna esquerda observa-se ausência de neoformação óssea. C: na projeção CC de femur distal, migração dos pinos cruzados..... **46**

Figura 4 - Radiografias de 60 dias de pós-operatório. A e B: nas projeções ML e CC de tibia e fíbula esquerda, nota-se o fechamento total da falha óssea. C: na projeção CC de rádio e ulna esquerda observa-se reação periosteal com remodelamento ósseo no foco de fratura..... **47**

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Páginas

Tabela 1 - Incidência em porcentagem de variáveis clínicas em 12 coelhos durante 10 dias de recuperação após o tratamento cirúrgico dos membros pélvicos direito (Controle) e esquerdo (Biomaterial Brushita)..... **28**

Tabela 2 - Índices da análise histológica óssea em seis coelhos aos 40 e 90 dias de recuperação após o tratamento cirúrgico dos membros pélvicos direito (Controle) e esquerdo (Biomaterial Brushita)..... **30**

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

| | |
|-----|--|
| 181 | |
| 182 | |
| 183 | |
| 184 | CaSiO₃ - pó de wollastonita |
| 185 | pH - potencial hidrogeniônico |
| 186 | CPCs - cimento de fosfato de cálcio |
| 187 | HA - CPCs - cimento de apatita |
| 188 | DCPD - CPCs - cimento de brushita |
| 189 | DCPD - fosfato de dicálcio dihidratado |
| 190 | CDHA - hidroxiapatite deficiente em cálcio |
| 191 | HA - hidroxiapatite |
| 192 | HV - hospital veterinário |
| 193 | CERTBIO -Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste |
| 194 | IFPB - Instituto Federal da Paraíba |
| 195 | CSTR - Centro de Saúde e Tecnologia Rural |
| 196 | UFCG - Universidade Federal da Paraíba |
| 197 | Dr - Doutor |
| 198 | SP - São Paulo |
| 199 | GO - Goiás |
| 200 | MG - Minas Gerais |
| 201 | RJ - Rio de Janeiro |
| 202 | SC - subcutâneo |
| 203 | IM - intramuscular |
| 204 | IV - intravenoso |
| 205 | FC - frequência cardíaca |
| 206 | FR - frequência respiratória |
| 207 | TR - temperatura retal |
| 208 | TPC - tempo de preenchimento capilar |
| 209 | GC - grupo controle |
| 210 | GB - grupo brushita |
| 211 | MTE - membro torácico esquerdo |
| 212 | MTD - membro torácico direito |
| 213 | MPE - membro pélvico esquerdo |

- 214 **MPD** - membro pélvico direito
- 215 **%** - por cento
- 216 **CC** - crânio caudal
- 217 **ML** - médio lateral
- 218 **cm** - centímetro
- 219 **mm** - milímetro
- 220 **g** - gramas
- 221 **mg** - miligramas
- 222 **ml** - mililitros
- 223 **µL** - microlitros

224 INTRODUÇÃO GERAL

225

226 Os biomateriais são feitos de diferentes materiais e para diversos empregos no ser
227 vivo. O teste *in vivo* de biomateriais é a implantação do produto em um modelo animal,
228 visando acompanhar, por meio de avaliações clínicas, histológicas e mecânicas as reações
229 desencadeadas. No teste *in vivo* no modelo animal é feito o estudo das respostas inflamatórias,
230 aguda e crônica e a relação destas no período tardio, com o sucesso e o insucesso do
231 biomaterial. A biocompatibilidade de um implante depende de vários fatores, especialmente
232 do tipo de tecido que será exposto ao material e a duração da exposição (REZENDE, 2012).

233 Os testes de avaliação de materiais para emprego em ossos, são feitos no osso
234 esponjoso ou cortical. Devido à capacidade de regeneração do osso, é esperado seu
235 crescimento sobre o implante. No osso cortical, os pré-osteoblastos revestem os canais de
236 Havers dos ósteons e os canais vasculares. O periósteo sobre o osso cortical, é também
237 composto de pré-osteoblastos. No osso esponjoso, a superfície endosteal da trabécula é
238 coberta por pré-osteoblastos (SPECTOR E LALOR, 1996).

239 As avaliações da reação tecidual são observadas pela avaliação clínica e histológica.
240 Para restaurar tecidos perdidos, médicos e cirurgiões utilizam enxertos autógenos ou
241 alógenos. O enxerto autógeno pode ser obtido a partir de outras áreas do esqueleto com
242 disponibilidade, como: crista íliaca, crista tibial, tubérculo maior do úmero e o trocânter maior
243 do fêmur. Esse permanece como primeira escolha dos cirurgiões no tratamento regenerador
244 ósseo, principalmente, devido às suas propriedades de osteocondução, osteoindução e
245 osteogênese. Entretanto, esse tipo de enxerto apresenta algumas desvantagens como,
246 necessidade de uma cirurgia adicional na área doadora, aumento da morbidade, risco de
247 contaminação na área doadora, risco de infecção da ferida cirúrgica e limitação em relação à
248 quantidade doadora (FIERZ et al., 2008; DIMITRIOU et al., 2011; HANDA et al., 2012).

249 A bioengenharia tecidual é um campo multidisciplinar que envolve a aplicação de
250 princípios e métodos da engenharia e das ciências da saúde para assistir e acelerar a
251 regeneração e o reparo de tecidos defeituosos ou danificados (TABATA, 2009).

252 Os materiais que são potencialmente pesquisados na bioengenharia tecidual para
253 aplicação na substituição de ossos são: metais, polímeros, cerâmicas, vidros e compósitos.
254 Todos esses materiais são enquadrados numa classe denominada biomaterial (OLIVEIRA et
255 al., 2009).

256 Em virtude da exigência tecidual, os biomateriais utilizados como substitutos do tecido
257 ósseo devem possuir características especiais. Eles necessitam ser biocompatíveis,
258 biodegradáveis e osteocondutíveis, proporcionando a condução de osteoblastos ou de células
259 precursoras de osteoblastos para o sítio lesado e de fatores regulatórios que promovam esse
260 recrutamento, assim como o crescimento celular neste sítio, proporcionando uma estrutura
261 adequada, que servirá de suporte para a neoformação óssea (LIU, 2004; WAN, 2006; CHEN
262 et al., 2009).

263 Os implantes e as próteses devem ser formados por materiais que possam sustentar as
264 características agressivas do meio, o peso e a carga que lhes são impostas, podendo haver
265 limitações e problemas específicos das técnicas de implantação, que limitam a sua utilização.
266 A utilização de biomateriais é uma opção viável, tendo em conta a constante procura por
267 materiais ideais (CARMEN et al., 2014).

268 A enxertia óssea é o segundo tipo de transplante tecidual mais realizado no mundo,
269 perdendo em números somente para transfusão sanguínea (GIANNOUDIS et al., 2005). Os
270 substitutos ósseos são atualmente objetos de intensa investigação mundial, tendo como
271 objetivo encontrar outras alternativas viáveis para se lidar com as limitações decorrentes tanto
272 da colheita de enxerto ósseo autógeno, como da necessidade de se recorrer a bancos de ossos.
273 Além disso, a utilização de aloenxertos apresenta sempre o risco potencial de transmissão de
274 doenças infecciosas (KHAN et al., 2005).

275 Biomateriais de enchimento como os cimentos ósseos são utilizados nas áreas
276 cirúrgicas da odontologia e ortopedia: na reparação da perfuração da raiz do dente,
277 revestimento da polpa dentária, na cirurgia do quadril, coluna vertebral, falhas ósseas
278 resultantes de traumas e como componente principal para fixar as próteses dentro dos ossos.
279 Dentre os cimentos ósseos utilizados estão os cimentos de fosfato de cálcio, fosfatos de
280 magnésio, sulfato de cálcio e de silicato de cálcio devido a suas propriedades de
281 biocompatibilidade, bioatividade e propriedades osteogênicas (DOROZHKIN, 2008;
282 HUGHES, 2015).

283 Os cimentos ósseos baseados em silicato de cálcio são formulados a partir de uma
284 solução de ácido fosfórico e pó de wollastonita (CaSiO_3) através de uma reação exotérmica,
285 formando uma pasta que endurece espontaneamente a temperatura corpórea. O produto final
286 dessa mistura é conhecida como brushita (fosfato dicálcico di-hidratado), representada pela
287 equação química $\text{CaSiO}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} = \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{SiO}_3$ (MOSELMANS
288 et al., 2007; HUGHES, 2015; COLORADO et al., 2011).

289 Os cimentos de brushita tem vantagens devido sua boa capacidade de reabsorção que é
290 causada principalmente pela solubilidade da brushita nas condições fisiológicas, além de
291 possuírem uma boa degradabilidade, osteointegrabilidade e apoiar às células osteoblásticas
292 à: adesão, proliferação, diferenciação e formação do osso mais rápido do que os cimentos de
293 apatita (COLORADO, 2011; SOPCAK et al., 2016; PADILLA et al., 2015). As desvantagens
294 são principalmente a alta porosidade que provoca consequentemente fraca resistência
295 mecânica e a sua rápida reação de cura (HOFMANN et. al., 2009; SOPCAK et al., 2016).

296 De acordo com o exposto o objetivo deste estudo foi avaliar a regeneração óssea após
297 o emprego do cimento ósseo de brushita, em um estudo experimental em coelhos e em um cão
298 com fratura de tíbia e fíbula.

299

300

301 REERÊNCIAS

302

303 CARMEN, A. B.; DORIN, L.; SORIN, S. I.; CARMEN, B.; ALEXANDRU, B.; EDUARD,
304 B.; LULIAN, A.; CORNELIU, M. New titanium alloys potentially used for metal-ceramic
305 applications in medicine. *Key Engineering Materials*, v.587, p.287-292, 2015.

306 CHEN, K.Y.; SHYU, P. C.; DONG, G. C.; CHEN, Y. S.; KUO, W.W.; YAO, C.H.
307 Reconstruction of calvarial defect using a tricalcium phosphate-oligomeric proanthocyanidins
308 cross-linked gelatina composite. *Biomaterials*. v.30, n.9, p.1682-1688, 2009.

309 COLORADO, H. A.; HIEL, C.; HAHN, T.; J.; YANG, J. M. “Wollastonite-Based
310 Chemically Bonded Phosphate Ceramic Composites”. In: *Metal, Ceramic and Polymeric
311 Composites for Various Uses*. Dr. John C. InTechOpen, 2011, p. 684.

312 DIMITRIOU, R.; MATALIOTAKIS, G. I.; ANGOULES, A.G.; KANAKARIS, N. K.;
313 GIANNOUDIS, P. V. Complications following autologous bones graft harvesting from the
314 iliac crest and using the RIA: A systematic review. *Injury, Int J Care Injured*, v.42, p.3-15,
315 2011.

316 DOROZHKIN, S. V. Calcium orthophosphate cements for biomedical application. *Journal of
317 Materials Science*, v.43, n.9, p.3028–3057, 2008.

318 FIERZ, F. C.; BECKMANN, F.; HUSER, M.; IRSEN, S.H.; LEUKERS, B.; WITTE, F.;
319 DEGISTIRICI, O.; ANDRONACHE, A.; THIE, M.; MÜLLER, B. The morphology of
320 anisotropic 3D-printed hydroxyapatite scaffolds. *Biomaterials*. v.29, p.3799-3806, 2008.

