



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

MONIQUE SILVA AVELINO

**Avaliação radiográfica e histológica da reparação óssea em tíbia de coelhos
utilizando implantes de silicato de cálcio.**

PATOS-PB

2018



MONIQUE SILVA AVELINO

**Avaliação radiográfica e histológica da reparação óssea em tibia de coelhos
utilizando implantes de silicato de cálcio.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande - UFCA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá

Patos, PB

2018

A948a Avelino, Monique Silva

Avaliação radiográfica e histológica da reparação óssea em tibia de coelhos utilizando implantes de silicato de cálcio / Monique Silva Avelino. – Patos, 2018.

48f.: il.; color.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2018.

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

Referências.

1. Biomateriais. 2. Biocerâmicas. 3. Osso. 4. Regeneração. I. Título.

CDU 616:636.92

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

MONIQUE SILVA AVELINO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

AVALIAÇÃO EM ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá

(Orientador)

(Examinador)

DEDICO

Á minha mãe Valdecy Maria da Silva, que sempre me incentivou e me ensinou a ser quem sou hoje. Muito obrigada, amo você.

AGRADECIMENTOS

Ao criador de tudo, Deus, por não me fazer fraquejar quando todos diziam ser impossível, me dando sabedoria e força para continuar.

Á minha querida mãezinha, que tanto me ajudou e me incentivou a estudar sempre. Pelo seu exemplo de pessoa, que hoje chego a esta etapa final. Obrigada!

Ao meu pai que mesmo com pouco estudo é uma pessoa exemplar e tanto se orgulha do caminho que seguiu. Devo isso em grande parte ao senhor.

A minha querida amiga Millena Oliveira Firmino, pela ajuda valiosa em análises desse projeto e pela dedicação de sempre. Obrigada Nega!

A minha irmã e meus Sobrinhos: Davi, Théo e Lis meus tesouros que mesmo tão pequenos entenderam a ausência da titia aqui. Desculpa meus bebês pelo tempo que me ausentei, serão compensados agora. Amo vocês.

Ao meu querido companheiro Diego Nathan que sempre me ajudou, entendeu meus motivos e sempre esteve comigo. Obrigada amor. A caminhada foi mais leve contigo.

Ao meu orientador, Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá pela oportunidade, aprendizado e orientações nessa jornada.

Ao Professor de Patologia Animal Valdemiro Júnior da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelas excelentes horas de aprendizado e paciência neste estudo. Agradeço de coração suas colocações e análises. Foram parte fundamental no desenvolvimento dessa dissertação.

Aos queridos alunos da graduação: Peterson, Jardel, Robério e os demais: Obrigada. Vocês foram a alma desse projeto. Sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus queridos Ângela Imperiano, Vinicius Mendes e José Ferreira Neto, e Anna Clara França meus antigos companheiros de curso e companheiros de uma vida toda.

Ao querido Tales Gil de França ,*in memoriam*, por teres sido um excelente amigo. Na sua terra meu caro é que conquistei esta vitória. Eternas saudades.

Ao Professor Pedro Isidro da Nóbrega Neto pelos ensinamentos e orientação quando precisei. És uma pessoa excepcional!

Aos animais utilizados neste estudo que através de suas vidas curtas contribuíram para a evolução da ciência.

Ao querido Willians, Rosseberg e Daniel pelas orientações, ajudas, e tempo dedicado para que esse estudo ganhasse forma .

Aos meus cães: Sansão, Zion, Malú, Rafinha e Amora que me alegram e me compreendem com o olhar quando a situação não está fácil. Estarão sempre comigo. Amo vocês.

A todos os profissionais do Hospital Veterinário e do Certbio que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao secretário da pós-graduação Jonas, por toda paciência e competência.

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

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

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

RESUMO

Esta dissertação é composta por dois capítulos. No primeiro objetivou-se realizar uma revisão sistemática de estudos clínicos com a utilização de biocerâmicas na reparação de tecido ósseo em diferentes espécies animais. Para a realização desta revisão foi empregada uma ampla pesquisa online de artigos publicados e indexados nas bases eletrônicas PubMed, Scielo e LILACS. Procurou-se reunir todos os estudos disponíveis, publicados no máximo há 10 anos, os quais foram utilizados implantes a base de biocerâmicas para reparação óssea. Foram adotados critérios de inclusão e exclusão. Trinta e cinco estudos compuseram o presente trabalho. Observou-se uma quantidade considerável de estudos que atenderam aos critérios de inclusão, evidenciando o interesse de diversos pesquisadores em desenvolver formulações de biocerâmicas que promovam a reparação óssea e apresentem características de biocompatibilidade e aplicabilidade, as quais são propriedades determinantes para recomendação de um biomaterial. As biocerâmicas são amplamente estudadas, isso se deve as suas excepcionais propriedades mecânicas e bioquímicas. A utilização de diferentes associações de biocerâmicas para criação de implantes com alta aplicabilidade e variadas funções, parece ser uma tendência cada vez maior. No segundo capítulo objetivou-se avaliar a utilização de implante a base de silicato de cálcio na reparação de tíbias de coelhos. Foram utilizados 12 coelhos de ambos os gêneros, da linhagem Nova Zelândia, pesando em média 3 kg. Os animais foram divididos ao acaso em dois grupos. Os animais que compuseram o grupo 1 foram submetidos a eutanásia aos 30 dias de estudo. Os animais do grupo 2 foram eutanasiados após 60 dias de estudo. Foram realizados orifícios em ambas as metáfises proximal e distal das tíbias de cada animal, esses orifícios foram preenchidos com implante a base de silicato de cálcio no membro direito e não receberam nenhum implante na tibia esquerda. Os animais foram submetidos a avaliações clínico-radiográficas e as amostras submetidas a microscopia de luz e eletrônica de varredura. O implante a base de silicato de cálcio propiciou o crescimento ósseo, caracterizado pelo aumento progressivo da radiopacidade observada durante as avaliações radiográficas. Os achados histológicos demonstraram gradual degradação dos implantes e neoformação óssea. Concluiu-se que o enxerto de silicato de cálcio estimulou o início do processo da reparação óssea em coelhos.

Palavras chaves: Biomateriais; Biocerâmicas; Coelhos; Osso; Regeneração.

ABSTRACT

This dissertation is composed of two chapters. The first objective was to carry out a systematic review of clinical studies with the use of bioceramics in the repair of bone tissue in different animal species. For the accomplishment of this review an extensive online search of articles published and indexed in the electronic databases PubMed, Scielo and LILACS was employed. We sought to gather all the available studies, published a maximum of 10 years ago, which used bioceramic implants for bone repair. Inclusion and exclusion criteria were adopted. Thirty-five studies composed the present study. A considerable number of studies were carried out that met the inclusion criteria, evidencing the interest of several researchers in developing formulations of bioceramics that promote bone repair and have characteristics of biocompatibility and applicability, which are determinant properties for the recommendation of a biomaterial. Bioceramics are widely studied, due to their exceptional mechanical and biochemical properties. The use of different associations of bioceramics to create implants with high applicability and varied functions seems to be an increasing trend. In the second chapter, the objective of this study was to evaluate the use of a calcium silicate-based implant in the repair of rabbit tibiae. Twelve rabbits of both genders, of the New Zealand strain, weighing an average of 3 kg were used. The animals were randomly divided into two groups. The animals that composed group 1 underwent euthanasia at 30 days of study. The animals in group 2 were euthanized after 60 days of study. Orifices were made at both the proximal and distal metaphyses of the tibiae of each animal, these holes were filled with a calcium silicate-based implant in the straight limb and received no implants in the left tibia. The animals were submitted to clinical-radiographic evaluations and the samples were submitted to light microscopy and scanning electron microscopy. The calcium silicate implant provided bone growth characterized by the progressive increase of the radiopacity observed during radiographic evaluations. The histological findings showed a gradual degradation of the implants and new bone formation. It was concluded that the calcium silicate graft stimulated the beginning of the process of bone repair in rabbits.

Keywords: Biomaterials; Bioceramics; Rabbits; Bone; Regeneration.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
LISTA DE TABELAS	4
LISTA DE FIGURAS	5
1. INTRODUÇÃO GERAL	7
2. REFERÊNCIAS	8
3. CAPÍTULO I:	
UTILIZAÇÃO DE BIOCERÂMICAS NA REPARAÇÃO ÓSSEA: PANORAMA ATUAL E PERSPECTIVAS FUTURAS COM BASE EM REVISÃO SISTEMÁTICA.	9
Utilização de biocerâmicas na reparação óssea: Panorama atual e perspectivas futuras com base em revisão sistemática.	10
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	10
INTRODUÇÃO	11
MATERIAL E MÉTODOS	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
CONCLUSÃO	16
AGRADECIMENTOS:	16
REFERÊNCIAS.....	16
NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIÊNCIA RURAL.....	24
4. CAPÍTULO II:	
AVALIAÇÃO DO USO DE IMPLANTE A BASE DE SILICATO DE CÁLCIO NA REPARAÇÃO ÓSSEA DE COELHOS	29
Avaliação do uso de implante a base de silicato de cálcio na reparação óssea de coelhos. .	30
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	30
INTRODUÇÃO	31
MATERIAL E MÉTODOS	32
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
CONCLUSÃO	36
AGRADECIMENTOS	36
REFERÊNCIAS.....	36
NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIÊNCIA RURAL.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Informações sumarizadas dos estudos incluídos na revisão sistemática.....**21**

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1: Gráfico - Quantidade de estudos publicados por ano nos últimos 10 anos.....**23**

Figura 2: Gráfico - Percentual de biocerâmica relatada por experimento.....**23**

Capítulo II

Figura 1: Radiografia da tíbia de coelhos submetidos a implante de silicato de cálcio. Pós-cirúrgico imediato. Observar áreas de implantes na região metafisária distal e proximal (setas amarelas). Fonte: Hospital Universitário Veterinário Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2017.....**39**

Figura 2: Radiografia da tíbia de coelhos submetidos a implante de silicato de cálcio com 30 dias após o implante. Observar área radioluscente envolvendo a cortical na área proximal e distal no local implantado (setas laranjas), ausência de proliferação osteocítica, ausência de sinais sugestivos de processo inflamatório, tecidos moles preservados. Fonte: Hospital Universitário Veterinário Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2017.....**40**

Figura 3: Radiografia da tíbia de coelhos submetidos a implante de silicato de cálcio com 60 dias após o implante. Observar ausência de halo radioluscente em locais dos implantes (setas vermelhas), corticais preservadas, radiopacidade de tecidos moles e corticais preservadas. Fonte: Hospital Universitário Veterinário Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2017.....**41**

Figura 4: Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio **(A)** Observa-se área focal de remodelação óssea do osso compacto **(R)**, presença de moderado material fibrilar, irregular, eosinofílico provavelmente implante de silicato de cálcio utilizado **(i)** e proliferação de matriz óssea **(*)**. HE. 200µm. **(B)** Observa-se área de descontinuidade do osso compacto associado a material fibrilar, irregular e eosinofílico (implante), **(i)** e proliferação de matriz óssea **(*)**. HE. 200µm. **(C)** Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio. Observa-se em detalhes múltiplos osteoblastos circundando o tecido ósseo neoformado (setas), além do implante de silicato de cálcio utilizado **(i)** e matriz óssea proliferada **(*)**. HE. 50µm. **(D)** Observa-se em meio a

proliferação de matriz óssea (*) a presença de múltiplos osteoclastos (seta). HE. 20µm. Fonte: UFPB, 2017.....42

Figura 5 - Implante de silicato de cálcio em tibias de coelhos. Imagem de microscopia de varredura aos 60 dias(**A**) . Observa-se a variação da coloração onde a área cinza mais claro (seta preta) mostra o tecido ósseo antigo e a área cinza mais escuro (seta vermelha) mostra tecido ósseo neoformado circundando o implante (seta amarela). Ao lado, a mesma amostra submetida a microroscopia de varredura aos 30 dias(**B**). Observa-se o implante (seta preta) e area generalizada com tonalidade cinza mais claro. Aumento de 300x. **Fonte:** CERTBIO 2017.....43

1. INTRODUÇÃO GERAL

As biocerâmicas baseadas em fosfatos de cálcio vêm sendo usadas com sucesso por mais de 30 anos em procedimentos de reparação óssea nas especialidades de traumatologia, odontologia e cirurgia maxilo-facial. As principais causas de seu sucesso são biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade (HENCH, 1991).