- 321 GIANNOUDIS, P. V.; DINOPOULOS, H.; TSIRIDIS, E. Bone substitutes: an update. *Injury*,
322 v.36, p.20-27, 2005.
- 323 HANDA, T., ANADA, T.; HONDA, Y.; YAMAZAKI, H.; KOBAYASHI, K.; KANDA, N.;
324 KAMAKURA, S.; ECHIGO, S.; SUZUKI, O. The effect of an octacalcium phosphate co-
325 precipitated gelatin composite on the repair of critical -sized rat calvarial defects. *Acta*
326 *Biomaterialia*, v.8, p.1190-1200, 2012.
- 327 HOFMANN, M., MOHAMMED, A., PERRIE, Y., GBURECK, U., & BARRALET, J. High-
328 strength resorbable brushite bone cement with controlled drug-releasing capabilities. *Acta*
329 *Biomaterialia*. v.5, n.1, p.43–49, 2009.
- 330 HUGHES, E.; YANNI, T.; JAMSHIDI, P.; & GROVER, L. M. Inorganic cements for
331 biomedical application: calcium phosphate, calcium sulphate and calcium silicate. *Advances*
332 *in Applied Ceramics*. v.114, n.2, p.65–76, 2015.
- 333 KHAN, S. N.; CAMMISA, JR. F. P.; SANDHU, H. S. The biology of bone grafting. *J Am*
334 *Acad Orthop Surg*, v. 13, p.77-86, 2005.
- 335 LIU, X.; MA, P. X. Polymeric Scaffolds for Bones Tissue Engineering. *Ann. Biomed. Eng.*
336 v.32, n.3, p.477-486, 2004.
- 337 MOSSELMANS, G.; BIESEMANS, M.; WILLEM, R.; WASTIELS, J.; LEERMAKERS,
338 M.; RAHIER, H.; VAN MELE, B. Thermal hardening and structure of a phosphorus
339 containing cementitious model material. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. v.88,
340 n.3, p.723–729, 2007.
- 341 OLIVEIRA, S. M.; MIJARES, D. Q.; TURNER, G.; AMARAL, I. F.; BARBOSA, M. A.;
342 TEIXEIRA, C.C. Engineering Endochondral Bone: In Vivo Studies. *Tissue Engineering*.
343 v.15, n.3, p.635-643, 2009.
- 344 PADILLA, S.; CASTRO, A. G.; GUTIÉRREZ, A. G.; BENITO, L.; ENCISO, S.;
345 CANILLAS, M.; CARRODEGUAS, R. G. et al., “Novel Nanostructured Zn-substituted
346 Monetite Based Biomaterial for Bone Regeneration,” *Journal Nanomedicine &*
347 *Nanotechnology*. vol.6, n.5, p.1–11, 2015.
- 348 REZENDE, C. M. F. Teste in vivo de biomateriais e histotecnica. In: OREFICE, R. L.
349 *Biomateriais: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Cultura Médica: Guanabara Koogan,
350 2012.
- 351 SOPCAK, T.; MEDVECKY, L.; GIRETOVA, M.; STULAJTROVA, R. DURISIN, J.;
352 GIRMAN, V.; FABEROVA, M. et al., “Effect of phase composition of calcium silicate

353 phosphate component on properties of brushite based composite cements,” *Materials*.
354 *Characterization.*, vol.117, p. 17–29, 2016.

355 SPECTOR, M. LALOR, P. A. In vivo assesment of tissue compatibility. In: RATNER, B. D.,
356 HOFFMAN, S. A., SCHOEN, F. J. LEMONS, J. E. (eds). *Biomaterials Science. An*
357 *introduction to materials in medicine*. London: Academic Press, 1996; p.220-8.

358 SOPCAK, T.; MEDVECKY, L.; GIRETOVA, M.; KOVALCIKOVA, A.; R.
359 STULAJTEROVA, R.; DURISIN, J. “Phase transformations, microstructure formation and in
360 vitro osteoblast response in calcium silicate/brushite cement composites,” *Biomed. Mater.*,
361 vol. 11, no. 4, pp. 13–45, 2016.

362 TABATA, Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. *Journal of the*
363 *Royal Society Interface*, London. v.6, n.3, p.311-324, 2009.

364 WAN, D. C.; NACAMULI, R. P.; LONGAKER, M. T. Craniofacial Bone Tissue
365 Engineering. *Dent. Clin. N. Am.* v.50, n.2, p.175-190, 2006.

366

CAPÍTULO I

367

368

369 **Avaliação da regeneração óssea após orifício ósseo da tíbia proximal de coelhos**

370

utilizando cimento ósseo à base de brushita

371 Ana Clara de França Silva Azevedo 0000-0002-7799-8679, Professora Substituta do Instituto
372 Federal da Paraíba - IFPB.

373 Otto Cumberbatch Morúa 0000-0001-5981-8913, Programa de Pós-Graduação em Medicina
374 Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande - UFCG.

375 Gracineide da Costa Felipe 0000-0002-6996-4495, Programa de Pós-Graduação em Medicina
376 Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande - UFCG.

377 Jefferson da Silva Ferreira 0000-0002-0405-3738, Programa de Pós-Graduação em Medicina
378 Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande - UFCG.

379 Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá 0003-0128-6488, Professor Efetivo da Universidade Federal
380 de Campina Grande - UFCG, Campus de Patos.

381

382

383

384

Manuscrito submetido à Revista

385

Arquivo Brasileiro de Medicina

386

Veterinária e Zootecnia.

387

Avaliação da regeneração óssea após orifício ósseo da tíbia proximal de coelhos utilizando cimento ósseo à base de brushita

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a regeneração óssea conduzida pelo cimentos ósseo de brushita em coelhos. Utilizou-se 12 coelhos da raça Nova Zelândia. Os animais foram seu próprio controle, o membro pélvico direito era o grupo controle (GC) e o membro pélvico esquerdo era o grupo biomaterial de brushita (GB), dessa forma formou-se dois grupos experimentais. Cada grupo subdividido em dois subgrupos, de acordo com os períodos de observação de 40 e 90 dias para análise histológica. Utilizou-se uma furadeira ortopédica, com broca de 2 mm, sob irrigação constante de solução de cloreto de sódio 0,9%, no membro pélvico direito (GC) os defeitos não foram preenchidos, no membro pélvico esquerdo (GB) os defeitos foram preenchidos com o cimento ósseo de brushita. Realizou-se análises clínicas, radiográficas e histológicas. Na análise descritiva e comparativa das avaliações clínicas, histológicas não observou-se diferença com relação à regeneração óssea entre os grupos, o que se verificou foi que aos 40 dias de pós-operatório a reparação óssea do grupo brushita foi mais intensa e acentuada se comparada aos 90 dias. Na análise radiográfica o grupo brushita revelou reparo ósseo mais rápido, iniciando aos 30 dias. Portanto, o cimento ósseo de brushita favoreceu a neoformação óssea.

PALAVRAS- CHAVE: biomateriais; consolidação óssea; fraturas; enxertos, coelho.

ABSTRACT:

The objective of this work was to evaluate bone regeneration conducted by brushite bone cements in rabbits. Twelve New Zealand rabbits were used. The animals were their own control, the right pelvic limb was the control group (CG) and the left pelvic limb was the brushite biomaterial group (GB), thus two experimental groups were formed. Each group was divided into two subgroups, according to the observation periods of 40 and 90 days for histological analysis. An orthopedic drill was used, with a 2 mm drill, under constant irrigation of 0.9% sodium chloride solution, in the right pelvic limb (GC) the defects were not filled, in the left pelvic limb (GB) the defects were filled with brushite bone cement. Clinical, radiographic and histological analyzes were performed. In the descriptive and comparative analysis of the clinical and

histological evaluations, no difference was observed in relation to bone regeneration between the groups, what was found was that at 40 days postoperatively the bone repair of the brushite group was more intense and accentuated when compared at 90 days. In the radiographic analysis, the brushite group revealed faster bone repair, starting at 30 days. Therefore, brushite bone cement favored bone neof ormation.

KAYWORD: biomaterials; bone healing; fractures; grafts, rabbits.

INTRODUÇÃO

Os cimentos ósseos são biomateriais sintéticos compostos por duas partes, um componente em pó e um componente líquido, usados com muito sucesso em diversas aplicações médicas, tal como na cirurgia ortopédica, na dentária, etc. Estes dão origem a uma massa viscosa que se altera ao longo do tempo e que tende a endurecer após a mistura das duas partes (Lewis, 1997).

Os cimentos além de cimentarem próteses, também podem preencher cavidades e pequenos defeitos ósseos, sendo nesses casos usados como material de enxerto ósseo, em que se pretende que o cimento seja reabsorvido pelo organismo e substituído por novo tecido ósseo (Chow, 2009).

Desde então, muitos cimentos com diferentes composições têm sido propostas. Dependendo do valor de pH da pasta, todos os cimentos de fosfatos de cálcio (CPCs) podem ser classificados, de acordo com o seu produto final, ou seja, processo de endurecimento (reação de *setting*), em cimentos de apatita (HA-CPCs) e cimentos de brushita (DCPD-CPCs) (Bohner, 2000; Theiss *et al.*, 2005), em que este último tem vindo a ganhar algum interesse, devido os DCPD-CPCs serem reabsorvidos muito mais rapidamente do que os HA-CPCs, isto porque a brushita é um composto metaestável, quando usado em condições fisiológicas (Bohner, 2000). Os cimentos de apatite são formados acima de pH 4,2, enquanto os cimentos de brushita são preferencialmente formados a pH < 4,2 (Dorozhkin, 2008; Gbureck *et al.*, 2005).

Os cimentos de brushita são bastante biocompatíveis e bioreabsorvíveis (Theiss *et al.*, 2005). Entretanto, reações inflamatórias têm sido descritas nas primeiras semanas, quando uma grande quantidade de cimento de brushita é usado (Dorozhkin, 2008; Bohner, 2000). Esta inflamação pode ser devida à transformação parcial do fosfato de

dicálcico dihidratado (DCPD (brushita)) a hidroxiapatite (HA) e/ou hidroxiapatite deficiente em cálcio (CDHA) com liberação de ácido fosfórico (Dorozhkin, 2008; Bohner, 2000). Esta transformação a HA e/ou (CDHA) pode ser retardada através da adição de íons magnésio ao cimento (Dorozhkin, 2008).

A absorção dos DCPD-CPCs ocorre por decomposição de macrófagos e células gigantes, atividade osteoclástica e também por dissolução simples. Os cimentos de brushita são muito mais bioreabsorvíveis, pois decompõem-se através dos dois processos, tanto o passivo como o ativo. Assim, resulta que os cimentos de brushita se degradam mais rapidamente que os cimentos de apatite. A taxa de degradação linear dos cimentos de brushita é de 0.25 mm/semana. Esta taxa de degradação rápida pode levar à formação de osso imaturo (Dorozhkin, 2008; Bohner, 2000).

O cimento ósseo cerâmico tem como base os precursores sais de cálcio e fosfato, e por meio do processo de dissolução/precipitação, apresenta características que o qualificam cada vez mais a ser utilizado, tendo em vista sua bioatividade e capacidade de reabsorção no organismo (Dunne, 2008). Sendo o silicato de cálcio o principal componente do cimento ósseo de wollastonita/brushita, em que o pó de wollastonita (CaSiO_3) reage com uma solução de ácido fosfórico, obtendo uma massa homogênea, que após a secagem, forma a fase de brushita (Morúa *et al.*, 2017). Assim, apresentam: melhor controle reacional, tempo mais curto de preparação, além de uma melhor propriedade físico-química, por conta de sua melhor homogeneização, destacando-se sua maior regeneração óssea, devido a elevada reabsorção do cimento de brushita (Ramalho, 2010). Este trabalho teve como objetivo avaliar a regeneração óssea após defeito ósseo da tíbia proximal de coelhos utilizando cimento ósseo à base de brushita através de avaliação clínica, radiográfica e histológica.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo realizou-se no setor de Cirurgia de Pequenos Animais do Hospital Veterinário (HV) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) campus de Patos, após aprovação pelo Comitê de Ética do Uso de Animais desta Instituição segundo o protocolo nº 0134/2018.

Retrata um estudo experimental, com grupos alocados de forma aleatória em biotério. O modelo animal utilizado foi o coelho da raça Nova Zelândia (New Zealand

(*Oryctolagus Cuniculus*), clinicamente sadios e perfazendo uma amostra total de 12 animais, seis machos e seis fêmeas, pesando em média $2,49 \pm 0,29$ kg (média \pm desvio padrão). Os animais eram mestiços, adultos jovens, adquiridos de um criatório comercial local. Cada animal recebeu uma aplicação de ivermectina (Ivermectina OF®, Ouro Fino, Cravinhos – SP, Brasil) na dose de 0,4mg/Kg por via subcutânea (SC) e em seguida foram numerados e alojados em gaiolas individuais de tamanho 60x40x60cm, previamente higienizadas e suspensas do solo, onde permaneceram por 15 dias para aclimatação e em todo o período experimental receberam ração balanceada duas vezes ao dia e água potável *ad libitum*.

Os animais foram seu próprio controle, o membro pélvico direito era o grupo controle (GC) e o membro pélvico esquerdo era o grupo biomaterial de brushita (GB), dessa forma formaram dois grupos experimentais. E cada grupo subdividido em dois subgrupos, de acordo com os períodos de observação de 40 e 90 dias para análise histológica.

No pré-operatório os animais foram anestesiados com indução com zoletil (Zoletil®, Vibarc, SP - Brasil) na dose 15mg/kg por via intramuscular (IM). Foram medicados com anti-inflamatório meloxicam (Maxicam®, Ouro Fino, Osasco – SP, Brasil) por via SC na dose de 0,2 mg/kg. Cerca de 30 minutos antes do procedimento cirúrgico administrou-se antibioticoterapia profilática por via intravenosa (IV) com cefalotina 20% (Keflin, Aurobindo Pharma, Anápolis - GO, Brasil) a dose de 25 mg/kg. Após tricotomia em ambos os membros pélvicos e região lombossacra realizou-se a anestesia epidural com lidocaína 2% (Lidovet®, Engenho Novo – RJ, Brasil) com vasoconstritor na dose de 0,3ml/kg associado ao tramadol a 5% (Tramal®, Pfizer, Guarulhos – SP, Brasil) na dose de 1mg/kg ambos pela via epidural em todos os animais.

Para preenchimento dos defeitos ósseos utilizou-se o substituto ósseo brushita injetável composto por uma mistura de duas fases, uma fase sólida na forma de 5g de pó de wollastonita e uma fase líquida de solução de 50 μ L de politilenoglicol e 2,9 ml de solução de ácido fosfórico, essa mistura foi homogeneizada por um minuto e meio e permaneceu em repouso por 30-40 minutos antes de fazer a reação exotérmica e cura final. Este biomaterial foi confeccionado e cedido pelo Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – CERTBIO da Universidade Federal de Campina Grande (Fig.1).

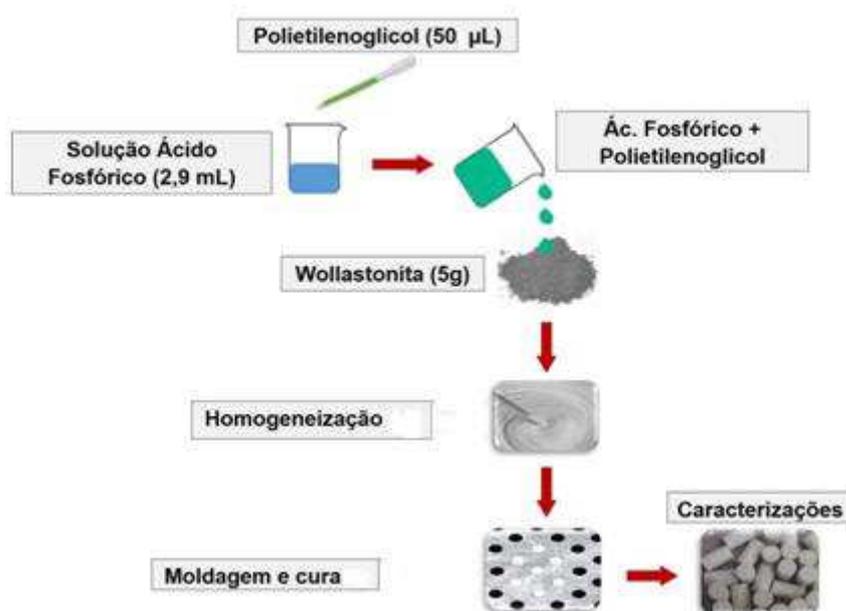


Figura 2 - Fluxograma representando a preparação do cimento ósseo de brushita. Iniciou-se com a mistura da amostra líquida de 50 µL de politilenoglicol e 2,9 ml da solução de ácido fosfórico, posteriormente esta mistura foi adicionada a amostra sólida de 5g de pó de wollastonita, homogeneizou-se por um minuto e meio, permaneceu em descanso por 40 minutos e implantou no modelo animal.

Os animais foram posicionados e tiveram seus membros pélvicos preparados para a cirurgia asséptica. Inicialmente foi feita incisão de 2 cm de extensão na margem crânio-medial da tíbia, divulsão do tecido subcutâneo e muscular com elevação do perióstio, expondo a região diafisária proximal da tíbia. O defeito ósseo foi padronizado com 2 mm de diâmetro e foi confeccionado medialmente na diáfise tibial proximal de cada membro pélvico sendo o limite a transposição da cortical-*cis*. Utilizou-se uma furadeira ortopédica, com broca de 2 mm, sob irrigação constante de solução de cloreto de sódio 0,9% para evitar lesão térmica nas bordas do defeito. No membro pélvico direito (GC) os defeitos não foram preenchidos, no membro pélvico esquerdo (GB) os defeitos foram preenchidos com o cimento ósseo de brushita. Os implantes foram fixados às áreas receptoras através da sutura da musculatura sobre os mesmos com padrão de sutura 'X' com fio poliglactina 910 3-0 (Shalon Medical - Goiânia, Brasil). Após, redução do espaço morto com padrão intradérmico e com fio poliglactina 910 3-0 (Shalon Medical - Goiânia, Brasil) e dermorrafia com fio nylon 3-0 (Shalon Medical - Goiânia, Brasil) em padrão de sutura Wolf (Fig. 2).



Figura 3- Orifício ósseo na tíbia esquerda de coelho. A: lesão óssea com broca de 2 mm. B: defeito ósseo de 2 mm e coloração marrom ocasionada pela mistura do biomaterial e sangue. C: presença do biomaterial na lesão óssea e miorrafia com fio poliglactina 3-0.

Radiografias simples na projeção craniocaudal (CC) e médio-lateral (ML) foram realizadas no pós-operatório imediato, e aos 30, 60 e 90 dias, para acompanhamento da regeneração óssea. Os dados de presença e ausência das variáveis da avaliação radiográfica (ausência de reação periosteal; reação periosteal apenas nas bordas da lesão óssea; reação periosteal nas bordas da lesão com consolidação evoluindo concentricamente sem consolidação completa; e consolidação completa) foram transformados em porcentagens.

No pós-operatório, diariamente a ferida cirúrgica foi limpa com uso de solução de cloreto de sódio a 0,9%, com posterior aplicação de curativo com gaze e esparadrapo, e anti-inflamatório meloxicam (Maxicam®, Ouro Fino, Cravinhos – SP, Brasil) na dose de 0,1mg/kg a cada 24 horas por três dias. O processo de avaliação clínica das feridas cirúrgicas ocorreu durante os dez primeiros dias de pós-operatório, observando de cinco a dez minutos a inspeção, palpação, dor, cicatrização da ferida, infecção, drenagens, apoio do membro no solo, deambulação e alinhamento do membro.

Os animais foram eutanasiados ao final de cada período de observação aos 40 e 90 dias, administrando-se medicação pré-anestésica com xilazina 2% (Sedanew®, Vetnil, Louveira, SP - Brasil) na dose de 5 mg/kg, IM. Seguidos 15 minutos administrou-se tiopental sódico (Thiopentax®, Cristália, Itapira - SP, Brasil) na dose de 20mg/kg, IV e logo após perda dos reflexos, cloreto de potássio 19,1% (Isofarma Halexistar, Eusébio - CE, Brasil) na dose de 1ml/kg, IV, de acordo com as normas de eutanásia definidas pelo CFMV.

Após a eutanásia, nos períodos pré-determinados de 40 e 90 dias, as tíbias foram retiradas, seccionadas em torno de 1 cm acima e abaixo em relação a ostectomia. Os fragmentos ósseos foram submetidos a fixação com formalina tamponada a 10% (Aphatec, Macaé - RJ, Brasil) durante 10 dias. Logo após, o material foi lavado em água corrente e descalcificado em mistura de partes iguais de solução de ácido fórmico 5% (Aphatec, Macaé - RJ, Brasil) + ácido clorídrico 5% (Aphatec, Macaé - RJ, Brasil) durante cinco dias. Os fragmentos foram incluídos em parafina líquida (Aphatec, Macaé - RJ, Brasil) e, posteriormente, cortados em fatias transversais de 5µm de espessura dos blocos montados em lâminas de vidro. De cada bloco, foram obtidas quatro lâminas, sendo estas submetidas às técnicas de hematoxilina-eosina para visualização histológica, avaliando-se a interface osso-implante, os graus de reação endosteal e periosteal, tecido de cicatrização, diferenciação óssea e neoformação óssea e foram graduadas em discretas, moderadas e acentuadas. As amostras processadas foram então avaliadas através de análise descritiva comparativa por um avaliador cego.

Análise Estatística

As diferenças nos resultados clínicos e histológicos entre os membros dos coelhos tratados com o biomaterial Brushita e os membros com o tratamento controle foram testadas utilizando-se o teste dos postos sinalizados de Wilcoxon (1945). Utilizamos este teste não-paramétrico porque os dados não satisfizeram os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias dos testes paramétricos. O teste foi pareado devido à ocorrência de dependência amostral, pois ambos os tratamentos foram aplicados em um mesmo coelho, apesar de em membros pélvicos diferentes. As análises foram realizadas no programa R 3.5.0. (R Core Team, 2018). A avaliação radiográfica dos tratamentos controle e brushita foram analisadas através de regressões polinomiais de segundo grau. Estas análises foram realizadas no programa Excel 2016.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Logo após a recuperação da anestesia epidural e em todo o período de avaliação clínica cirúrgica as variáveis de dor a palpação, cicatrização, deiscência de sutura, infecção da ferida, apoio no solo e deambulação não diferiram significativamente entre os grupos controle e grupo brushita em nenhum dos dias avaliados (Tab. 1), tendo em vista que o suporte da tíbia não foi comprometido (Melo *et al.*, 1998). Tais fatos são

devido ao tamanho diminuto da lesão óssea de 2mm, a analgesia empregada e mínimo trauma aos tecidos adjacentes favoreceram para tais observações. Esses achados estão de acordo com os relatados por Azevedo *et al.* (2013) e Filgueira (2012) que avaliaram outros tipos de biomateriais.