Apesar de serem bem aceitas pelos profissionais, as biocerâmicas de fosfatos de cálcio apresentam algumas desvantagens; por exemplo, a taxa de bioreabsorção é muito baixa e elas permanecem sem degradar por vários anos após sua implantação, fazendo com que as propriedades mecânicas e biológicas do local regenerado sejam diferentes daquelas do osso normal sadio (DOROZHKIN, 2007).

A literatura relacionada à ortopedia cita diversos métodos alternativos de estimulação do reparo ósseo. Eles foram desenvolvidos objetivando acelerar o processo de consolidação de fraturas recentes e tratamento de problemas de união óssea e pseudoartrose (MAYR et al., 2000), além de reduzirem o tempo de recuperação, garantindo retorno precoce da função do membro, e também diminuir seu custo (CROCI et al., 2003). No caso das fraturas ósseas, eles possuem a função de estimular uma consolidação precoce ou ainda minimizar danos ou atrasos na consolidação que poderiam ocorrer devido a traumas excessivos de manipulação durante o procedimento cirúrgico (MORAES, 2006).

Na Medicina Veterinária estas necessidades se tornam maiores pela dificuldade de se conseguir repouso adequado dos pacientes e, dessa forma, impedir a sobrecarga precoce ao osso fraturado (MORAES, 2006).

Segundo Boschi (2003), para que os biomateriais consigam realizar as funções esperadas as quais foram desenvolvidos, precisam possuir pelo menos duas propriedades importantes: a biocompatibilidade e a biofuncionalidade. A primeira é a capacidade de o material responder apropriadamente ao hospedeiro em aplicação específica. A segunda está relacionada ao conjunto de propriedades que dão a determinado dispositivo a capacidade de desempenhar a função desejada semelhante àquela que está substituindo.

Nesse contexto, pesquisas relacionadas à bioengenharia vêm crescendo significativamente, na busca de materiais que facilitem a regeneração óssea em fraturas ou em casos de falhas ósseas decorrentes de não uniões e neoplasias. Apesar do grande número de estudos, ainda não foi descrito um produto ideal para uso isolado (SANTOS 2000).

Diante deste contexto, os experimentos propostos nessa dissertação tiveram como objetivo avaliar a influência do implante a base de silicato de cálcio no processo da reparação óssea de coelhos.

2. REFERÊNCIAS

BOSCHI, A. O. O que é necessário para que um material possa ser considerado um biomaterial? In: Seminário Regional de Biomateriais 1, 2003, Santa Catarina. **Anais**, Santa Catarina: UDESC, 2003. p. 4-16.

CROCI, A.T.; CAMARGO, O.P.; BITAR, G.; PEREIRA, S.L.B.; MOREIRA, M.; FREITAS, S. Efeito do concentrado de plasma em falhas ósseas provocadas em femures de camundongos como estimulação de formação óssea – estudo experimental. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 230-239, 2003.

DOROZHKIN, S.V. Calcium orthophosphates. **Journal of Materials Science**, v. 42, n. 4, p. 1061–1095, 2007.

HENCH, L.L. Bioceramics: from concept to clinic. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 74, p. 1487–1510, 1991.

MAYR, E.; FRANKEL, V.; RUTER, A. Ultrasound – na alternative healing method for nonunions? **Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery**, v. 120, p. 1-8, 2000.

MORAES, P.C. **O uso do ultrassom pulsado de baixa intensidade em falhas ósseas produzidas experimentalmente em coelhos, preenchidas ou não com cimento de fosfato de cálcio**. 2006. 44 f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, S.P., 2006.

SANTOS, L.A. et al. Fiber reinforced calcium phosphate cement. **Artificial Organs**, Painesville, v. 24, n. 3, p. 212-216, 2000.

3. CAPÍTULO I:

UTILIZAÇÃO DE BIOCERÂMICAS NA REPARAÇÃO ÓSSEA: PANORAMA ATUAL E PERSPECTIVAS FUTURAS COM BASE EM REVISÃO SISTEMÁTICA.

Manuscrito submetido à Revista Ciência Rural

Utilização de biocerâmicas na reparação óssea: Panorama atual e perspectivas futuras com base em revisão sistemática.

Use of bioceramics in bone repair: Current outlook and future prospects based on systematic review.

Monique Silva Avelino*¹; Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá¹; Pedro Isidro Nobrega¹; Francisco Alípio de Sousa Segundo¹; Millena de Oliveira Firmino¹;

¹Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Campus de Patos. Rua Natalícia Ramos vieira, 194, jardim paulistano Campina Grande PB, Brasil. E-mail: Monique.avelino@hotmail.com. *Autor para correspondência.

RESUMO

Objetivou-se realizar uma revisão sistemática de estudos clínicos com a utilização de biocerâmicas na reparação de tecido ósseo em diferentes espécies animais. Para a realização desta revisão foi empregada uma ampla pesquisa online de artigos publicados e indexados nas bases eletrônicas PubMed, Scielo e LILACS. Objetivando reunir todos os estudos disponíveis, publicados no máximo a 10 anos, os quais utilizaram implantes a base de biocerâmicas para reparação óssea. Foram adotados critérios de inclusão e exclusão. Trinta e cinco estudos compuseram o presente trabalho. Observou-se uma quantidade considerável de estudos que atenderam aos critérios de inclusão, evidenciando o interesse de diversos pesquisadores em desenvolver formulações de biocerâmicas que promovam a reparação óssea e apresentem características de biocompatibilidade e aplicabilidade, as quais são propriedades determinantes para recomendação de um biomaterial. As biocerâmicas são amplamente estudadas, isso se deve as suas excepcionais propriedades mecânicas e bioquímicas. A utilização de diferentes associações de biocerâmicas para criação de implantes com alta aplicabilidade e variadas funções, parecem ser uma tendência cada vez maior.

Palavras-chaves: Biomateriais; Fosfato de cálcio; Hidroxiapatita; Reparação tecidual;

ABSTRACT

The aim of this study was to conduct a systematic review of clinical studies with the use of bioceramics in the repair of bone tissue in different animal species. For the accomplishment of

this review an extensive online search of articles published and indexed in the electronic databases PubMed, Scielo and LILACS was employed. Aiming to gather all available studies, published a maximum of 10 years, which used implants based on bioceramics for bone repair. Inclusion and exclusion criteria were adopted. Thirty-five studies composed the present study. A considerable number of studies were carried out that met the inclusion criteria, evidencing the interest of several researchers in developing formulations of bioceramics that promote bone repair and have characteristics of biocompatibility and applicability, which are determining properties for biomaterial recommendation. Bioceramics are widely studied, due to their exceptional mechanical and biochemical properties. The use of different associations of bioceramics to create implants with high applicability and varied functions seems to be an increasing trend.

Key-words: Biomaterials; Calcium phosphate; Hydroxyapatite; Tissue repair;

INTRODUÇÃO

A reparação de tecidos especializados como o tecido ósseo pode ser um verdadeiro desafio médico, principalmente em casos onde se tem uma significativa perda tecidual, se fazendo necessário procedimento cirúrgico reconstrutivo. Este objetiva restaurar a arquitetura óssea e conseqüentemente sua funcionalidade, para tal pode-se empregar enxertos naturais ou biomateriais (COSTA NETO et al., 2010).

Os biomateriais podem ser definidos como implantes sintéticos, que, para serem aplicados em meio biológico, precisam apresentar características como biocompatibilidade, nenhuma citotoxicidade e estrutura química e mecânica que favoreça a reparação do sítio tecidual no qual é depositado (SANTANA et al., 2014).

O potencial da utilização de biomateriais na área médica e biomédica é evidente, o que reflete no desenvolvimento de diversas pesquisas que visam avaliar a capacidade de diversos polímeros diferentes como biomateriais que possam reparar diferentes lesões em diferentes tecidos (ALVES et al., 2017).

Novas tecnologias e biomateriais, para auxiliarem nos complexos processos de reparo ósseo, dependem do conhecimento das vias moleculares que cercam a formação óssea, e, em particular, da relação existente entre as células progenitoras e o ambiente específico na qual irão diferenciar-se em suas células de destino, bem como a interação com biomateriais que sejam usados no preenchimento de tais defeitos. Além disso, várias condições podem

influenciar os resultados obtidos quando da utilização destes materiais, como tipo e tamanho do defeito, região a ser tratada, área exposta ou não ao meio bucal e, conforme o enfoque principal deste estudo, as características do material, principalmente de seus grânulos, aplicados de maneira rotineira para os cirurgiões-dentistas que trabalham com regeneração tecidual (AZEVEDO et al., 2010).

Entre os tipos de materiais sintéticos empregados na área médica, as biocerâmicas possuem destaque quando se busca uma reparação de tecido ósseo, esses derivados cerâmicos apresentam uma semelhança química com o tecido ósseo a qual estimula a osteocondução, etapa importante na reparação do osso (AZEVEDO et al., 2012).

O silício desempenha um papel essencial nos eventos metabólicos que conduzem à formação óssea endocondral e intramembranosa (CARLISLE, 1980a, 1980b) e, juntamente com o cálcio e o fósforo, atua na expressão de determinados genes responsáveis por controlar o ciclo celular de osteoblastos humanos e animais, e estimula a produção de novo osso (XYNOS et al., 2001; HENCH, 2003; BIELBY et al., 2005)

A fim de visualizar um panorama atual sobre as principais biocerâmicas que vem sendo relatadas na literatura e estabelecer perspectivas sobre os avanços e futuro desses materiais, objetivou-se realizar uma revisão sistemática de estudos clínicos com a utilização de biocerâmicas na reparação de tecido ósseo em diferentes espécies animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desta revisão foi empregada uma ampla pesquisa online de artigos publicados e indexados nas bases eletrônicas PubMed, Scielo e LILACS. Para a busca foram utilizados os termos em português e inglês: “biocerâmicas”, “fosfatos de cálcio”, “reparação” e “osso”. Objetivando reunir todos os estudos disponíveis, publicados no máximo a 10 anos, os quais utilizaram implantes a base de biocerâmicas para reparação óssea.

Os critérios de inclusão aplicados aos estudos encontrados foram; ser ensaios clínicos randomizados os quais buscassem avaliar o uso implantes a base de fosfatos de cálcio, isolados ou associados, sobre a reparação óssea *in vivo* de animais.

Os critérios de exclusão adotados foram; trabalhos de revisão de literatura, estudos *in vitro*, estudos que utilizaram outros biomateriais que não fosfatos de cálcio, ensaios randomizados em seres humanos e relatos de casos.

Os estudos incluídos tiveram suas informações sumarizadas, compiladas e descritas neste trabalho através de tabelas e gráficos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados seis estudos na base LILACS, 22 estudos na base Scielo e 139 estudos na base Pubmed, totalizando 167 estudos. Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, 35 estudos compuseram o presente trabalho, seus dados sumarizados foram expostos na Tabela 1.

Quantidade e cronologia dos estudos

Observou-se uma quantidade considerável de estudos que atenderam aos critérios de inclusão, evidenciando o interesse de diversos pesquisadores em desenvolver formulações de biocerâmicas que promovam a reparação óssea e apresentem características de biocompatibilidade e aplicabilidade, as quais são propriedades determinantes para recomendação de um biomaterial, tal preocupação é relatada por Cheng et al., (2010), o qual utilizou implante poroso a base de hidroxiapatita e B-Fosfato tricálcico em forma cilíndrica para preencher lacuna óssea produzida em ratos, o implante promoveu estímulo significativo para recuperação óssea.

Esse interesse ainda é observado quando analisamos a quantidade de estudos publicados por ano nos últimos anos (Gráfico 1), sendo visualizada um crescente desenvolvimento de pesquisas principalmente nos anos de 2013 e 2015 quando comparados com os anos de 2009 e 2010. Isso pode ser explicado pela capacidade das biocerâmicas de tratar afecções de difícil resolução, como a própria reparação de tecido ósseo (KAYGILI et al., 2015), como também casos de osteomielite crônica (MISTRY et al., 2016), em ambas situações implantes a base de hidroxiapatita e sulfato de cálcio, respectivamente, obtiveram sucesso no tratamento.

Biocerâmicas

Entre as biocerâmicas mais pesquisadas, a hidroxiapatita e suas variações foram os mais relatados (40% dos experimentos), seguidos de outras biocerâmicas de fosfatos de cálcio e suas variações, relatada em 38% dos experimentos (Gráfico 2). Estes resultados corroboram com Lobo et al., (2009), o qual utilizou implantes a base de hidroxiapatita e B-

fosfato tricálcico para reparo de fêmur em coelhos. O autor ainda relaciona a maior procura por estas duas cerâmicas as suas propriedades mecânicas, biocompatibilidade e taxas de absorção mais previsíveis, se destacando das demais.

Estes materiais são de interesse em aplicações em que não é desejável outra intervenção cirúrgica, tal como na engenharia tecidual, pois estes materiais implantados são absorvidos e transformados naturalmente em um novo tecido ósseo. São materiais com a poli (ε-caprolactona), o beta fosfato tricálcico, o alfa fosfato tricálcico

A hidroxiapatita é a biocerâmica mais relatada na literatura, o que está associado as suas características de reparação tecidual, podendo ser utilizada para reconstrução óssea, tratamento de fraturas, como enxerto ósseo em casos de substituição total de articulação e em não uniões ou uniões retardadas de fraturas (LEE et al., 2014).

O extenso uso da hidroxiapatita na formulação de diferentes implantes é explicado pelo fato dessa biocerâmica ser de fácil aquisição, podendo ser isolada de fontes naturais ou fabricada sinteticamente, este último é a forma mais utilizada para obtenção de hidroxiapatita (NANDI et al., 2015).

O poder de estimular a reparação e neoformação óssea da hidroxiapatita está ligado a sua capacidade osteocondutiva, a qual contribui para os processos de remodelamento e reparo do tecido ósseo na qual foi implantada, possui ainda capacidade de osteointegração, onde o implante consegue se ligar de forma eficiente ao tecido implantado (TAVAKOLI-DARESTANI et al., 2015).

A associação de biomateriais, a outros produtos foi comumente observada, com isso objetiva-se agregar características particulares de cada material ou produto ao implante, como relatado por Lee et al., (2014) que utilizou a hidroxiapatita para melhorar as propriedades mecânicas do implante a base de quitosana para reparação de defeitos ósseos em coelhos.

Os fosfatos de cálcio como o α-fosfato tricálcio e o β-fosfato tricálcio, assim como a hidroxiapatita, são amplamente utilizados em diversas áreas médicas, sua utilização objetiva principalmente o reparo de lesões e defeitos ósseos (GRANDI et al., 2011).

Essas biocerâmicas apresentam excelentes características, semelhança química com o tecido ósseo, material bioativo, ótima biocompatibilidade e capacidade osteoindutora, fazem com que esse material seja bastante utilizado (ARISTIZABAL et al., 2017).

Entre os implantes menos relatados, estão materiais como o whitlockite, o qual se acredita constituir entre 26 a 58% da dentina humana, contribuindo em aproximadamente 20% do tecido ósseo (JANG et al., 2015).

Os poucos relatos sobre sua utilização parecem estar relacionados a dificuldade de síntese, se mostrando um processo complexo e desafiador a ser reproduzido, entretanto, este é um cenário em mudança, uma vez que novas tecnologias que facilitam sua fabricação vem sendo desenvolvidas, o incentivo para isso são ótimos resultados sendo relatados com sua utilização para reparação de tecido ósseo (JANG et al., 2015).

Além de diferentes associações, foi possível observar que diferentes materiais vêm sendo pesquisados, buscando melhores propriedades e ao mesmo tempo, mostrando uma perspectiva futura à implantes a base de novas cerâmicas, como exemplificado por Liu et al., (2013), ao associar fosfato tricálcico e silicato de cálcio. Este último material é pesquisado com menor intensidade quando comparado a cerâmicas como a hidroxiapatita, entretanto, possui grande potencial, como mostrado por Lin et al., (2015), ao utilizar o silicato de cálcio para reparo de defeitos ósseos em coelhos.

A adição de outros produtos, como plasma rico em plaquetas (LOBO et al., 2009) ou a proteína morfogenética óssea recombinante humana (FU et al., 2013), à implantes a base de biocerâmicas, expandem as possibilidades de utilização dos mesmos, adicionando uma função de veículos à administração de medicamentos ou outros produtos, assim como mostrado por Nandi et al., (2015), que utilizou implante a base de hidroxiapatita como veículo de administração de fator de crescimento.

Aplicabilidade e versatilidade das biocerâmicas

Os implantes a base de biocerâmicas basicamente são formulados em forma de pó ou grânulo, o que viabiliza sua aplicação em diversas situações, favorecendo o preenchimento de lacunas e facilitando sua bioabsorção pelo tecido implantado (MA et al., 2016).

A possibilidade de moldar os implantes associado às fortes propriedades mecânicas das biocerâmicas ainda possibilitam a fabricação de implantes projetados para preencher lacunas ósseas de grandes dimensões e suportar em determinadas intensidades, forças mecânicas provenientes da deambulação, diferenciando estes biomateriais dos demais (CHENG et al., 2010).

Essas características são evidenciadas quando percebemos a diversidade de sítios possíveis de aplicação desses implantes, sendo relatados, ossos longos e o crânio (LUO et al., 2012).

CONCLUSÃO

As biocerâmicas são amplamente estudadas, isso se deve as suas propriedades mecânicas e bioquímicas, estimulando assim o desenvolvimento de diferentes formulações de implantes para as mais diversas aplicações. A utilização de diferentes associações de biocerâmicas para criação de implantes com alta aplicabilidade e variadas funções, como a de veículo para substâncias, parecem ser uma tendência cada vez maior.

AGRADECIMENTOS:

À CAPES pela concessão da bolsa;

Aos animais utilizados neste estudo que deram sua vida em prol do desenvolvimento da ciência.

REFERÊNCIAS

- ADEGANI, F.J.; LANGROUDI, L.; ARDESHIRYLAJIMI, A.; DINARVAND, P.; DODEL, M.; DOOSTMOHAMMADI, A.; RAHIMIAN, A.; ZOHRABI, P.; SEYEDJAFARI, E.; SOLEIMANI, M. Coating of electrospun poly(lacti-co-glycolic acid) nanofibers with willemite bioceramic: improvement of bone reconstruction in rat model. *Cell Biology International*, v. 9999, p. 1-9, 2014.
- ALVES, A.P.; SÁ, M.J.C.; FOOK, M.V.L.; FELIPE, G.C.; HENRIQUE, F.V.; ALBUQUERQUE, E.E.; MEDEIROS, L.K.G.; ALEXANDRE, P.R.S. Avaliação biomecânica e dimensional do fio de sutura à base de quitosana. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v. 69, n. 4, p.860-900, 2017.
- AN, J.; LIAO, H.; KUCKO, N.W.; HERBER, R-P.; WOLKE, J.G.C.; VAN DEN BEUCKEN, J.J.J.P.; JANSEN, J.A.; LEEUWENBURGH, S.C.G. Long-term evaluation of the degradation behavior of three apatite-forming calcium phosphate cements. *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, v. 104 A, p. 1072–1081, 2016.
- ARISTIZABAL, O.L.P.; CASTRO, J.A.V.; VARGAS, M.I.V.; REZENDE, C.M.F. Avaliação histológica e por microscopia eletrônica de varredura da biocerâmica de fosfato de cálcio nano-estruturada micromacro porosa em grânulos em defeito crítico de rádio de coelhos, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 69, n. 6, p. 1539-1550, 2017.

AZA, P.N.; LUKLINSKA, Z.B.; VAL, J.E.M.S.; GUIRADO, J.L.C. Biodegradation process of a-tricalcium phosphate and a-tricalcium phosphate solid solution bioceramics *in vivo*: A comparative study. *Microsc. Microanal.*, v. 19, p. 1350-1357, 2013.

AZA, P.N.; VAL, J.E.M.S.; BAUDIN, C.; MARTÍNEZ, C.P.A.; SALTO, A.A.; GUIRADO, J.L.C. Bone neoformation of a novel porous resorbable Si-Ca-P-based ceramic with osteoconductive properties: physical and mechanical characterization, histologic and histomorphometric study. *Clin. Oral Implants Res.*, v. 27, n. 11, p. 1368-1375, 2016.

AZEVEDO, A.S.; SÁ, M.J.C.; FOOK, M.V.L.; NÓBREGA NETO, P.I.; SOUSA, O.B.; AZEVEDO, S.S. Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos. Estudo histológico e morfométrico. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 43, n. 7, p. 1265-1270, jul, 2013.