Tabela 1. Incidência em porcentagem de variáveis clínicas em 12 coelhos durante 10 dias de recuperação após o tratamento cirúrgico dos membros pélvicos direito (Controle) e esquerdo (Biomaterial Brushita).

| Variáveis | Tratamento | Incidência em cada dia de avaliação clínica (%) | | | | | | | | | |
|----------------------|------------|---|----------------|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Edema | Controle | 8.3% a* | 8.3% a | 8.3% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 8.3% a | 8.3% b** | 8.3% b | 16.7% b |
| | Brushita | 41.7% a | 8.3% a | 0.0% a | 8.3% a | 16.7% a | 16.7% a | 33.3% a | 50.0% a | 58.3% a | 58.3% a |
| Eritema | Controle | 0.0% b | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% b | 0.0% b | 0.0% b |
| | Brushita | 50.0% a | 33.3% a | 25.0% a | 66.7% a | 41.7% a | 41.7% a | 58.3% a | 50.0% a | 58.3% a | 41.7% a |
| Dor a palpação | Controle | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a |
| | Brushita | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 8.3% a | 8.3% a | 25.0% a | 25.0% a | 16.7% a | 16.7% a | 16.7% a |
| Cicatrização | Controle | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a |
| | Brushita | 100% a | 100% a | 100% a | 91.7% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a |
| Deiscência de sutura | Controle | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a |
| | Brushita | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a |
| Infecção da ferida | Controle | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a |
| | Brushita | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a |
| Drenagem | Controle | 0.0% a | 0.0% b | 0.0% a | 0.0% a | 8.3% b | 8.3% a | 8.3% a | 0.0% b | 0.0% b | 0.0% b |
| | Brushita | 25.0% a | 41.7% a | 0.0% a | 16.7% a | 50.0% a | 41.7% a | 41.7% a | 41.7% a | 41.7% a | 41.7% a |
| Claudicação | Controle | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% b | 0.0% b | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% b |
| | Brushita | 8.3% a | 0.0% a | 0.0% a | 0.0% a | 16.7% a | 66.7% a | 66.7% a | 33.3% a | 33.3% a | 41.7% a |
| Apoio no solo | Controle | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a |
| | Brushita | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a |
| Deambulação | Controle | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a |
| | Brushita | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a | 100% a |

*Letras iguais, entre linhas, representam diferenças não significativas entre os tratamentos Brushita e Controle conforme o teste de Wilcoxon pareado à 95% de confiança. **As diferenças significativas ($p < 0,05$) estão destacadas em negrito.

A utilização do cimento ósseo de brushita comparado ao grupo controle resultou em incidência significativamente maior de sinais locais como eritema no primeiro dia e

a partir do quarto dia ao dia dez; drenagem no segundo, no quinto e do oitavo ao dia dez; e claudicação no sexto, sétimo e décimo dia de pós-operatório (Tab. 1), diferente dos resultados encontrados por Azevedo *et al.* (2013) e Filgueira (2012) os quais não observaram tais alterações, entretanto estes autores em seus trabalhos utilizaram pomada antibiótica no pós-operatório caso não efetuado neste estudo. Apesar dessas respostas clínicas pode-se afirmar que não houve contaminação do produto durante sua manipulação o qual foi constatado pela ausência de microrganismos nas áreas de avaliações histológicas.

Do oitavo ao décimo dia foi observado edema na maioria dos animais, o mesmo foi relatado por Souza (2018) utilizando substituto ósseo à base de fosfato de cálcio. Segundo Bohner (2000), as reações inflamatórias podem ocorrer devido a uma transformação do cimento ósseo de brushita em condições fisiológicas pois durante o processo há liberação do ácido resultando em reações inflamatórias aos tecidos, sabendo disso, neste trabalho, justificamos o uso do anti-inflamatório por três dias no pós-operatório para minimizar tais reações. O esperado seria que devido ao trauma cirúrgico, ocorresse um processo inflamatório, principalmente nos primeiros dias, e uma regressão do processo inflamatório ao longo do tempo conforme relatado por Vulcani *et al.* (2013), porém isso não foi observado pois até o décimo dia de pós operatório alguns animais ainda apresentavam sinais de inflamação. Entretanto, a cicatrização da ferida cirúrgica ocorreu por primeira intenção sendo os pontos de sutura retirados no décimo dia, com base nessa avaliação pode-se afirmar não existir qualquer rejeição ao cimento ósseo de brushita confirmando a sua biocompatibilidade.

Na eutanásia de 40 dias dos animais, no exame post-mortem, após incisão da pele verificou-se uma massa nodular, esbranquiçada e de superfície irregular com aderência de periósteo e fibras musculares adjacente mais acentuado no grupo brushita e discreto no grupo controle. Ao corte era macia e homogênea, sem odor. As mesmas observações foram relatadas por Souza (2018) e caracterizada como granuloma que segundo Vasconcelos (2012) é uma inflamação e trata-se de uma reação de macrófagos, agentes inanimados e inertes (corpo estranho). Tais características não foram observadas em 90 dias ocorrendo total absorção do implante pelos macrófagos e células gigantes.

Os exames histológicos realizados neste estudo possibilitaram analisar as reações entre os grupos durante o período de reparação óssea proposto neste

experimento. Não houve diferenças significativas entre as análises histológicas ósseas (reação endosteal, reação periosteal, tecido de cicatrização, diferenciação óssea e osso neoformado) dos membros dos coelhos tratados com o biomaterial Brushita e o tratamento Controle, tanto aos 40 dias quanto aos 90 dias após os procedimentos cirúrgicos (Tab.2).

Tabela 2. Médias e desvios padrões (\pm) dos índices da análise óssea em seis coelhos aos 40 e 90 dias de recuperação após o tratamento cirúrgico dos membros pélvicos direito (Controle) e esquerdo (Biomaterial Brushita).

| Variáveis | Tratamento | Tempo | |
|------------------------|------------|--------------------|-------------------|
| | | 40 dias | 90 dias |
| Reação endosteal | Brushita | 0.33 \pm 0.58 a* | 0.00 \pm 0.0 a |
| | Controle | 0.33 \pm 0.58 a | 0.00 \pm 0.0 a |
| Reação periosteal | Brushita | 1.66 \pm 1.53 a | 1.33 \pm 0.58 a |
| | Controle | 1.00 \pm 1.73 a | 1.00 \pm 1.00 a |
| Tecido de cicatrização | Brushita | 0.66 \pm 0.58 a | 0.00 \pm 0.0 a |
| | Controle | 0.66 \pm 1.15 a | 0.00 \pm 0.0 a |
| Diferenciação óssea | Brushita | 0.66 \pm 0.58 a | 0.00 \pm 0.0 a |
| | Controle | 0.33 \pm 0.58 a | 0.00 \pm 0.0 a |
| Osso neoformado | Brushita | 2.33 \pm 1.15 a | 2.00 \pm 0.0 a |
| | Controle | 2.00 \pm 1.00 a | 2.00 \pm 0.0 a |

*Letras iguais, entre linhas, representam diferenças não significativas entre os tratamentos Brushita e Controle conforme o teste de Wilcoxon pareado à 95% de confiança.

Entretanto, analisando dentro do grupo de 40 dias a reação periosteal foi moderada e acentuada no grupo brushita em 66,67% e acentuada no grupo controle em 33,33%, tecido cicatricial discreto no grupo brushita em 66,67% e moderado no grupo controle em 33,33%, diferenciação óssea discreta no grupo brushita em 66,67% e grupo controle em 33,33%, e neoformação óssea acentuada e discreta no grupo brushita em 100% e moderada no grupo controle em 33,33%.

Aos 90 dias houve reação periosteal discreta e moderada no grupo brushita em 100% e no grupo controle discreto e moderado em 66,67%, e neoformação óssea moderada 100% em ambos os grupos.

Comparando entre os momentos de 40 e 90 dias a reação endosteal, tecido cicatricial e diferenciação óssea foi mais relevante quando utilizou-se o biomaterial de brushita e essas respostas foram mais expressivas aos 40 dias de pós operatório. Essa

característica ocorre por que os cimentos de brushita são reabsorvidos rapidamente (Theiss *et al.*, 2005). A reação periosteal foi moderada e neoformação óssea acentuada aos 40 dias e aos 90 dias foram discretas e moderadas, respectivamente. Os substitutos ósseos são absorvidos e substituído por tecido ósseo neoformado, conforme observado por Borges *et al.* (2000) que avaliou hidroxiapatita sintética como substituto ósseo. A medida que o biomaterial foi degradado as respostas fisiológicas ao biomaterial foram amenizadas prevalecendo osso neoformado. Isso mostra que o cimento de brushita tem capacidade de osteoindução e osteocondutiva.

Na avaliação histológica descritiva, pôde-se observar aos 40 dias de pós-operatório, na interface osso-implante que recebeu a brushita, endósteo e periosteio irregular com reação celular intensa, muitos osteoblastos e osteoclastos ativos, grande quantidade de fibroblastos e tecido conjuntivo, neoformação vascular, biomaterial vacuolizado, tecido ósseo imaturo, proliferação de matriz óssea em volta do implante e presença de células mesenquimais em processo de diferenciação (Fig.3), estas características também foram relatado por Dufrane *et al.* (2003) o qual avaliou a citotoxicidade *in vitro* de cálcio e silicato liberados por pseudowollastonita e Avelino (2018) que avaliou silicato de cálcio em coelhos.

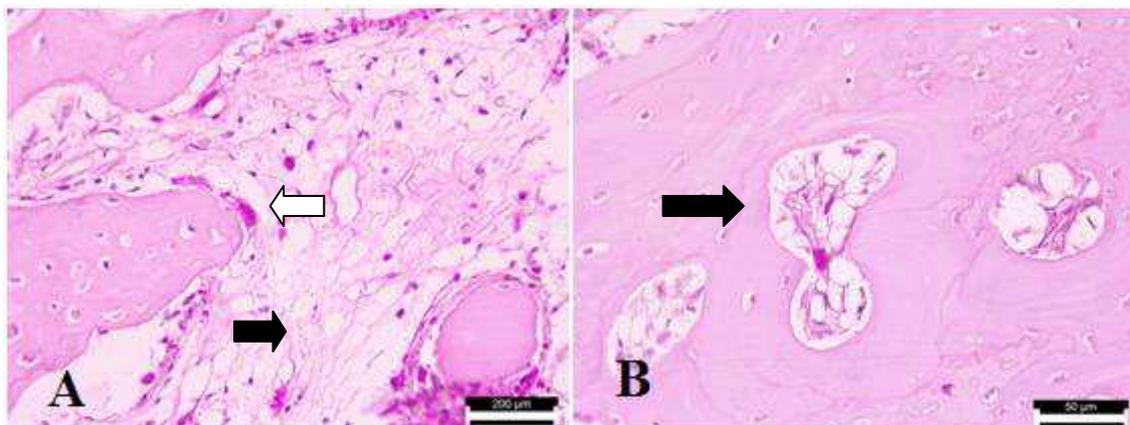


Figura 4 - Micrografia obtida de corte histológico dos animais eutanasiados aos 40 dias de pós-operatório (GB). A: células mesenquimais em processo de diferenciação com reação celular intensa (seta preta), osteoblastos (seta branca). B: vasos sanguíneos circundado por osteoblastos (seta preta), tecido ósseo induzido pelo biomaterial promovendo reposição óssea. HE. Objetiva de 40 X. Escala 200µm e 50µm, respectivamente.

Nos animais eutanasiados aos 90 dias de pós-operatório, na interface osso-implante que recebeu a brushita, foi observado que o perióstio apresentava-se totalmente estruturado, presença de fibroblastos, tecido conjuntivo ativo, sistema de Havers grandes e ausência do biomaterial, demonstrando sua capacidade de bioatividade e de reabsorção no organismo (Dunne, 2008). No grupo controle havia crescimento ósseo em direção medular, reconstituição óssea, muitos sistemas de Havers em formação e remodelamento.

Os dados de presença e ausência das variáveis da avaliação radiográfica (ausência de reação periosteal; reação periosteal apenas nas bordas da lesão óssea; reação periosteal nas bordas da lesão com consolidação evoluindo concentricamente sem consolidação completa; e consolidação completa) foram transformados em porcentagens. Esta transformação foi necessária para controlar o efeito da diferença nas quantidades amostrais entre as datas de avaliação. O efeito dos tratamentos controle e brushita sobre estas variáveis ao longo do tempo foi analisado através de regressões polinomiais de segundo grau. Estas análises foram realizadas no programa Excel 2016.