AZEVEDO, A.S.; SÁ, M.J.C.; FOOK, M.V.L.; NÓBREGA NETO, P.I.; SOUSA, O.B.; AZEVEDO, S.S.; TEIXEIRA, M.W.; COSTA, F.S.; ARAÚJO, A.L. Use of chitosan and B-tricalcium phosphate, alone and in combination, for bone healing in rabbits. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* v. 25, p. 481-486, 2014.

AZEVEDO, A.S.; SÁ, M.J.C.; NÓBREGA NETO, P.I.; FOOK, M.V.L.; PORTELA, R.A.; AZEVEDO, S.S. Avaliação de diferentes proporções de fosfato de cálcio na regeneração do tecido ósseo de coelhos: estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 49, p.12-18, 2012.

CHEN, Z.; WU, C.; YUEN, J.; KLEIN, T.; CRAWFORD, R.; XIAO, Y. Influence of osteocytes in the *in vitro* and *in vivo* B-tricalcium phosphate-stimulated osteogenesis. *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, v. 102, p. 2813-2823, 2014.

CHENG, L.; YE, F.; YANG, R.; LU, X.; SHI, Y.; LI, L.; FAN, H.; BU. Osteoinduction of hydroxyapatite-B-tricalcium phosphate bioceramics in mice with a fractured fibula. *Acta Biomaterialia*. v. 6, p. 1569-1574, 2010.

COSTA NETO, J.M.; TEIXEIRA, R.G.; SÁ, M.J.C., LIMA, A.E.; JACINTO-ARAGÃO, G.S.; TEIXEIRA, M.W.; MARTINS FILHO, E.F.; TORÍBIO, J.M.M.L.; AZEVEDO, A.S. Farinha de algas marinhas ("*Lithothamnium calcareum*") como suplemento mineral na cicatrização óssea de autoenxerto cortical em cães. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, v. 11, n. 1, p. 217-230, 2010.

CUNHA, M.R.; MENEZES, F.A.; SANTOS, G.R.; PINTO, C.A.L.; BARRAVIERA, B.; MARTINS, V.C.A.; PLEPIS, A.M.G.; FERREIRA JUNIOR, R.S. Hydroxyapatite and a new

- fibrina sealant derived from snake venom as scaffold to treatment of cranial defects in rats. *Materials Research*, v. 18, n. 1, p. 196-203, 2015.
- FU, T.C.; CHEN, C.H.; WANG, C.Z.; WANG, Y.H.; CHANG, J.K.; WANG, G.J.; HO, M.L.; WANG, C.K. Preparation of porous bioceramics using reverse thermo-responsive hydrogels in combination with rhBMP-2 carriers: *In vitro* and *in vivo* evaluation. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 27, p. 64-76, 2013.
- GRANDI, G.; HEITZ, C.; SANTOS, L.A.; SILVA, M.L.; SANT'ANA FILHO, M.; PAGNOCELLI, M.; SILVA, D.N. Comparative histomorphometric analysis between a-tcp cement and b-tcp-ha granules in the bone repair of rat calvaria. *Materials Research*, v. 14, n. 1, p. 11-16, 2011.
- HUANG, Y.; JIN, X.; ZHANG, X.; SUN, H.; TU, J.; TANG, T.; CHANG, J.; DAI, K. *In vitro* and *in vivo* evaluation of akermanite bioceramics for bone regeneration. *Biomaterials*, v. 30, p. 5041-5048, 2009.
- JANG, H.L.; ZHENG, G.B.; PARK, J.; KIM, H.D.; BAEK, H.R.; LEE, H.K.; LEE, K.; HAN, H.N.; LEE, C.K.; HWANG, N.S.; LEE, J.H.; NAM, K.T. *In vitro* and *in vivo* evaluation of whitlockite biocompatibility: comparative study with hydroxyapatite and B-tricalcium phosphate. *Advanced Healthcare Materials*. v. 5, p. 128-136, 2016.
- KAYGILI, O.; KESER, S.; KOM, M.; EROKSUZ, Y.; DOROZHKIN, S.V.; ATES, T.; OZERCCAN, I.H.; TATAR, C.; YAKUPHANOGLU, F. Strontium substituted hydroxyapatites: Synthesis and determination of their structural properties, *in vitro* and *in vivo* performance. *Materials Science and Engineering C*, v. 55, p. 538-546, 2015.
- LEE, H.R.; KIM, H.J.; KO, J.S.; CHOI, Y.S.; AHN, M.W.; KIM, S.; DO, S.H. Comparative characteristics of porous bioceramics for an osteogenic response *in vitro* and *in vivo*. *Plos one*. v. 8, n. 12, 2013.
- LEE, J.S.; BAEK, S.D.; VENKATESAN, J.; BHATNAGAR, I.; CHANG, H.K.; KIM, H.T.; KIM, S.K. *In vivo* study of chitosan-natural nano hydroxyapatite scaffolds for bone tissue regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 67, p. 360-366, 2014.
- LIN, K.; LIU, Y.; HUANG, H.; CHEN, L.; WANG, Z.; CHANG, J. Degradation and silicon excretion of the calcium silicate bioactive ceramics during bone regeneration using rabbit femur defect model. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* v. 26, 2015.
- LIU, A.; SUN, M.; YANG, X.; MA, C.; LIU, Y.; YANG, X.; YAN, S.; GOU, Z. Three-dimensional printing akermanite porous scaffolds for load-bearing bone defect repair: An investigation of osteogenic capability and mechanical evolution. *Journal of Biomaterials Applications*. 2016.

- LIU, S.; JIN, F.; LIN, K.; LU, J.; SUN, J.; CHANG, J.; DAI, K.; FAN, C. The effect of calcium silicate on *in vitro* physiochemical properties and *in vivo* osteogenesis, degradability and bioactivity of porous B-tricalcium phosphate bioceramics. *Biomed. Mater.* v, 8, 2013.
- LOBO, S.E.; WYKROTA, F.H.L.; OLIVEIRA, A.C.M.B.; KERKIS, I.; MAHECHA, G.B.; ALVES, H.J. Quantification of bone mass gain in response to the application of biphasic bioceramics and platelet concentrate in critical-size bone defects. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* v. 20, p. 1137-1147, 2009.
- LOZANO, D.; TREJO, C.G.; BARRENA, E.G.; MANZANO, M.; DOADRIO, J.C.; SALINAS, A.J.; REGÍ, M.V.; HONDUVILLA, N.G.; ESBRIT, P.; BUJÁN, J. Osteostatin-loaded onto mesoporous ceramics improves the early phase of bone regeneration in a rabbit osteopenia model. *Acta Biomaterialia*, v. 8, p. 2317-2323, 2012.
- LUO, T.; WU, C.; ZHANG, Y. The *in vivo* osteogenesis of Mg or Zr-modified silicate-based bioceramic spheres. *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 2012.
- MA, R.; YU, Z.; TANG, S.; PAN, Y.; WEI, J.; TANG, T. Osseointegration of nanohydroxyapatite or nano calcium silicate-incorporated polyetheretherketone bioactive composites *in vivo*. *International Journal of Nanomedicine*, v. 11, p. 6023-6033, 2016.
- MISTRY, S.; ROY, S.; MAITRA, N.J.; KUNDU, B.; CHANDA, A.; DATTA, S.; JOY, M. A novel, multi-barrier, drug eluting calcium sulfate-biphasic calcium phosphate biodegradable composite bone cement for treatment of experimental MRSA osteomyelitis in rabbit model. *Journal of Controlled Release*. v. 239, p. 169-181, 2016.
- MUKHERJEE, S.; NANDI, S.K.; KUNDU, B.; CHANDA, A.; SEN, S.; DAS, P.K. Enhanced bone regeneration with carbon nano tube reinforced hydroxyapatite in animal model. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. v. 60, p. 243-255. 2016.
- NANDI, S.K.; KUNDU, B.; MUKHERJEE, J.; MAHATO, A.; DATTA, S.; BALLA, V.K. Converted marine coral hydroxyapatite implants with growth factors: *in vivo* bone regeneration. *Materials Science and Engineering C*. v. 49, p. 816-823, 2015.
- REDDY, S.; WASNIK, S.; GUHA, A.; KUMAR, J.M.; SINHA, A.; SINGH, S. Evaluation of nano-biphasic calcium phosphate ceramics for bone tissue engineering applications: *In vitro* and preliminary *in vivo* studies. *Journal of Biomaterials Applications*. v. 27, n. 5, p. 565-575, 2012.
- SANTANA, C.C.; NOBREGA NETO, P.I.; SÁ, M.J.C.; OLIVEIRA, L.M.; FOOK, M.V.L.; AZEVEDO, A.S.; SOUSA, O.B. Utilização do filme de quitosana na reparação de tendão em coelhos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 66, n. 4, p. 996-1002, 2014.

TAVAKOLI-DARESTANI, R.; MANAFI-RASI, A.; KAMRANI-RAD, A. Dexamethasone-loaded hydroxyapatite enhances bone regeneration in rat calvarial defects. *Mol. Biol. Rep.* v. 41, p. 423-428, 2014.

TREJO, C.G.; LOZANO, D.; MANZANO, M.; DOADRIO, J.C.; SALINAS, A.J.; DAPÍA, S.; GÓMEZ-BARRENA, E.; VALLET-REGÍ, M.; GARCÍA-HONDUVILLA, N.; BUJÁN, J.; ESBRIT, P. The osteoinductive properties of mesoporous silicate coated with osteostatin in a rabbit femur cavity defect model. *Biomaterials*, v. 31, p. 8564-8573, 2010.

ULUM, M.F.; NASUTION, A.K.; YUSOP, A.H.; ARAFAT, A.; KADIR, M.R.A.; JUNIANTITO, V.; NOVIANA, D.; HERMAWAN, H. Evidences of *in vivo* bioactivity of Fe-bioceramic composites for temporary bone implants. *J. Biomed. Mater. Res. Part B*, v. 103B, p. 1354-1365, 2015.

VAL, J.E.M.S.; MAZÓN, P.; GUIRADO, J.L.C.; RUIZ, R.A.D.; FERNÁNDEZ, M.P.R.; NEGRI, B.; ABOUD, M.; AZA, P.N. Comparison of three hydroxyapatite-B-tricalcium phosphate-collagen ceramic scaffolds: An *in vivo* study. *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, v. 102, p. 1037-1048, 2014.