A ausência de reação periosteal não foi registrada nos coelhos em nenhum dos dias de avaliação. Na avaliação aos 30 dias após a cirurgia, 83,3% dos membros dos coelhos tratados com Brushita apresentaram reação periosteal nas bordas da lesão com consolidação concêntrica não completa mostrando presença de linha radiopaca definida no local do defeito (Fig.4), indicando uma osteointegração assim como relatado por Moreira *et al.* (2014), ao passo que a maioria dos controles apresentavam reação apenas nas bordas, com somente 16,6% demonstrando consolidação concêntrica não completa (Fig.5 e 6), podendo sugerir que o cimento ósseo de brushita favorece o processo de cicatrização óssea mais rápida sendo osteoindutor e osteocondutor.

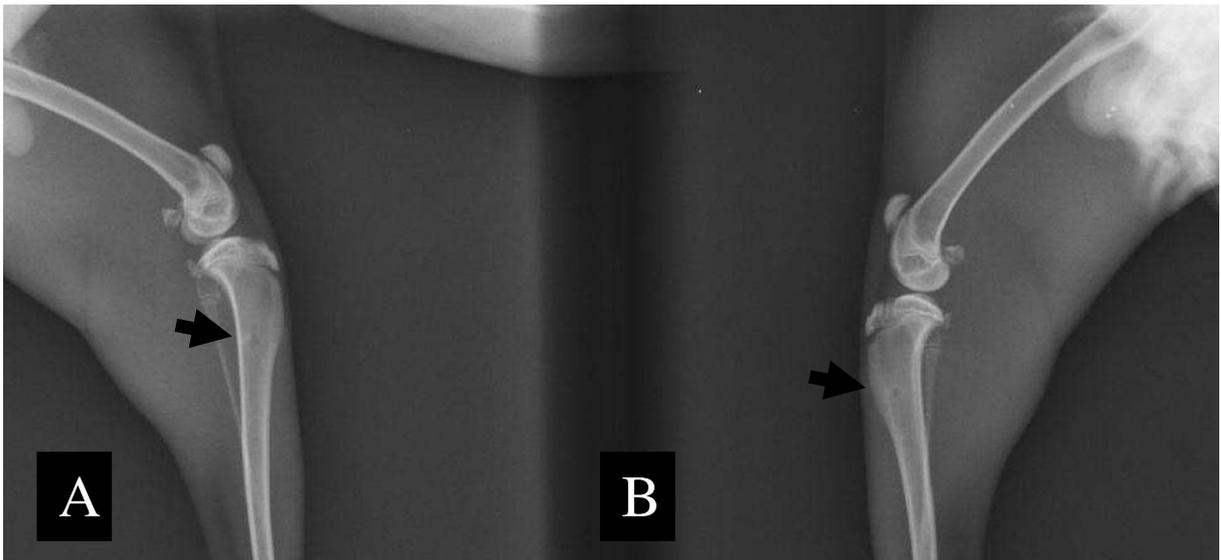


Figura 5 - Imagem radiográfica na projeção médio lateral de tíbia e fíbula de coelho aos 30 dias de pós-operatório. A: membro direito, grupo controle. B: membro esquerdo, grupo brushita. Destaca-se o local de orifício ósseo em A e B (seta preta).

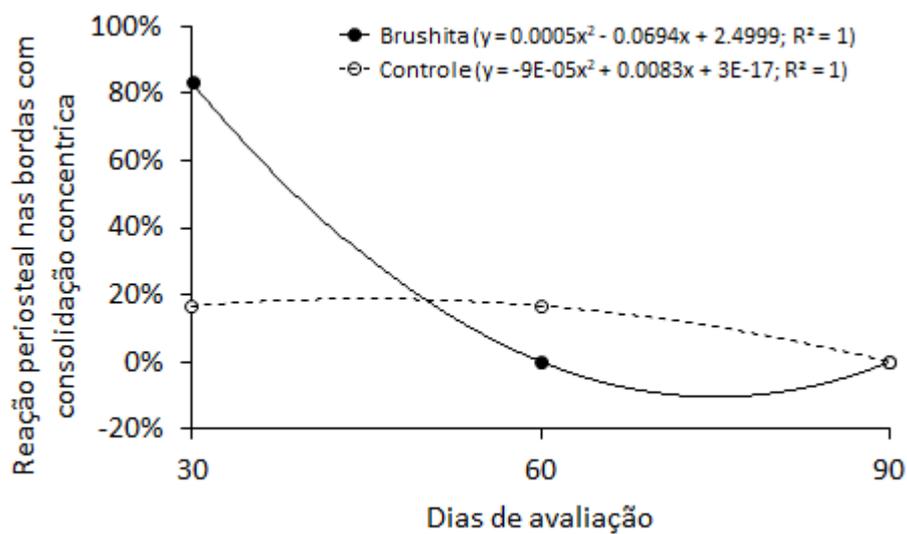


Figura 5 - Porcentagem de coelhos que apresentaram reação periosteal nas bordas da lesão e consolidação concêntrica não completa ao longo de 90 dias de recuperação pós-cirúrgica.

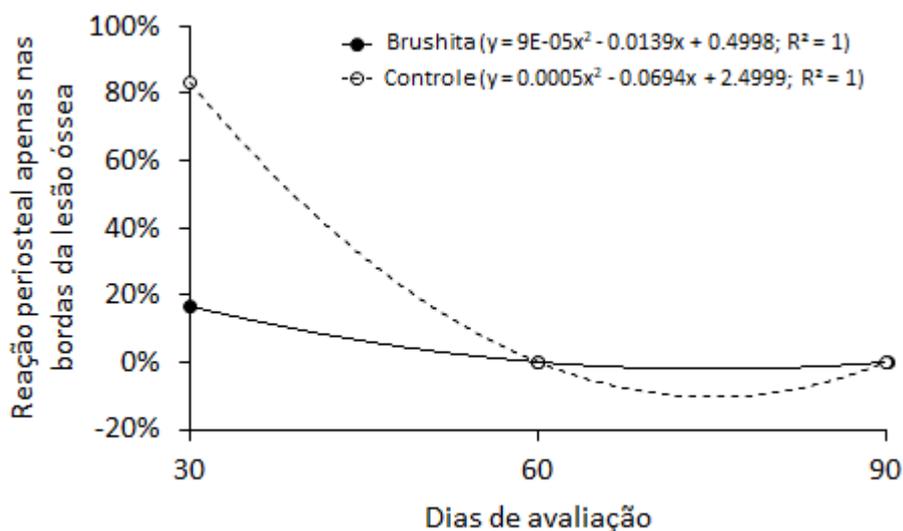


Figura 6 - Porcentagem de coelhos que apresentaram reação periosteal apenas nas bordas da lesão ao longo de 90 dias de recuperação pós-cirúrgica.

A porcentagem destas variáveis reduziu nas avaliações dos dias 60 e 90, pois muitos coelhos já apresentavam consolidação completa do osso. No dia 60, todos os membros tratados com Brushita já haviam consolidado completamente o osso, enquanto que apenas 83,3% dos membros controle haviam atingido a consolidação completa (Fig.7).

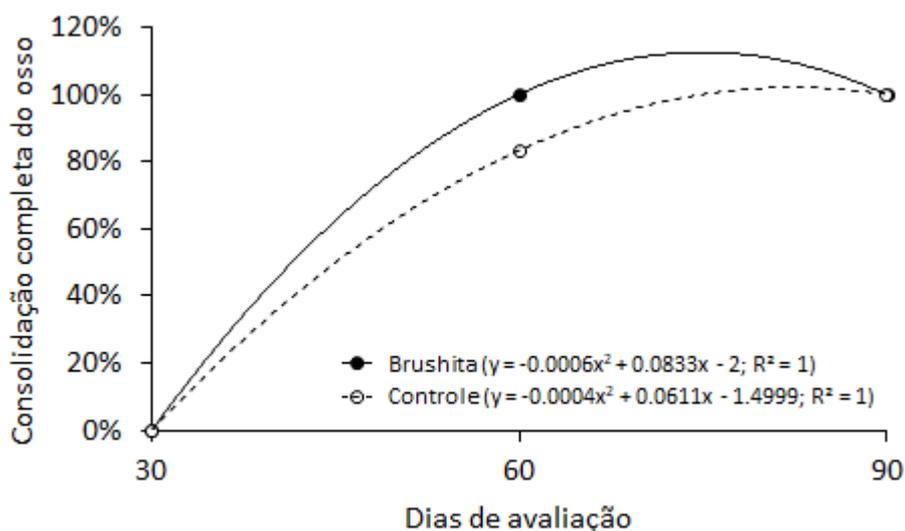


Figura 7 - Porcentagem de coelhos que apresentaram consolidação completa do osso ao longo de 90 dias de recuperação pós-cirúrgica.

Ao final do experimento, 90 dias, todos os coelhos haviam se recuperado completamente.

CONCLUSÃO

Houve incorporação do cimento ósseo de brushita ao leito receptor em 100% dos casos. O tratamento com Brushita foi capaz de acelerar a consolidação das tíbias dos coelhos em comparação com o tratamento controle. O biomaterial Brushita é recomendado para conduzir falhas ósseas em outras espécies como a canina e felina, já que apresentou propriedades osteocondutoras com resultados satisfatórios em defeitos ósseos em tíbia de coelho.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO A. S., SÁ, M.J.C., LIA FOOK M.V. et al. Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos. Estudo histológico e morfométrico. *Ciência Rural*, v.43, n.7, p.1265-1270, 2013.
- BORGES, A. P. B.; REZENDE, C. M. F.; RIBEIRO, M. F. B. et al. Hidroxiapatita sintética como substituto ósseo em defeito experimental provocado no terço proximal da tíbia em cão: aspectos a microscopia eletrônica de transmissão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.52, n.6, p.616-620, 2000.
- BOHNER, M. Calcium Orthophosphate in medicine: from ceramics to calcium phosphate cement. *Injury, Int. J. Care Injured*, v.31, p.37-47, 2000.
- CHOW, L.C. (2009). Next generation calcium phosphate-based biomaterials. *Dental Materials Journal*, v.28, n.1, p.1-10.
- DOROZHKIN, S.V. Calcium orthophosphate cements for biomedical application. *Journal of Materials Science*, v.43, n.9, p.3028-3057, 2008.
- DUFRANE, D.; DELLOYE, C.; MCKAY, I.J. et al. Indirect cytotoxicity evaluation of pseudowollastonite. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, v.14, n.1, p. 33–38, 2003.
- DUNNE, N. Mechanical properties of bone cements. *Orthopaedic Bone Cements*, Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Reino Unido, p.233-264, 2008.

- FILGUEIRA, F.G.F. Hidroxiapatita associada à quitosana na reparação óssea – Revisão de literatura e estudo experimental em coelhos. 2012. 68f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.
- GBURECK, U.; DEMBSKI, S.; THULL, R. et al. Factors influencing calcium phosphate cement shelflife. *Biomaterials*, v.26, n.17, p.3691-7, 2005.
- LEWIS, G. Properties of acrylic bone cement: state of the art review. *Journal Biomedical Materials Research*, v.38, n.2, p.155-82, 1997.
- MELO, E.G.; REZENDE, C.M.F.; BORGES, A.P.B. et al. Aloenxerto ósseo cortical: avaliação do seu emprego em tibia de cão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.50, n.4, p.385-394, 1998.
- MONIQUE S.A. Avaliação radiográfica e histológica da reparação óssea em tibia de coelhos utilizando implantes de silicato de cálcio. 2018. 56f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.
- MÔNICA A.A.S. Avaliação da interação biológica de substituto ósseo á base de fosfato de cálcio em falhas ósseas induzidas em túbias de coelhos. 2018. 49f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.
- MOREIRA R.; DÓRIA R.G.S.; CAMARGO L.M.; SANTOS M.D.; MINTO B.W.; DE NARDI A.B.; AMBRÓSIO C.E.; SILVIO H. & FREITAS S.H. 2014. Aspecto radiológico e macroscópico de matriz óssea mineralizada heteróloga fragmentada e polimetilmetacrilato autoclavados em falha óssea de tibia de coelho. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.34, n.2, p.173-178, 2014.
- MORÚA, O.C., CARDOSO, M.J.B., FARIAS, K.A.S., et al. “Síntese e Avaliação de Cimento Ósseo com Diferentes Concentrações de Brushita”, *Revista eletrônica de materiais e processos*, v.12, p. 58-63, n. 1, 2017.
- RAMALHO, A.C.A. Desenvolvimento e caracterização de cimentos ósseos inovadores. 2010. 101f. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Ciências Biomédicas). Universidade Beira Interior - Faculdade das Ciências da Saúde, Covilhã, Portugal, 2010.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>

THEISS, F.; APELT, D.; BRAND, B. et al. Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials*, v.26, n.21, p.4383-94, 2005.