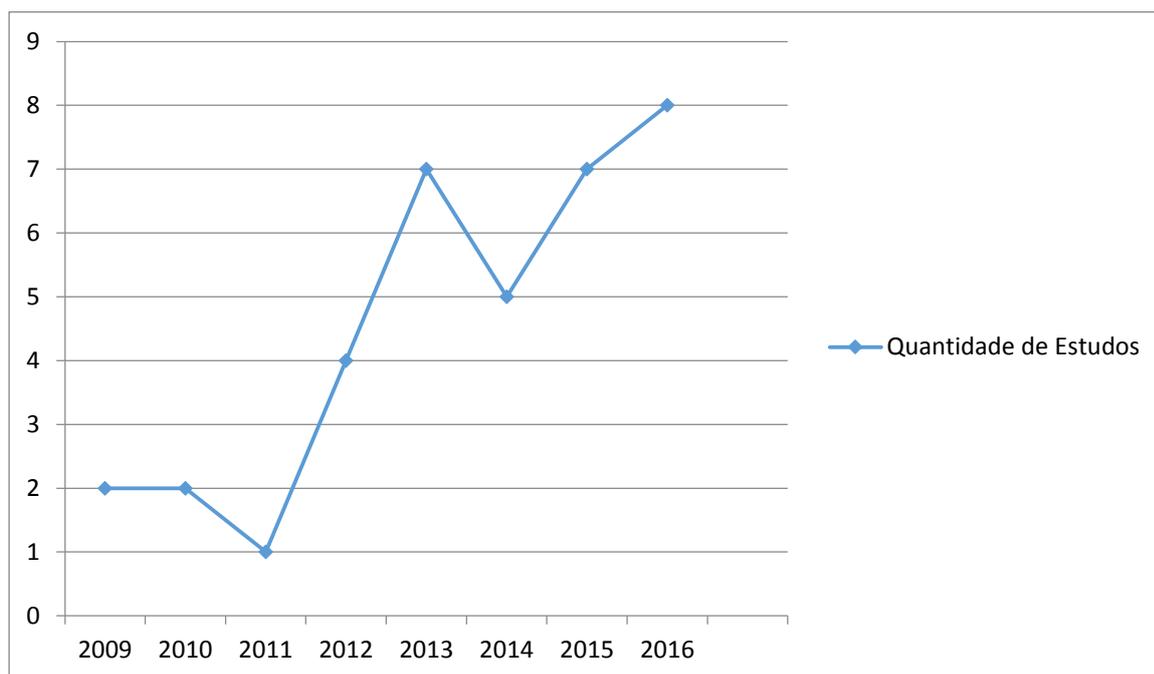
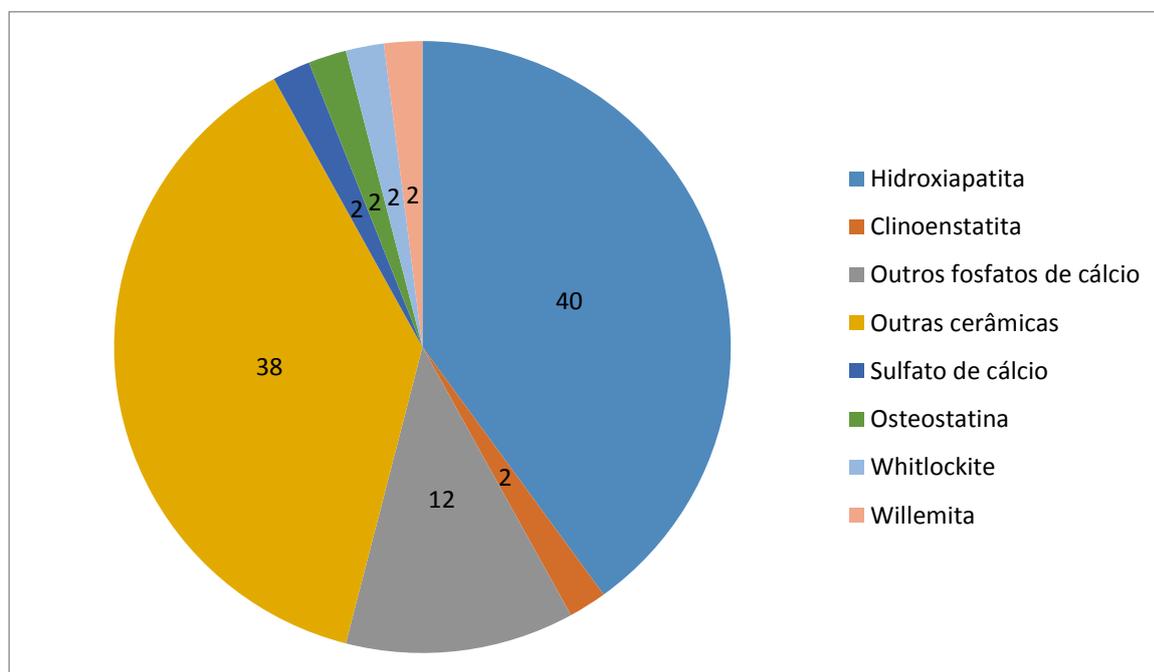
WU, C.; CHEN, Z.; WU, Q.; YI, D.; FRIIS, T.; ZHENG, X.; CHANG, J.; JIANG, X.; XIAO, Y. Clinoenstatite coatings have high bonding strength, bioactive ion release, and osteoimmunomodulatory effects that enhance *in vivo* osseointegration. *Biomaterials*. v. 71, p. 35-47. 2015.

ZHU, Y.; ZHANG, K.; ZHAO, R.; YE, X.; CHEN, X.; XIAO, Z.; YANG, X.; ZHU, X.; ZHANG, K.; FAN, Y.; ZHANG, X. Bone regeneration with micro-nano hybrid-structured biphasic calcium phosphate bioceramics at segmental bone defect and the induced immunoregulation of MSCs. *Biomaterials*, v. 147, p. 133-144, 2017.

Tabela 1: Informações sumarizadas dos estudos incluídos na revisão sistemática.

	Estudo (ano)	Espécie	N	Biocerâmica	Consistência	Sítio de implantação	Período de avaliação
1	Wu et al., (2015)	Coelhos	12	Clinoenstatita	Pó	Fêmur	60 dias
			12	Hidroxiapatita	Pó	Fêmur	60 dias
2	Tavakoli-Darestani et al., (2013)	Ratos	15	Hidroxiapatita + Dexametasona	Pó	Crânio	60 dias
			15	Hidroxiapatita	Pó	Crânio	60 dias
3	Trejo et al., (2010)	Coelhos	4	Silicato de cálcio	Pó	Fêmur	60 dias
4	Ulum et al., (2015)	Ovelhas	1	Ferro	Grânulo	Rádio	60 dias
			1	Ferro + Hidroxiapatita	Grânulo	Rádio	60 dias
			1	Ferro + Fosfato tricálcico	Grânulo	Rádio	60 dias
			1	Ferro + Fosfato bicálcico	Grânulo	Rádio	60 dias
5	Luo et al., (2012)	Ratos	20	Silicato de cálcio	Esferas	Fêmur	30 dias
6	Mistry et al., (2016)	Coelhos	14	Sulfato de cálcio	Grânulo	Tíbia	90 dias
7	Reddy et al., (2012)	Ratos	3	Hidroxiapatita + B-Fosfato tricálcico	Pó	Fêmur	90 dias
8	Lee et al., (2013)	Ratos	3	Hidroxiapatita	Pó	Fêmur	90 dias
			3	Fosfato metacálcico	Pó	Fêmur	90 dias
9	Mukherjee et al., (2016)	Coelhos	4	Hidroxiapatita	Pó	Fêmur	120 dias
10	Liu et al., (2016)	Coelhos	10	Fosfato tricálcico	Pó	Fêmur	90 dias
11	Nandi et al., (2015)	Coelhos	6	Hidroxiapatita + Fator de crescimento	Grânulo	Tíbia	90 dias
12	Lee et al., (2014)	Coelhos	6	Nanohidroxiapatita + Quitosana	Pó	Tíbia	60 dias
			8	Microhidroxiapatita + Quitosana	Pó	Tíbia	60 dias
13	Lobo et al., (2009)	Coelhos	15	Hidroxiapatita + B-Fosfato tricálcico	Grânulo	Fêmur	30 dias
			15	Hidroxiapatita + B-Fosfato tricálcico + PRP	Grânulo	Fêmur	30 dias
14	Liu et al., (2013)	Coelhos	6	Fosfato tricálcico	Pó	Fêmur	104 dias
			6	Silicato de cálcio	Pó	Fêmur	104 dias
15	Lozano et al., (2012)	Coelhos	4	Osteostatina	Pó	Fêmur	15 dias
16	Kaygili et al., (2015)	Coelhos	7	Hidroxiapatita	Grânulo	Tíbia	28 dias
17	Lin et al., (2015)	Coelhos	9	Silicato de cálcio	Pó	Fêmur	90 dias

			9	B-Fosfato tricálcico	Pó	Fêmur	90 dias
18	Cheng et al., (2010)	Ratos	15	Hidroxiapatita + B-Fosfato tricálcico	Cilindro	Fíbula	90 dias
19	Jang et al., (2015)	Ratos	10	Nano Whitlockite	Pó	Crânio	45 dias
			10	Hidroxiapatita	Pó	Crânio	45 dias
			10	B-Fosfato tricálcico	Pó	Crânio	45 dias
20	Ma et al., (2016)	Coelhos	10	Nanohidroxiapatita + Polietheretherketona	Pó	Crânio	30 dias
			10	Nanosilicato de cálcio + Polietheretherketona	Pó	Crânio	30 dias
21	An et al., (2016)	Coelhos	8	A-Fosfato tricálcico	Pó	Fêmur	104 dias
22	Chen et al., (2014)	Ratos	10	B-Fosfato tricálcico	Pó	Fêmur	30 dias
23	Huang et al., (2009)	Coelhos	8	B-Fosfato tricálcico + Akermanite	Pó	Fêmur	120 dias
24	Fu et al., (2013)	Ratos	8	Hidroxiapatita + rhBMP-2 + PLGA	Grânulo	Fêmur	60 dias
25	Grandi et al., (2011)	Ratos	25	A-Fosfato tricálcico	Grânulo	Crânio	120 dias
			25	B-Fosfato tricálcico + Hidroxiapatita	Grânulo	Crânio	120 dias
26	Aristizabal et al., (2017)	Coelhos	30	Nano fosfato de cálcio	Grânulo	Rádio	120 dias
27	Cunha et al., (2015)	Ratos	10	Hidroxiapatita + Selante de fibrina	Grânulo	Crânio	45 dias
28	Val et al., (2014)	Coelhos	10	B-Fosfato tricálcico + Hidroxiapatita + Colageno	Grânulo	Crânio	60 dias
29	Aza et al., (2013)	Coelhos	5	A-Fosfato tricálcico	Grânulo	Tíbia	60 dias
30	Adegani et al., (2014)	Ratos	10	Willemite	Pó	Crânio	60 dias
31	Aza et al., (2016)	Coelhos	15	Silicato de cálcio	Grânulo	Tíbia	60 dias
32	Zhu et al., (2017)	Cães	6	Fosfato de cálcio	Pó	Fêmur	90 dias
33	Azevedo et al., (2013)	Coelhos	20	Hidroxiapatita + Quitosana + Medula óssea	Pó	Fêmur	60 dias
34	Azevedo et al., (2014)	Coelhos	12	B-Fosfato tricálcico + Quitosana	Pó	Tíbia	90 dias
35	Azevedo et al., (2012)	Coelhos	20	Fosfato tricálcico + Hidroxiapatita	Pó	Fêmur	60 dias

Figura1: Gráfico - Quantidade de estudos publicados por ano nos últimos 10 anos.**Figura2:** Gráfico - Percentual de biocerâmica relatada por experimento.