VULCANI, V.A.C.; MACORIS, D.G.; PLEPIS, A.M.G. et al. Implantação de biomembrana de colágeno tratada em solução alcalina ou conservada em glicerina a 98% na parede abdominal de eqüinos. *Ciência Rural*, v. 43, n.8, p.1422-1428, 2013.

VASCONCELOS, C.A. Processo Inflamatório relacionado com a presença de biomaterial. IN: OREFICE, L.R.; PEREIRA, M.M.; MANSUR, S.H. (ED). *Biomateriais: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: CULTURA MÉDICA: GUANABARA KOOGAN, 2012. p.273.

WILCOXON, F. Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics Bulletin*. v.1, n.6, p.80-83, 1945.

CAPÍTULO II

Utilização do cimento ósseo de brushita em osteossíntese de tíbia em cão

Ana Clara de França Silva Azevedo 0002-7799-8679, Professora Substituta do Instituto Federal da Paraíba - IFPB.

Thais Pereira de Almeida 0003-3811-724X, Residente de Anestesiologia do Instituto Federal da Paraíba - IFPB, Campus de Sousa.

Virginia Maiza Anastacio Quirino 0002-0608-9945, Residente em Diagnóstico por Imagem na Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Campus de Patos.

Fabírcia Geovânia Fernandes Filgueira, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFPB, Campus de Sousa.

Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá , Professor Efetivo da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Campus de Patos.

Manuscrito submetido à
Revista Arquivo
Brasileiro de Medicina
Veterinária e Zootecnia.

UTILIZAÇÃO DO CIMENTO ÓSSEO DE BRUSHITA EM OSTEOSSÍNTESE DE TÍBIA DE CÃO

RESUMO

O objetivo é relatar a utilização do cimento ósseo de brushita em osteossíntese de tibia de cão. Foi atendido um cão sem raça definida, macho, pesando 11,800 kg, de quatro meses de idade, não castrado e politraumatizado. O animal apresentava fratura oblíqua curta em diáfise de rádio e ulna esquerda a qual foi estabilizada com placa compressiva no rádio, fratura cominutiva em diáfise de tibia e fíbula esquerda estabilizada com pino intramedular, placa neutra e adição de biomaterial em tibia, e fratura Salter Harris tipo II em fêmur direito estabilizada com pinos cruzados de steinmann. Foram realizadas avaliações clínicas após 10 dias de pós-operatório e exames radiográficos imediato e com 15, 30 e 60 dias de pós-operatório. Na radiografia de 15 dias de pós-operatório dos ossos de tibia e fíbula esquerda foi possível observar fechamento parcial da linha de fratura com aumento de radiopacidade no local de implantação do cimento ósseo de brushita, aos 30 dias observou-se consolidação total. Na fratura Salter Harris tipo II obteve consolidação inicial aos 30 dias e total aos 60 dias, e nos ossos rádio e ulna esquerdo observou-se radiograficamente a consolidação inicial aos 60 dias. Foi possível observar o favorecimento do cimento ósseo de brushita em osteossíntese de tibia em cão, obtendo a rápida evolução cicatricial.

PALAVRAS-CHAVE: biomaterial; cicatrização óssea; canino, cirurgia ortopédica.

ABSTRACT

The objective is to report the use of brushite bone cement in dog tibial osteosynthesis. A mixed breed male dog, weighing 11,800 kg, four months old, untray and multiple trauma was treated. The animal had a short oblique fracture in the radial shaft and left ulna which was stabilized with a compression plate on the radius, comminuted fracture in the tibial shaft and left fibula stabilized with an intramedullary pin, neutral plate and addition of biomaterial in the tibia, and a Salter Harris fracture. type II in right femur stabilized with crossed steinmann pins. Clinical evaluations were performed 10 days after the operation and immediate radiographic examinations and 15, 30 and 60 days

after the operation. On the 15-day postoperative radiograph of the tibial and left fibula bones, it was possible to observe partial closure of the fracture line with increased radiopacity at the site of implantation of the brushite bone cement. At 30 days, total consolidation was observed. In the Salter Harris type II fracture, initial consolidation occurred at 30 days and total consolidation at 60 days, and in the radius bones and left ulna, initial consolidation was observed radiographically at 60 days. It was possible to observe the favoring of brushite bone cement in tibial osteosynthesis in dogs, obtaining the fast healing evolution.

KEYWORDS: biomaterial; bone healing; canine, orthopedic surgery.

INTRODUÇÃO

As fraturas em ossos longos são comuns em pequenos animais, pois estão sujeitas a forças fisiológicas (sustentação do peso, contração muscular) e forças não fisiológicas (acidentes automobilístico e quedas) (Slatter, 2007). Em sua maioria são fraturas de alta energia resultando em perda óssea e fragmentos cominutivos que impossibilita a restauração anatômica. Nesse caso, a alternativa é a substituição dessa falha óssea por enxerto ou biomateriais.

Na restauração de tecidos perdidos, médicos e cirurgiões utilizam enxertos autógenos ou alógenos. O enxerto autógeno pode ser obtido a partir de outras áreas do esqueleto com disponibilidade, como: crista ilíaca, crista tibial, tubérculo maior do úmero e o trocânter maior do fêmur. E permanece como primeira escolha no tratamento regenerador ósseo, principalmente, devido às suas propriedades de osteocondução, osteoindução e osteogênese. Entretanto, esse tipo de enxerto apresenta algumas desvantagens como, necessidade de uma cirurgia adicional na área doadora, aumento da morbidade, risco de contaminação na área doadora, risco de infecção da ferida cirúrgica e limitação em relação à quantidade doadora (Dimitriou, 2011; Handa, 2012). O enxerto alógeno seria uma alternativa ao autógeno, porém há muita controvérsia em relação à possibilidade de transmissão de doenças e reações imunogênicas (Jiang, 2012).

Os biomateriais sintéticos são muito utilizados na cirurgia de reconstrução óssea, sua aplicação é uma alternativa aos enxertos ósseos, pois não danificam tecidos saudáveis, não aumentam os riscos de contaminações, além de serem disponibilizados comercialmente. Podem, ainda, ser de fácil dissolução e absorção, ao mesmo tempo em que permitem e estimulam a formação óssea (Wan *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2009).

Os cimentos de brushita (DCPD-CPCs), tem ganhado algum interesse, pois são reabsorvidos muito mais rapidamente do que os cimentos de apatita (HA-CPCs), isto porque a brushita é um composto metaestável, quando usado em condições fisiológicas. Os cimentos de brushita são bastante biocompatíveis e bioreabsorvíveis (Theiss, 2005). Diante disto, o presente relato teve como objetivo avaliar a influência da reparação óssea conduzida pelo cimento ósseo de brushita em osteossíntese de tíbia em um cão, obtendo a rápida evolução cicatricial.

METODOLOGIA

Foi atendido no Hospital Veterinário Dr Adílio Santos de Azevedo do Instituto Federal da Paraíba (HV-IFPB), campus de Sousa, um cão sem raça definida, macho, pesando 11,8 kg, quatro meses de idade, não castrado e politraumatizado. O tutor relatou que o animal vive em um sítio e havia sido atropelado, levando para atendimento após dois dias.

Na avaliação física o animal apresentava frequência cardíaca (FC) 152 bpm, frequência respiratória (FR) 28 mpm, tempo de preenchimento capilar (TPC) 2 segundos, temperatura retal (TR) 38,7°C, mucosas hipocoradas, hidratado, pulso periférico forte e linfonodos submandibular e pré-escapular aumentados. Os exames de hemograma e bioquímico estavam dentro da normalidade para a espécie.

Na avaliação ortopédica, o membro torácico esquerdo (MTE) região diafisária distal de rádio e ulna, no membro pélvico direito (MPD) em fêmur distal e no membro pélvico esquerdo (MPE) em região de diáfise de tíbia e fíbula apresentava dor a palpação, crepitação, edema, eritema e aumento de temperatura local. No membro torácico direito (MTD) não apresentava nenhuma alteração. O animal não apoiava o membro torácico esquerdo e nem os membros pélvicos.

No exame radiográfico foram solicitados as projeções medio-lateral (ML) e crânio-caudal (CC) dos MTE, MTD, MPD e MPE. O animal apresentava no MTE fratura oblíqua curta em terço médio de diáfise de rádio e ulna, no MPD apresentava fratura em linha epifisária classificada como Salter Harris tipo II e no MPE apresentava fratura cominutiva em terço médio de diáfise de tíbia e fíbula. Foi realizado uma bandagem de Robert Jones em MPE e bandagem em Spica no MTE. O animal foi

medicado com tramadol (Tramal®, Pfizer, Guarulhos – SP, Brasil) na dose única de 2mg/kg por via intramuscular (IM), meloxicam 0,2% (Maxicam®, Ouro Fino, Osasco – SP, Brasil) na dose única de 0,2 mg/kg por via subcutâneo (SC) e fentanil (citrato de fentanila, Genéricos Hipolabor, Belo Horizonte- MG, Brasil) na dose única de 0,005mg/kg, IM. Foi solicitado repouso e receitado por via oral meloxicam (Maxicam®, Ouro Fino, Osasco – SP, Brasil) na dose de 0,1 mg/kg durante 3 dias e tramadol (Tramal®, Pfizer, Guarulhos – SP, Brasil) na dose de 4 mg/kg a cada 8 horas durante 5 dias.

A preparação do cimento ósseo de brushita consistiu na adição de 5g de pó de wollastonita na solução de 50 µL (0,05 mL) de polietilenoglicol (PEG) e 2,9 mL de uma solução de ácido fosfórico, homogeneizou-se por aproximadamente um minuto e meio. A pasta permaneceu em descanso por 5 cinco horas e em seguida foi confeccionado blocos de 1 cm de altura e 0,5cm de circunferência (Fig.1).

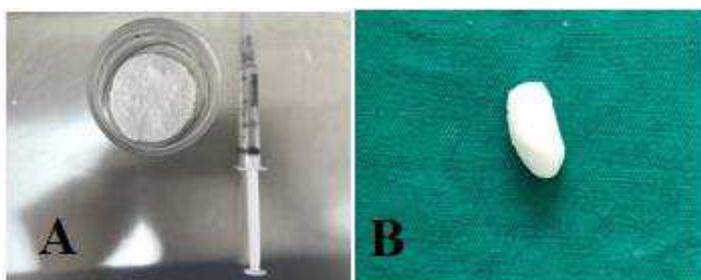


Figura 1 - Cimento ósseo de Brushita. A: observa-se no frasco o pó de wollastonita. B: confecção do bloco.