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIÊNCIA RURAL

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

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

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

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

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo

seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. (Modelo .doc, .pdf).

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

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

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

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

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

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

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

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

9.4.Artigo completo: O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo: MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio*

molitor (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002

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

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

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

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

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

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

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

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. *Maturitas*, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000.

Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/serverjava/MedlineSearchForm>

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

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

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

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

13. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

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

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

4. CAPÍTULO II:

AVALIAÇÃO DO USO DE IMPLANTE A BASE DE SILICATO DE CÁLCIO NA REPARAÇÃO ÓSSEA DE COELHOS

Manuscrito submetido à revista Ciência Rural

Avaliação do uso de implante a base de silicato de cálcio na reparação óssea de coelhos.

Evaluation of the use of calcium silicate-based implant in bone repair.

Monique Silva Avelino^{1*}; Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá¹; Pedro Isidro da Nobrega Neto¹;
Francisco Alipio de Sousa Segundo¹; Millena de Oliveira Firmino¹; Marcus Vinícius Lia
Fook^{II}

¹ Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Campus de Patos. Rua Natalícia Ramos vieira, 194, jardim paulistano Campina Grande PB, Brasil. E-mail: Monique.avelino@hotmail.com. *Autor para correspondência.

^{II} Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais (UAEM), UFCG, Campina Grande, PB, Brasil.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de implante a base de silicato de cálcio na reparação de tíbias de coelhos. Foram utilizados 12 coelhos de ambos os gêneros, da linhagem Nova Zelândia, pesando em média 3 kg com 1 ano de idade.. Os animais foram divididos ao acaso em dois grupos; os animais que compuseram o grupo 1 foram submetidos a eutanásia aos 30 dias de estudo. Os animais do grupo 2 foram eutanasiados após 60 dias de estudo. Foram realizados orifícios em ambas as diáfises proximal e distal das tíbias de cada animal, esses orifícios foram preenchidos com implante a base de silicato de cálcio no membro direito e não receberam nenhum implante na tíbia esquerda. Os animais foram submetidos a avaliações clínico-radiográficas e de microscopia de luz e eletrônica de varredura. O implante a base de silicato de cálcio propiciou o crescimento ósseo, caracterizado pelo aumento gradativo da radiopacidade observada durante as avaliações radiográficas. O biomaterial foi biocompatível e promoveu neoformação óssea. O implante de silicato de cálcio estimulou o processo da reparação óssea em coelhos.

Palavras Chaves: Biomateriais; Biocerâmicas; Osso; Regeneração.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the use of a calcium silicate based implant in the repair of rabbit tibia. Twelve rabbits of both genders, of the New Zealand strain, weighing an

average of 3 kg were used. The animals were randomly divided into two groups; the animals that composed group 1 underwent euthanasia at 30 days of study. The animals in group 2 were euthanized after 60 days of study. Holes were made in the both proximal and distal tibial diaphysis of each animal, these holes were filled with calcium silicate-based implant in the right tibia and received no implants in the left tibia. The animals were submitted to clinical-radiographic evaluations and light microscopy and scanning electron microscopy. The calcium silicate implant provided maintenance of bone radiopacity, presented biocompatibility and promoted bone neof ormation. The calcium silicate implant stimulated the process of bone repair in rabbits.

Keywords: Biomaterials; Bioceramics; Bone; Regeneration.

INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é uma forma especializada de tecido conjuntivo que, como outros tecidos deste tipo, é constituído por células e matriz extracelular, possuindo capacidade de restaurar perfeitamente sua estrutura original e suas propriedades mecânicas, quando agredido (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

Na busca de facilitar ou acelerar a reparação de defeitos ósseos, a utilização de biomateriais vem crescendo cada vez mais, o termo biomaterial envolve todos os materiais usados em aplicações médicas que estejam em contato com o ser vivo ou desenvolvidos para uso extracorpóreo; como próteses, e incluem metais, cerâmicas polímeros naturais e sintéticos.

As biocerâmicas de fosfato de cálcio apresentam-se hoje como os principais materiais estudados e empregados como biomaterial para reconstituição e formação de tecidos ósseos, principalmente, por estes biomateriais apresentarem características mineralógicas semelhantes com a dos tecidos ósseos e dos dentes (BEST et al., 2008)

Dentre estas biocerâmicas, se destacam em particular o α -fosfato tricálcico (α -TCP) e fosfato β -tricálcico (β -TCP) com razão molar de cálcio/fósforo (Ca/P) igual a 1,5. Estes biomateriais são naturalmente bioativos e apresentam boas características de dissolução, absorção e de biodegradação, o que favorece a osseoindução, a osseointegração e a substituição óssea, quando implantados em meio biológico (RAYNAUD et al., 2002).

A fim de evitar falhas no processo de cicatrização das fraturas, vários estudos em humanos e modelos animais têm fornecido informações sobre as etapas que regulam o

processo biológico da cicatrização das fraturas, além de promoverem orientação para novas pesquisas (SANTOS, 1999; EINHORN, 2005). Apesar do grande número de estudos, ainda não foi descrito um produto ideal para uso isolado (SANTOS 1999).

Diante deste contexto, objetivou-se com este estudo avaliar a capacidade de implante de silicato de cálcio em estimular a reparação óssea em tíbias de coelhos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado 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, Paraíba, o mesmo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Uso de Animais desta Instituição sob protocolo nº 031.2017.

O implante a base de silicato de cálcio foi produzido no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste, CERTBIO. Os implantes foram obtidos pelo método de impregnação de uma esponja de poliuretano com poro aberto em forma de disco com 8 mm de diâmetro e 2 mm de espessura. A suspensão aquosa preparada com 40% de fosfato tricálcico e 60% de wollastonita. Após a secagem, as amostras foram levadas à mufla para a sinterização.

Para as avaliações *in vivo* foram utilizados 12 coelhos de ambos os gêneros, da linhagem Nova Zelândia, pesando em média 3 kg, com 1 ano de idade, adquiridos do setor de Cunicultura do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba, em Areia, Paraíba. Os animais foram alocados em gaiolas individuais de tamanho 60x40x60 cm, previamente higienizadas e suspensas do solo, permanecendo um período de adaptação de sete dias. Os animais receberam ração balanceada duas vezes ao dia e água a vontade durante todo o experimento.

Os animais foram submetidos a jejum alimentar de seis horas e hídrico de três horas, tiveram os pelos dos membros pélvicos e da região lombossacra removidos. O protocolo anestésico foi à base de associação de xilazina a 2% na dose de 5 mg/kg e cloridrato de cetamina a 5% na dose de 30 mg/kg, ambos por via intramuscular (IM). Prosseguiu-se com administração de lidocaína a 2% na dose de 0,3 ml/kg associado a tramadol 5% na dose de 1 mg/kg, ambos por via epidural. Cerca de 30 minutos antes do procedimento cirúrgico administrou-se enrofloxacino na dose de 10 mg/kg por via intravenosa.

Os animais foram posicionados em decúbito esternal, com os membros pélvicos preparados para a cirurgia asséptica. Foi realizada incisão de 2 cm de extensão na margem crânio-medial proximal e distal da tíbia, seguiu-se com divulsão do tecido subcutâneo e muscular até a exposição do periósteo. Foram realizados orifícios de 2,0 milímetros com o auxílio de furadeira ortopédica sob constante irrigação de solução de NaCl a 0,9% nas matáfises proximal e distal. No membro direito foi implantado o silicato de cálcio em ambos os orifícios criados. No membro esquerdo os orifícios ósseos não foram preenchidos com nenhum implante. Foi realizada síntese da musculatura com fio poliglactina 910 3-0 em padrão “x”, redução do espaço morto subcutâneo com fio poliglactina 910 3-0 em padrão intradérmico e dermorrafia com fio nylon 3-0 padrão Wolf.

Durante o pós-operatório os animais receberam administrações de tramadol na dose de 10 mg/kg por via IM, a cada 24 horas, durante 3 dias, e limpeza diária da ferida cirúrgica com solução de NaCl a 0,9% durante 10 dias, sendo então realizada a remoção dos pontos cirúrgicos.

Foi realizada avaliação clínico-ortopédica, observando a presença ou ausência de claudicação, edema, sensibilidade dolorosa, deiscência e infecção da ferida cirúrgica, durante os primeiros 10 dias após o procedimento cirúrgico.

Para análise radiográfica, foram realizadas radiografias de ambas as tíbias nas projeções mediolateral e craniocaudal, imediatamente após a cirurgia, aos 30 e 60 dias do pós-operatório. A técnica radiográfica foi padronizada (45Kv, 100mA e 0,03s), e as radiografias analisadas de forma subjetiva, levando em consideração características e intensidade de reações da região do orifício ósseo. Os resultados foram estudados por análise descritiva.

Os animais foram eutanasiados após 30 ou 60 dias, de acordo com o grupo, para coleta de amostras e subsequente avaliação histopatológica. O protocolo de eutanásia adotado consistiu na administração da associação de xilazina a 2% na dose de 5 mg/kg e cetamina a 5% na dose de 40 mg/kg, ambos por via IM, após 15 minutos foi realizada administração de propofol a 1% na dose de 5 mg/kg seguida da administração de cloreto de potássio 19,1% na dose de 1 ml/kg, ambos por via intravenosa.

As amostras dos orifícios foram coletadas e fixadas em formol a 10%. Cada recipiente foi identificado com o número do animal e com o grupo a qual pertencia. Após o período de fixação (três dias), as amostras foram descalcificadas em solução de ácido nítrico 10% por um período de cinco dias. Em seguida as peças foram rotineiramente processadas e incluídas em parafina. Os cortes foram realizados em Micrótomato Rotativo Manual Ek Micro1(Eikonal do

Brasil, São Paulo, SP, Brasil) com espessura de 5 mm, semiseriados de 1/5, e corados pela técnica de Hematoxilina de Harris e Eosina Alcoólica (H/E).

As amostras processadas foram então avaliadas através de análise descritiva comparativa por um avaliador cego no Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Em sequência as amostras foram encaminhadas para análise de microscopia de varredura. As análises da parte de microscopia eletrônica de Varredura (MEV) foram realizadas no laboratório do CERTEBIO pertencente ao Departamento de Engenharia de Materiais da UFCG.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os animais avaliados não apresentaram durante a avaliação clínico-ortopédica nenhum sinal clínico de claudicação, edema, sensibilidade dolorosa, deiscência ou infecção. Poucas horas após o procedimento cirúrgico todos os animais apoiavam o membro e deambulavam sem claudicar. Fato este também relatado por BORGES (1998), REZENDE et al. (1998), FRANCO et al. (2001) e VITAL et al. (2006), que observaram apoio normal dos membros de coelhos operados poucas horas após a cirurgia. O retorno funcional do membro está relacionado ao procedimento cirúrgico desenvolvido de forma precisa, manejo analgésico adequado e biocompatibilidade do implante utilizado, este último pode afetar negativamente o pós-operatório dos animais, como mostrado por MARTINEZ (2009) que avaliou coelhos com implante a base de hidroxiapatita e observou claudicação dos animais por um período de até sete dias.

Nas radiografias realizadas imediatamente após a cirurgia, foi possível visualizar halos radioluscentes (Figura 1), estes diminuíram gradativamente e aos 60 dias, já era semelhante a do tecido ósseo, revelando adequada absorção e incorporação do implante a estrutura óssea. Este fato foi favorecido pela estrutura química semelhante do implante ao tecido ósseo, possibilitando uma biodegradação gradativa, o que também foi observado por AZEVEDO et al., (2012) ao utilizar outras biocerâmicas como o fosfato de cálcio para reparação de tecido ósseo de coelhos.

A avaliação radiográfica após 30 dias (Figura 2) revelou que um dos animais apresentava discreta reação periosteal com proliferação osteocítica adjacente ao orifício contendo o implante na metáfise da tíbia direita. Nos demais animais (5) do grupo 30 dias observou-se uma área radioluscente envolvendo a cortical no local implantado, ausência de reação periosteal e de sinais sugestivos de processo inflamatório. Isto evidencia o processo de

biodegradação do implante e sugere adequada biocompatibilidade do material, assim como o relatado por AZEVEDO et al., (2013) ao empregar hidroxiapatita para reparação óssea em coelhos, o autor ainda relata que a utilização de biocerâmicas tendem a promover uma neoformação óssea mais discreta, o que pode explicar a discreta reação periosteal observada em um único animal no presente estudo.

Após 60 dias (Figura 3), observou-se a ausência de halo radioluscente em locais do implante e corticais preservadas, indicando uma fase avançada na absorção do implante e sugerindo que o silicato de cálcio apresenta uma taxa de absorção relativamente mais rápida quando comparado com outras biocerâmicas, como o fosfato β -tricalcico o qual foi estudado por AZEVEDO et al., (2014), e apresentou radiodensidade após 90 dias de implantação.

Através da microscopia de luz pôde-se observar discreta reorganização do tecido ósseo compacto e discreta reação periosteal nos orifícios com implantes aos 30 dias. No grupo com 60 dias (Figura 4), evidenciou-se área focal de remodelação óssea de osso compacto e proliferação de matriz óssea ao redor do material implantado, conforme relatado por DUFRANE et al. (2003) o qual avaliou a citotoxicidade *in vitro* de cálcio e silicato liberados por pseudowollastonita.

De acordo com Vital et al. (2006), o tecido conjuntivo é substituído por tecido ósseo no decorrer do processo cicatricial. Este achado foi observado no grupo tratamento do presente experimento na forma de múltiplas cavitações com material granular basofílico, com proliferação de tecido conjuntivo e fibroblastos e formação de novos vasos, circundados por osteoblastos, em ambos os momentos de avaliação histológica

Foi observado que ao redor do implante formou-se tecido ósseo de forma desorganizada, atingindo até a área medular já aos 30 dias, sendo maior intensificado aos 60 dias. Sabe-se que as cerâmicas a base de cálcio promovem uma interação direta com o tecido ósseo, sem interposição do tecido fibroso, sendo uma propriedade de extrema importância para formação óssea (LE GUEHENNEC et al., 2004; CORSETTI et al., 2008). Além disso, o cálcio presente na cerâmica possui uma superfície complexa capaz de favorecer a ativação plaquetária, dando início os fenômenos celulares que culminam na neoformação óssea (WILLIAMS, 2009; TABATA, 2009).

Não foi observada reação do tipo inflamatória ou necrose durante a análise histopatológica, confirmando a baixa citotoxicidade e alta biocompatibilidade do implante, características fundamentais para qualquer biomaterial, o mesmo foi relatado por ALEXANDRE (2016) que observou a presença de implante a base de silicato de cálcio sem

sinais de reação do tipo inflamatória ou corpo estranho em coelhos aos 30 dias da implantação.

Na microscopia eletrônica de varredura verificou-se recobrimento dos implantes por tecido ósseo e ausência de reação inflamatória. Observou-se que a coloração variou de regiões mais esbranquiçadas ao cinza escuro próximo do preto. Próximo a região do implante verificou-se estrutura de cor cinza claro que pode sugerir ser presença de tecido ósseo jovem. Além do que, ocorreu uma diminuição da quantidade de biomaterial na região da interface osso-implante, indicando reconstrução do tecido ósseo agredido (Figura 5). Resultados semelhantes foram relatados por SHEIKH et al., (2017) ao utilizar a microscopia eletrônica de varredura para analisar a absorção de cimentos a base de fosfato dicálcico para reparação de fêmur de coelhos.

CONCLUSÃO

Com o presente estudo conclui-se que o enxerto de silicato de cálcio estimulou o início do processo da reparação óssea em coelhos. Além disso, vale ressaltar que o implante apresentou características de biocompatibilidade e baixa citotoxicidade.

AGRADECIMENTOS:

À Capes, pela concessão da bolsa;

Aos animais utilizados neste estudo que deram sua vida em prol do desenvolvimento da ciência.

REFERÊNCIAS

ALEXANDRE, P.R.S: **Avaliação histológica da reparação óssea utilizando implantes de silicato de cálcio em tíbia de coelhos** 37f.: il. color. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016

AZEVEDO, A.S.; SÁ, M.J.C; NÓBREGA NETO, P.I.; FOOK, M.V.L.; PORTELA, R.A.; AZEVEDO, S.S. Avaliação de diferentes proporções de fosfato de cálcio na regeneração do

tecido ósseo de coelhos: estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, p.12-18, 2012.

AZEVEDO, A.S.; SÁ, M.J.C.; FOOK, M.V.L.; NÓBREGA NETO, P.I.; SOUSA, O.B.; AZEVEDO, S.S. Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos. Estudo histológico e morfométrico. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 43, n. 7, p. 1265-1270, jul, 2013.

AZEVEDO, A.S.; SÁ, M.J.C.; FOOK, M.V.L.; NÓBREGA NETO, P.I.; SOUSA, O.B.; AZEVEDO, S.S.; TEIXEIRA, M.W.; COSTA, F.S.; ARAÚJO, A.L. Use of chitosan and B-tricalcium phosphate, alone and in combination, for bone healing in rabbits. **J. Mater. Sci.: Mater. Med.** v. 25, p. 481-486, 2014.

BEST, S.M.; PORTER, A.E.; THIAN, E.S.; HUANG, J. Bioceramics: Past, present and for the future. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 28, n. 2008, p. 1319–1327, 2008.

BORGES A.P.B. **O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea do defeito provocado experimentalmente no terço proximal da tíbia de caes. Estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodisperção** [Tese]. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1998.

CORSETTI, A.; LEITE, M.G.T.; PONZONI, D.; PURICELLI, E. Avaliação da presença de microrganismos aeróbios em blocos de cimento fosfato de cálcio submetidos a três técnicas de esterilização. **Revista da Faculdade de Odontologia de Passo Fundo**. v.13, n.2, p. 2732, 2008

DUFRANE, D.; DELLOYE, C.; MCKAY, I.J.; DE AZA, P.N.; DE AZA, S.; SCHNEIDER, Y.J.; ANSEAU, M. Indirect cytotoxicity evaluation of pseudowollastonite. **Journal of Materials Science-Materials in Medicine**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 2003.

EINHORN, T.A. The science of fracture healing. **Journal of Orthopaedic Trauma, Washington**, v.19, n.10, p.S4-S6, 2005.

FRANCO, K.L.; BORGES, A.P.B.; VILÓRIA, M.I.V. et al. Hidroxiapatita sintética pura, hidroxiapatita associada ao colágeno e hidroxiapatita sintética associada ao lipossoma como substitutos ósseos em defeitos provocados na tíbia de cães: aspectos da osteointegração à microscopia de luz transmitida. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.53, p.431-436, 2001.

JUNQUEIRA L.C. & CARNEIRO J. **Histologia básica: Texto/Atlas**. 10a ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2004. p. 185.

LE GUEHENNEC, L.; LAYROLLE, P.; DACULSI, G.A review of bioceramics and fibrin sealant. **European Cells and Materials Journal**. v.8, p. 1-11, 2004

- MARTINEZ, M.M.; BORGES, A.P.B.; POMPERMAYER, L.G.; CARLO, E.C.; VILELA, L.M.; RATES, D.M.; MORATO, G.O.; ELEOTÉRIO, R.B.; BICALHO, S.M.C.M. Osseointegração clínica-radiológica do compósito hidroxiapatita-lignina entre implante metálico e tecido ósseo em coelho. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte , v. 61, n. 4, p. 835-843, Aug. 2009 .
- RAYNAUD, S., CHAMPION, E., BERNACHE-ASSOLLANT, D., THOMAS, P. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterization and thermal stability of powders. **Biomaterials**, v. 23, p. 1005–1072, 2002.
- REZENDE, C.M.F.; BORGES, A.P.B.; BERNIS, et al. Aspectos clínico-cirúrgicos e radiográficos da hidroxiapatita sintética na diáfise proximal da tíbia de cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.50, p.537-545, 1998.
- SANTOS, L.A.; OLIVEIRA, L.C.; RIGO, E.C.; CARRODEGUAS, R.G.; BOSCHI, A.O.; DE ARRUDA, A.C. Influence of polymeric additives on the mechanical properties of atricalcium phosphate cement. **Bone** v. 25, n. 2, p. 99-102, 1999.
- SHEIKH, Z.; ZHANG, Y.L.; TAMIMI, F.; BARRALET, J. Effect of processing conditions of dicalcium phosphate cements on resorption and bone formation. **Acta Biomaterialia**, v. 53, p. 526-535, 2017.
- TABATA, Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. **Journal of The Royal Society Interface**. v. 6, p. 311-324, 2009.
- VITAL, C. C. et al. Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.58, n.2, p.175-183, 2006.
- WILLIAMS, D.F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**. v.30, p. 5897-5909, 2009.

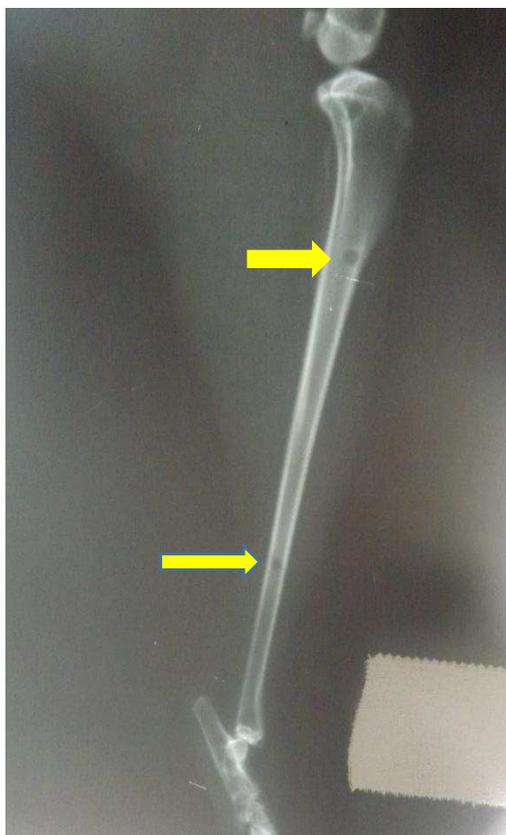


Figura 1- Radiografia da tíbia de coelhos submetidos a implante de silicato de cálcio. Pós-cirúrgico imediato. Observar áreas de implantes na região metafisária distal e proximal (setas amarelas). Fonte: Hospital Universitário Veterinário Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2017.