O animal foi encaminhado para o procedimento de osteossíntese em MTE, MPE e MPD após 15 dias de avaliação clínica. Para medicação pré-anestésica foi usado diazepam (Diazepam, Hipolabor, Belo Horizonte - MG, Brasil) na dose de 0,3mg/kg intravenoso (IV) e fentanil (citrato de fentanila, Genéricos Hipolabor, Belo Horizonte - MG, Brasil) na dose de 0,005mg/kg (IV). Após tricotomia do MTE, MPE e região lombossacra realizou-se a anestesia epidural com lidocaína 2% (Lidovet®, Engenho Novo – RJ, Brasil) com vasoconstritor na dose total de 0,25ml/kg sendo 0,98 ml de bupivacaína (Cloridrato de Bupivacaína, Hypofarma, Ribeirão das Neves, MG - Brasil) e 1,96ml de lidocaína associado ao tramadol a 5% (Tramal®, Pfizer, Guarulhos – SP, Brasil) na dose de 1mg/kg ambos pela via epidural. No plexo braquial foi administrado 3,8mg/kg de lidocaína e 2mg/kg de bupivacaína. Foi realizado antibioticoterapia com

ampicilina 20% (Ampicilina®, Vetnil, Louveira – SP, Brasil) na dose de 25mg/kg (IV), anti-inflamatório com meloxicam 0,2% (Maxicam®, Ouro Fino, Osasco – SP, Brasil) na dose de 0,2mg/kg (IV) e fluidoterapia com NaCl 0,9% 15g/min (IV). Na indução foi utilizado propofol (Diprivan®, Astrazeneca, São Paulo – SP, Brasil) na dose de 4mg/kg (IV). A manutenção foi realizada com infusão contínua de propofol 1% 0,4ml/kg/min (IV).

O animal ficou em decúbito lateral esquerdo para o acesso cirúrgico do membro torácico esquerdo e posteriormente em decúbito dorsal para o acesso cirúrgico do membro pélvico esquerdo e membro pélvico direito. Após antisepsia iniciou-se a cirurgia no MPE conforme a técnica descrita por Fossum (2014) para acessar e estabilizar a tibia e fíbula utilizando um pino intramedular de 2.5mm e uma placa com função de neutralização colocando três parafusos distais e três proximais. Após redução e estabilização do foco de fratura foi adicionado o cimento ósseo de brushita de 1cm cranial e caudal ao defeito ósseo (Fig. 2).

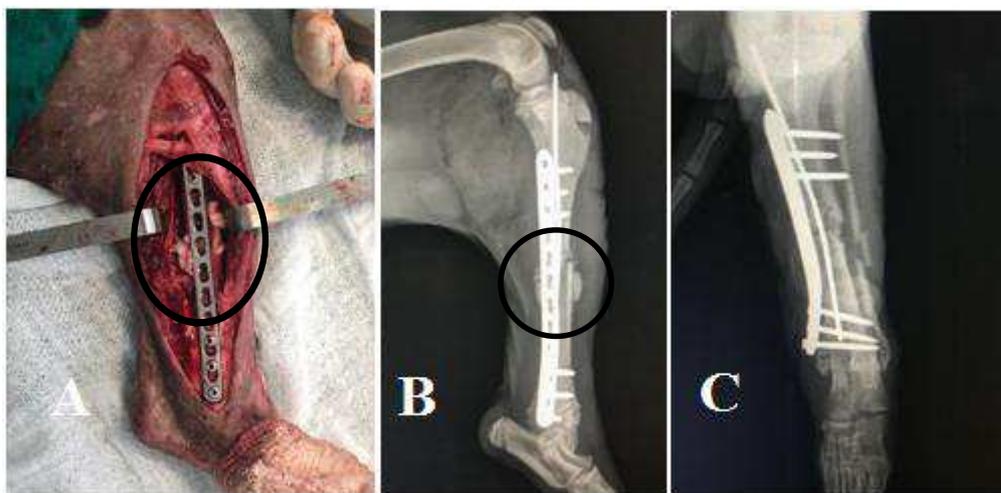


Figura 2- Localização do cimento ósseo de brushita. A: implantação do cimento ósseo de brushita cranial e caudal ao defeito ósseo no momento do trans-operatório (círculo preto). B: imagem radiográfica imediata na projeção ML a identificação do biomaterial (círculo preto) cranial e caudal no local de defeito ósseo misturado com os fragmentos cominutivos. C: imagem radiográfica imediata na projeção crânio caudal.

Para redução e estabilização da fratura de fêmur distal do MPD utilizou-se pinos cruzados de Steinmann, para estabilização e redução da fratura de rádio e ulna no MTE utilizou-se uma placa com função de compressão. Em seguida foi realizado miorrafia

com náilon 3-0 em padrão X, redução do subcutâneo com náilon 3-0 em padrão intradérmico e dermorráfia com náilon 3-0 em padrão wolff em todas osteossínteses.

Avaliou-se clinicamente o animal por 10 dias. Observou-se presença ou ausência de edema, eritema, dor à palpação, cicatrização, deiscência de sutura, infecção da ferida, drenagem, claudicação, apoio no solo, deambulação e alinhamento do membro.

Foram realizadas radiografias nas projeções craniocaudal e mediolateral dos membros operados no pós-operatório imediato e com 15, 30 e 60 dias de pós-operatório, visando acompanhar o processo de reparação óssea.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o exame minucioso, e informações como idade do paciente, animal politraumatizado, tipos e localizações das fraturas, disponibilidade do tutor como capacidade de realizar os cuidados no pós-operatório, foi tomada a decisão para utilizar o cimento ósseo de brushita para este caso clínico, pois animal politraumatizado requer fixação estável por um período mais longo e fraturas diafisárias distais de rádio e ulna e de tíbia e fíbula apresentam-se com pouco envelope de tecido moles para favorecer no suporte sanguíneo (JOHNSON, 2014).

Para estabilização da fratura oblíqua curta do osso rádio e ulna utilizou-se uma placa com função compressiva. Segundo Brinker *et al.*, (2009), o uso de placas e parafusos no tratamento de fraturas transversais diafisárias é eficaz, obtendo-se prognóstico favorável para cães e gatos.

O procedimento cirúrgico para redução da fratura de Salter Harris tipo II direita e estabilização da fratura dos ossos da tíbia e fíbula esquerda foram realizadas com dificuldades por serem tratadas após 15 dias da lesão. O trauma ortopédico resulta em contrações musculares dificultando o realinhamento dos fragmentos ósseos.

O cimento ósseo de brushita de 1 cm de diâmetro e 0,5 cm de circunferência foi adicionado cranial e caudal na diáfise tibial ao local da falha óssea cominutiva, a seleção de diâmetro e comprimento do biomaterial é feita de acordo com a disponibilidade óssea no local receptor (Matsui, 2007). Esse tamanho foi suficiente para preencher a falha óssea e observou-se no período pós-operatório e através de radiografias que não houve comprometimento do comprimento do membro. Biomateriais de enchimento como os cimentos ósseos de brushita são utilizados na reparação óssea e apresenta suas propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e

propriedades osteogênicas (Hughes, 2015) importantes para um animal politraumatizado.

Para estabilização da fratura Salter Harris tipo II foi preconizado a técnica cirúrgica descrita por Fossum (2014) com colocação de dois pinos cruzados no canal medular. No caso clínico descrito consideramos a necessidade de adicionar mais 3 pinos para melhorar a estabilização dos fragmentos, pois o membro contraletal também estava comprometido.

Durante a avaliação clínica pós-operatória de dez dias no MTE, MPE e MPD notou-se presença de deambulação, alinhamento dos membros, apoio no solo, cicatrização das feridas cirúrgicas, ausência de deiscência de sutura e de infecção das feridas. No MPE observou-se a partir do quarto dia a presença de edema e drenagem cranial a ferida cirúrgica, porém sem interferir com a cicatrização e demais avaliações físicas deste membro.

Apesar disso, os resultados foram de acordo com os achados de Paretsis (2017) a qual avaliou biomateriais em tíbias de ovinos e não houve nenhum comportamento anormal ou impotência funcional dos membros. O animal apresentou evolução clínica satisfatória, não se observando quaisquer sinais de infecção, dor ou complicação, ocorrendo cicatrização por primeira intenção nas feridas cirúrgicas, justificada pela rigorosa assepsia e técnica cirúrgica adequada durante o procedimento, em conjunto com uma antibioticoterapia e manejo da dor adequado, as mesmas observações foram encontradas por Azevedo (2013) que avaliou diferentes proporções de fosfato de cálcio na regeneração do tecido ósseo de coelhos.

O edema e secreção ocorreram no MPE caracterizando um processo inflamatório em consequência da presença do cimento ósseo de brushita. De acordo com Abbas *et al.* (2008) tais eventos são respostas do organismo a estímulo não infeccioso como a implantação do biomaterial no local. Segundo Baldwin *et al.* (2008) os tipos e níveis de citocinas ao redor do biomaterial podem iniciar reações inflamatórias agudas e crônicas e mais tarde iniciar o processo de reparo dos tecidos que receberam esse implante. Compreender essa resposta do organismo é importante pois o sistema imune e a inflamação estão inter-relacionadas, isso é essencial para avaliar a biocompatibilidade do biomaterial, gerando maior previsibilidade após o procedimento de implantação. É através da resposta inflamatória que os tecidos vivos reagem contra as agressões do ato

cirúrgico para implantação e evolução da interação entre os tecidos com um corpo estranho, no caso o biomaterial.

Na avaliação radiográfica imediata dos ossos rádio e ulna esquerdo, dos ossos da tíbia e fíbula esquerda e da articulação do joelho direito constatou-se bom alinhamento de eixo ósseo fixados as placas ósseas adjacentes e pinos no canal medular. Na tíbia e fíbula esquerda foi observado presença de linha radioluscente em foco de fratura, e a presença do biomaterial brushita radiopaco de 1cm preenchendo o defeito ósseo em região diafisária.

Observou-se em 15 dias de pós-operatório dos ossos rádio e ulna direita ausência de neoformação óssea, e nos ossos da tíbia e fíbula verificou-se reação periosteal proliferativa adjacente ao foco de fratura, fechamento parcial da linha de fratura com aumento de radiopacidade no local de implantação do cimento ósseo de brushita cujo ainda não foi totalmente absorvido pelo organismo iniciando neoformação óssea (Fig. 3).

Na fratura Salter Harris tipo II direita observou-se na radiografia de 15 dias a migração de dois pinos (Fig.4). A micromovimentação na interface pino-osso originando-se do alto esforço fisiológico pode fazer os pinos afrouxarem rapidamente (Fossum, 2014). Foi recomendado atividade restrita ao animal, porém cães machos em virtudes de serem jovens e ativos tendem a ter tal complicação.



Figura 3 - Radiografias de pós-operatório de 15 dias. Em A, na projeção CC observa-se em tíbia e fíbula esquerda fechamento parcial da linha de fratura com aumento de radiopacidade no local de implantação do cimento de brushita. Em B, na projeção ML

de rádio e ulna esquerda observa-se ausência de neoformação óssea. Em C, na projeção CC de fêmur distal, migração dos pinos cruzados.

Constatamos na radiografia de 30 dias de pós-operatório nos ossos do rádio e ulna ausência de consolidação óssea, faixa de esclerose endosteal e reação periosteal no local de implantação da placa ortopédica, nos ossos da tíbia e fíbula esquerda presença de evidente formação óssea, remodelação da reação periosteal com neoformação óssea e fechamento total da falha óssea, na fratura Salter Harris tipo II direita observou-se migração dos dois pinos e presença de formação óssea.

Na avaliação radiográfica de 60 dias de pós-operatório observou-se nos ossos de rádio e ulna esquerda reação periosteal com remodelamento ósseo no foco de fratura, nos ossos de tíbia e fíbula esquerda constava fechamento total da falha óssea e remodelamento (Fig. 4), na fratura Salter Harris tipo 2 direita continuava a migração dos pinos e consolidação do foco de fratura.