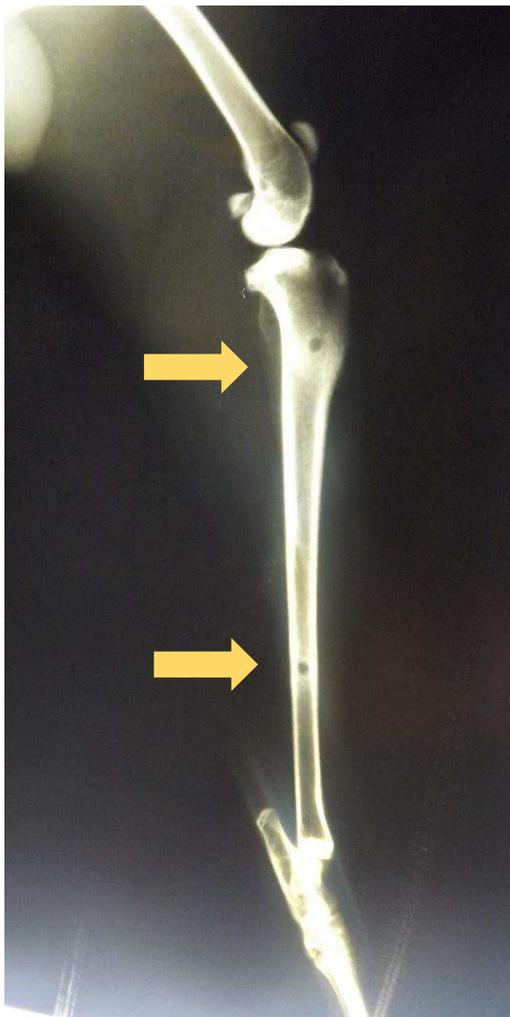


Figura 2 - Radiografia da tíbia de coelhos submetidos a implante de silicato de cálcio com 30 dias após o implante. Observar uma área radioluscente envolvendo a cortical na área proximal e distal no local implantado (setas laranjas), ausência de proliferação osteocítica, ausência de sinais sugestivos de processo inflamatório, tecidos moles preservados. Fonte: Hospital Universitário Veterinário Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2017.



Figura 3: Radiografia da tíbia de coelhos submetidos a implante de silicato de cálcio com 60 dias após o implante. Observar ausência de halo radioluscente em locais dos implantes (setas vermelhas), corticais preservadas, radiopacidade de tecidos moles e corticais preservadas. Fonte: Hospital Universitário Veterinário Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2017.

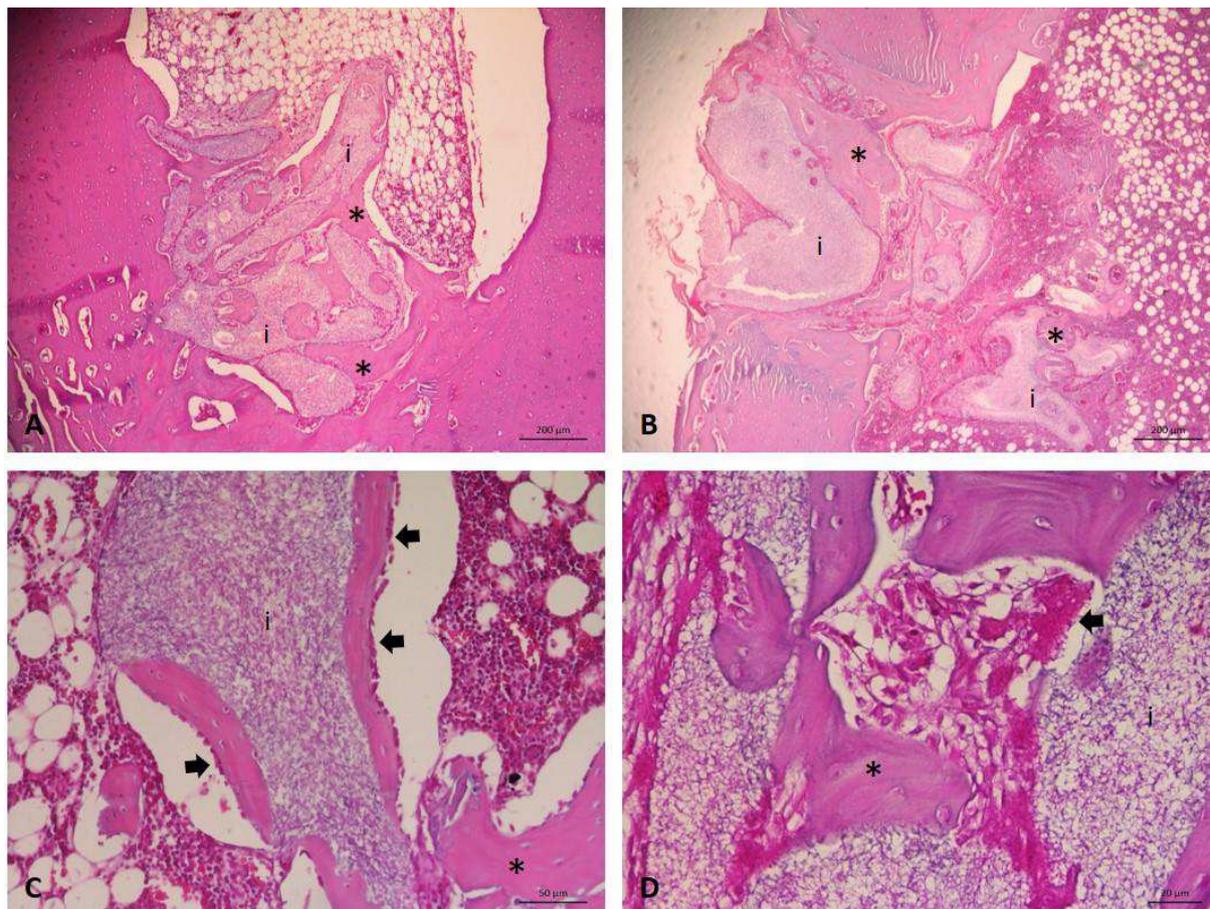


Figura 4 - Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 30 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio **(A)** Observa-se área focal de remodelação óssea do osso compacto (R), presença de moderado material fibrilar, irregular, eosinofílico provavelmente implante de silicato de cálcio utilizado (i) e proliferação de matriz óssea (*).HE. 200μm. **(B)** Observa-se área de descontinuidade do osso compacto associado a material fibrilar, irregular e eosinofílico (implante), (i) e proliferação de matriz óssea (*). HE. 200μm. **(C)** Fotomicrografia da interface osso-implante, aos 60 dias após a cirurgia, em tíbias de coelhos submetidas à implantação de silicato de cálcio. Observa-se em detalhes múltiplos osteoblastos circundando o tecido ósseo neoformado (setas), além do implante de silicato de cálcio utilizado(i) e matriz óssea proliferada (*). HE. 50μm. **(D)** Observa-se em meio a proliferação de matriz óssea (*) a presença de múltiplos osteoclastos (seta). HE. 20μm. Fonte: UFPB, 2017.

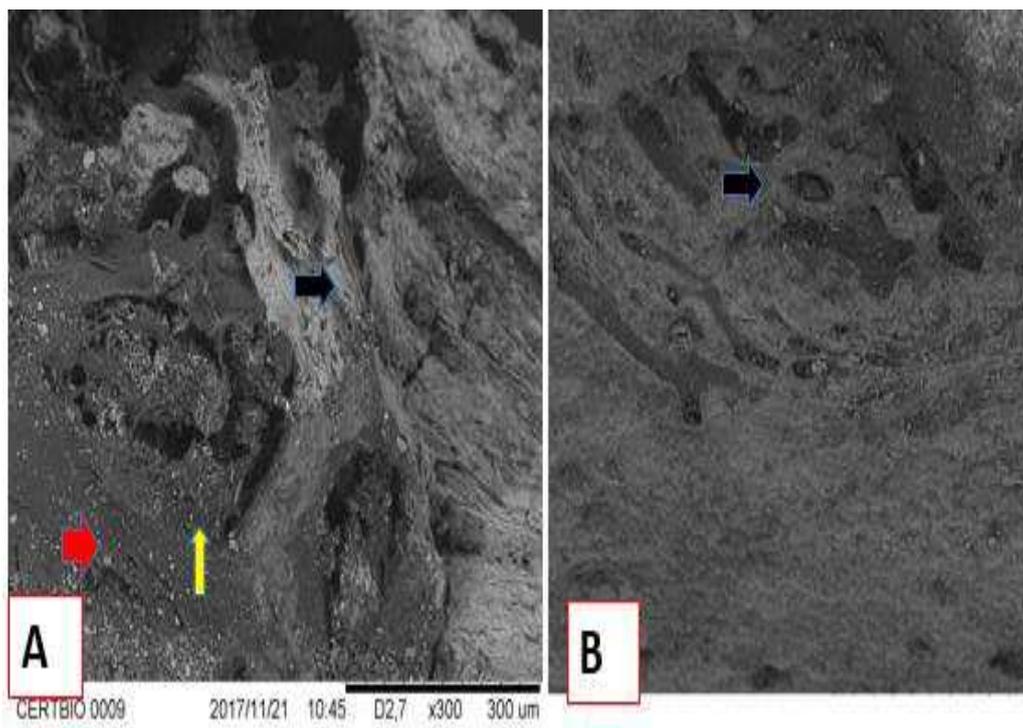


Figura 5 - Implante de silicato de cálcio em tíbias de coelhos. Imagem de microscopia de varredura aos 60 dias(**A**) . Observa-se a variação da coloração onde a área cinza mais claro (seta preta) mostra o tecido ósseo antigo e a área cinza mais escuro (seta vermelha) mostra tecido ósseo neoformado circundando o implante (seta amarela). Ao lado, a mesma amostra submetida a microroscopia de varredura aos 30 dias(**B**). Observa-se o implante (seta preta) e area generalizada com tonalidade cinza mais claro. Aumento de 300x. **Fonte:** CERTBIO 2017.

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIÊNCIA RURAL

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9.4.Artigo completo: O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo: MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002

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

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

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

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

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

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

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

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. *Maturitas*, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000.

Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/serverjava/MedlineSearchForm>

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

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

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

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

- 13.** Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).
- 14.** Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.
- 15.** Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.
- 16.** Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.