Figura 4 - Radiografias de 60 dias de pós-operatório. Em A e B nas projeções ML e CC de tíbia e fíbula esquerda, nota-se o fechamento total da falha óssea. Em C na projeção CC de rádio e ulna esquerda observa-se reação periosteal com remodelamento ósseo em foco de fratura.

Os exames radiográficos aos 15 dias de pós-operatório mostrou que a consolidação da fratura estava em estágio avançado com maior tendência para o restabelecimento de corticais nos ossos de tíbia e fíbula esquerda. Aos 30 dias de pós-cirúrgico, havia ausência de linha de fratura, presença de calo ósseo e ponte óssea mais evidente e aos 60 dias havia total consolidação e restabelecimento em decorrência do preenchimento e do favorecimento do cimento ósseo de brushita.

Aos 60 dias de pós-operatório houve evolução radiográfica da cicatrização da fratura Salter Harris tipo II direita ocorrendo consolidação total. As fraturas ocasionadas em regiões trabeculares as epífises cicatrizam mais rapidamente por apresentar maior área de superfície de contato entre as extremidade da fratura (Fossum, 2014).

No rádio e ulna esquerda apresentou sinais radiográficos de cicatrização a partir dos 60 dias. Neste tipo de fratura, embora seja classificada como “simples”, a ocorrência de não-uniões é comum, devido a subestimação das forças biomecânicas que atuam sobre o foco da fratura. As principais forças que atuam são a rotação e compressão, podendo haver sobrecarga de forças biomecânicas sobre os implantes metálicos comprometendo sua fixação. No presente caso clínico apesar do retardo da cicatrização não foram identificadas essas complicações, visto que foram respeitados os princípios básicos de fixação de placas, sendo transfixadas 8 corticais em cada segmento fraturado (4 parafusos bicorticais). Para fraturas transversais, o uso de parafusos abrangendo 6 a 8 corticais é o suficiente para estabilizar a fratura, fornecendo fixação rígida e gerando condições para consolidação óssea adequada.

Neste caso decidiu-se analisar a consolidação óssea através da avaliação radiológica, já que Imaguti *et al.* (1995) demonstraram que o acompanhamento radiológico possui uma confiabilidade muito grande na evolução da reparação óssea, quando comparado com resultados post mortem e histológicos.

CONCLUSÃO

O cimento ósseo de brushita favoreceu a consolidação óssea da fratura de tíbia e fíbula com rápida evolução e não causou reações adversas significativas.

REFERÊNCIA

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.K. Imunologia celular e molecular. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

AZEVEDO A. S., SÁ, M.J.C., LIA FOOK M.V. et al. Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos. Estudo histológico e morfométrico. *Ciência Rural*, v.43, n.7, p.1265-1270, 2013.

BALDWIN, L.; HUNT, J.A. The in vivo cytokine release profile following implantation. *Cytokine*, v. 41, n.3, p.217-222, 2008.

BRINKER W.O.; PIERMATTEI D.L. & FLO G.L. Fraturas e condições ortopédicas do membro pélvico. In: Ortopedia e Tratamento de Fraturas de Pequenos Animais. 4.ed. Barueri: Manole, 2009, p.491-814.

CHEN, K.Y.; SHYU, P.C; DONG, G.C; *et al.* Reconstruction of calvarial defect using a tricalcium phosphate-oligomeric proanthocyanidins cross-linked gelatin composite. *Biomaterials*, v.30, n.9, p.1682-1688, 2009

DIMITRIOU, R.; MATALIOTAKIS, G.I; ANGOULES, A.G. *et al.* Complications following autologous bone graft harvesting from the iliac crest and using the RIA: A systematic review. *Injury*, v.42, p. 3-15, 2011.

HANDA, T.; ANADA T.; HONDA, Y.; *et al.* The effect of an octacalcium phosphate co-precipitated gelatin composite on the repair of critical-sized rat calvarial defects. *Acta Biomaterialia*, v. 8, p. 1190-1200, 2012.

HUGHES, E.; YANNI, T.; JAMSHIDI, P.; & GROVER, L. M. Inorganic cements for biomedical application: calcium phosphate, calcium sulphate and calcium silicate. *Advances in Applied Ceramics*. v.114, n.2, p.65–76, 2015.

IAMAGUTI, P.; INEO, A.P.; DEL CARLO, R.J. *et al.* Uso de auto-enxerto ósseo esponjoso na reparação do rádio. Estudo experimental em coelhos. *Veterinária e Zootecnia*, v. 7, p. 49-61, 1995.

JIANG, Z.Q.; LIU, H.Y.; ZHANG, L.P.; *et al.* Repair of calvarial defect in rabbits with platelet-rich plasma as the scaffold for carrying bone marrow stromal cell. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol*, v. 113, p. 327-333, 2012.

JOHNSON, A. L. Tratamento de Fraturas Específicas. In: FOSSUM, T.W. *Cirurgia de Pequenos Animais*. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014, p.1140-1201.

MATSUI, Y.; OHNO, K.; NISHIMURA, A.; *et al.* Long-term study of dental implants placed into alveolar cleft sites. *Cleft Palate Craniofac J*. v.44(4), p.444-44, 2007.

PARETSIS, N.F.; ARANA-CHAVEZ, V.E.; CORREA, L.; *et al.* Avaliação histológica e histomorfométrica da regeneração óssea a partir da utilização de biomateriais em tíbias de ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(12), p.1537–1544, 2017.

SLATTER, Douglas. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*, ed. Barueri, SP: MANOLE, 2007. p.1785.

THEISS, F.;APELT, D.; BRAND, B.; *et al.* Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials*. v. 26(21), p.4383-94, 2005.

WAN, D.C.; NACAMULI, R.P.; LONGAKER, M.T. Craniofacial Bone Tissue Engineering. Dent. Clin. N. Am., v.50, n.2, p.175-190, 2006.

CONCLUSÕES GERAIS

O cimento ósseo de brushita:

- Foi gradativamente reabsorvido nos períodos avaliados;
- Promoveu osteocondução e osteointegração;
- Apresentou características desejáveis para a regeneração óssea em coelhos e no cão, entretanto são necessárias mais estudos com o uso deste tipo de implante associado a anti-inflamatórios para tentar eliminar a reação inflamatória;
- Favoreceu a consolidação óssea mais rápida.

Anexos

NORMAS DA REVISTA ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Política Editorial

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 <<http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>>. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no endereço www.scielo.br/abmvz.

Orientações Gerais

- Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação online do Scielo – ScholarOne, no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo> sendo necessário o cadastramento no mesmo.
- Leia "PASSO A PASSO – SISTEMA DE SUBMISSÃO DE ARTIGOS POR INTERMÉDIO DO SCHOLARONE"
- Toda a comunicação entre os diversos autores do processo de avaliação e de publicação (autores, revisores e editores) será feita apenas de forma eletrônica pelo Sistema, sendo que o autor responsável pelo artigo será informado automaticamente por e-mail sobre qualquer mudança de status do mesmo.
- Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridos no texto e quando solicitados pela equipe de editoração também devem ser enviados, em separado, em arquivo com extensão JPG, em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido em “Figure or Image” (Step 2).
- 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 texto submetido.
- O **ABMVZ** comunicará a cada um dos inscitos, por meio de correspondência eletrônica, a participação no artigo. Caso um dos produtores do texto não

concorde em participar como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

Comitê de Ética

É indispensável anexar cópia, em arquivo PDF, do Certificado de Aprovação do Projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. O documento deve ser anexado em “Ethics Conmittee” (Step 2). Esclarecemos que o número do Certificado de Aprovação do Projeto deve ser mencionado no campo Material e Métodos.

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 Afiliação (somente na "Title Page" – Step 2), 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, figuras e Referências. 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 Afiliação (somente na "Title Page" - Step 2), Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências. O número de páginas não deve exceder a dez, 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.

Formatação do texto

O texto **NÃO** deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo, deve ser apresentado em arquivo Microsoft Word e anexado como “Main Document” (Step 2), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte Times New Roman, no tamanho 12 e no espaçamento de entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), **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 50 palavras.

Autores e Filiação: Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com o número do ORCID e com identificação da instituição a qual pertencem. O autor e o seu e-mail para correspondência devem ser indicados com asterisco somente no “Title Page” (Step 6), em arquivo Word.

Resumo e Abstract: Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação completa.

Palavras-chave e Keywords: No máximo cinco e no mínimo duas*.
* na submissão usar somente o Keyword (Step 3) e no corpo do artigo constar tanto keyword (inglês) quanto palavra-chave (português), independente do idioma em que o artigo for submetido.

Introdução: Explicação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, o suficiente 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. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados **deverão constar obrigatoriamente o número do Certificado de Aprovação do CEUA**. (verificar o Item Comitê de Ética).

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. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto, a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando referir-se a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

Figura. Compreende 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 ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

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.

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 uma das partes).

Conclusões: As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

Agradecimentos: Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

Referências: As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ, conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

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 faz 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 quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três 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 quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três 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 quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três 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.

Taxas de submissão e de publicação

- **Taxa de submissão:** A taxa de submissão de R\$60,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico do Conveniar <http://conveniar.fepmvz.com.br/eventos/#servicos> (necessário preencher cadastro). Somente artigos com taxa paga de submissão serão avaliados.
Caso a taxa não seja quitada em até 30 dias será considerado como desistência do autor.
- **Taxa de publicação:** A taxa de publicação de R\$150,00 por página, por ocasião da prova final do artigo. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de boleto bancário, cujos dados serão fornecidos na aprovação do artigo.
OBS.: Quando os dados para a nota fiscal forem diferentes dos dados do autor de contato deve ser enviado um e-mail para abmvz.artigo@abmvz.org.br comunicando tal necessidade.

SOMENTE PARA ARTIGOS INTERNACIONAIS

Submission and Publication fee. The publication fee is of US\$ 50.00 (fifty dollars) per page, and US\$ 50,00 (fifty dollars) for manuscript submission and will be billed to the corresponding author at the final proof of the article. The publication fee must be paid through a bank slip issued by the electronic article

submission system. When requesting the bank slip the author will inform the data to be intle invoice issuance.

Recursos e diligências

- No caso de o autor encaminhar resposta às diligências solicitadas pelo ABMVZ ou documento de recurso o mesmo deverá ser anexado em arquivo Word, no item “Justification” (Step 2), e também enviado por e-mail, aos cuidados do Comitê Editorial, para abmvz.artigo@abmvz.org.br. No caso de artigo não aceito, se o autor julgar pertinente encaminhar recurso o mesmo deve ser feito pelo e-mail abmvz.artigo@abmvz.org.br.

03/03/2020

ScholarOne Manuscripts

 Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Início

 Autor

Confirmação da submissão

 imprimir

Obrigado pela sua submissão

Submetido para

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

ID do manuscrito

ABMVZ-2020-11954

Título

Evaluation of bone regeneration after bone orifice in rabbits proximal tibia using brush-based bone cement

Autoresde França Silva Azevedo, Ana
Morúa, Otto
Felipe, Gracineide
da Silva, Jefferson
de Sá, Marcelo Jorge**Data da submissão**

03-mar-2020

Painel do autor

03/03/2020

ScholarOne Manuscripts

 Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Início

 Autor

Confirmação da submissão

 imprimir

Obrigado pela sua submissão

Submetido para

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

ID do manuscrito

ABMVZ-2020-11955

Título

USE OF BRUSHITE BONE CEMENT IN DOG TIBIA OSTEOSYNTHESIS

Autoresde França Silva Azevedo, Ana
Figueira, Fabricia
de Almeida, Thais
Anastasio Quirino, Virginia
de Sá, Marcelo Jorge**Data da submissão**

03-mar-2020

Painel do autor