

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CIMENTO DE ALUMINATO DE CÁLCIO – USO EM
DEFEITOS ÓSSEOS INDUZIDOS EM FÊMURES DE COELHOS
(*Oryctolagus cuniculus*)**

Camila Paes Bürger

Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CIMENTO DE ALUMINATO DE CÁLCIO - USO EM
DEFEITOS ÓSSEOS INDUZIDOS EM FÊMURES DE COELHOS
(*Oryctolagus cuniculus*)**

Camila Paes Bürger

Orientador: Prof^a. Dr^a. Cíntia Lucia Maniscalco

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Paola Castro Moraes

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2010

Bürger, Camila Paes
B954c Cimento de Aluminato de Cálcio – Uso em defeitos ósseos
induzidos em fêmures de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) / Camila
Paes Bürger. – – Jaboticabal, 2010
viii, 40 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2001
Orientador: Cíntia Lucia Maniscalco
Banca examinadora: Julio Carlos Canola, Gustavo Garkalns de
Souza Oliveira
Bibliografia

1. Cimento de aluminato de cálcio. 2. Coelhos. 3. Defeito ósseo.
4. Osteocondução. 5. Osteoindução. 6. Osteointegração. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619: 617.3:636.92

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CAMILA PAES BÜRGER – nascida em 22 de agosto de 1981, em Limeira, é Médica Veterinária formada pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, em 2005. Participou do Programa de Aprimoramento Profissional em Clínica Cirúrgica e Anestesiologia de Pequenos Animais de fevereiro de 2006 a janeiro de 2008 na mesma entidade. Em março de 2008, iniciou o curso de Pós-graduação (Mestrado), área de concentração em Cirurgia Veterinária junto à mesma faculdade, sob orientação da Prof^a Cintia Lúcia Maniscalco.

“Deus conceda-me serenidade para aceitar as coisas que não posso modificar, coragem para modificar aquelas que posso e sabedoria para reconhecer a diferença”.

São Francisco de Assis.

Dedico...

Aos meus pais, Dárcio e Claudete, que sempre confiaram em mim, por todo apoio, amor, paciência e compreensão.

À minha irmã Karina pela amizade, carinho, companheirismo, por todos os momentos de nossas vidas e paciência, além de todo ensinamento passado.

Aos meus avós: Vó Isaura (“in memoriam”), Vô Berto (“in memoriam”), Vó Elza e a Tia Tuta pelo carinho, amor e “força”.

Aos meus segundos, terceiros e infinitos pais que me ajudaram nesta grande caminhada quando meus pais não puderam estar ao meu lado: prof^a. Márcia, prof^a. Cintia e prof^a. Paola, Iarinha e a família Niero Ferreira.

E aos verdadeiros amigos que me acompanharam nestes anos, na cidade de Jaboticabal.

**Obrigada por
tudo
Amo vocês.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por eu existir e por me dar forças para enfrentar todos os obstáculos ...

À minha família que durante todo esse período esteve ao meu lado, incentivando e lutando para que esse sonho se realizasse.

Às minhas amigas Priscila, Paulinha, Dani, Ju, Vivian, Charlie, Dri, Carol, Verinha e outras mais pela amizade, carinho, apoio e cuidados durante os anos de convívio, além de todos os conselhos.

À minha orientadora Prof^a Cíntia, co-orientadora Prof^a Paola, Prof^o Newton e Prof^o Canola pelos conselhos, auxílio, amizade e paciência.

Ao Sr. Orandir, na ajuda do processamento do meu material. Obrigada!

À todos os professores, residentes e funcionários da FCAV-UNESP Jaboticabal pelos ensinamentos, pela ajuda, pela acolhida, pelos bons e maus momentos, que me ajudaram a crescer como pessoa e tornaram, em conjunto com toda a comunidade universitária, esse local a minha casa.

Aos amigos da empresa Binderware Biomateriais Ltda; pela confiança em conceder material e financiamento para realização do projeto e pela grande amizade!!!

Ao CNPq, por todo o conhecimento adquirido e pela oportunidade de realizar o mestrado.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE QUADROS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
RESUMO.....	vii
SUMMARY.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Falhas da consolidação óssea.....	3
2.2 Biomateriais.....	5
2.2.1 Cimento de aluminato de cálcio.....	6
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
3.1 Animais.....	8
3.2 Considerações éticas.....	8
3.3 Cimento de aluminato de cálcio.....	9
3.4 Delineamento experimental.....	9
3.4.1 Pré-operatório.....	9
3.4.2 Trans-operatório.....	12
3.4.3 Pós-operatório.....	14
3.4.4 Avaliação clínica.....	14
3.4.5 Avaliação radiográfica.....	14
3.4.6 Avaliação macroscópica.....	15
3.4.7 Avaliação histológica.....	16
4. RESULTADOS.....	16
4.1 Avaliação clínica.....	16
4.2 Avaliação radiográfica.....	17
4.3 Avaliação macroscópica.....	21
4.4 Avaliação histológica.....	22

5. DISCUSSÃO.....	25
6. CONCLUSÕES.....	28
7. REFERÊNCIAS.....	29

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Imagem fotográfica do procedimento anestésico em coelho neozelandese adulto jovem. A: posição da máscara para indução anestésica; B: animal intubado com sonda orotraqueal 2,5; C: tricotomia ampla de parte dos membros pélvicos e da área para anestesia regional epidural; D: posicionamento da agulha 25X7 para introdução no espaço lombossacro; E e F: agulha no espaço intervertebral.....	11
Figura 2. Imagem fotográfica do procedimento cirúrgico. A: sítio cirúrgico delimitado por panos de campo; B: incisão de pele; C: face cranial do fêmur com elevação do periósteo (seta); D: face cranial do fêmur evidenciada após rotação do membro; E: fêmur direito com os orifícios preenchidos com o cimento aluminoso (setas); F: fêmur esquerdo com as perfurações preenchidas com coágulo (setas).....	13
Figura 3. Imagem radiográfica de fêmures de coelhos neozelandeses adultos jovens. A: imagem craniocaudal e B: imagem mediolateral (a) e lateromedial (b). Evidencia-se no fêmur direito duas perfurações preenchidas por cimento aluminoso (elipse amarela) e no esquerdo, dois orifícios vazios (elipse branca).....	17
Figura 4. Imagem radiográfica de fêmures de coelhos neozelandeses adultos jovens. A e B: G15 com ambos os membros contendo orifícios abertos (setas); C e D: G30 onde se observa o início do fechamento dos orifícios (setas); E e F: G60, com calo exuberante ao redor do cimento aluminoso (seta) e fechamento quase completo dos orifícios preenchidos por coágulo (seta).....	18
Figura 5. Imagem fotográfica do aspecto macroscópico dos segmentos de fêmures de coelhos neozelandeses adultos jovens. A: fêmur controle do G15, onde nota-se pequenas formações ósseas sobre e ao redor dos orifícios (setas); B: fragmento do fêmur tratado do G15, onde não se observa formação óssea sobre o cimento (setas); C: os orifícios fechados em G30 (setas); D: formação de uma fina camada óssea sobre o cimento ósseo em G30 (setas); E: os orifícios controle completamente fechados do G60 (setas); F: calo exuberante formado sobre o biomaterial em G60.....	22

Figura 6. Fotomicrografia dos cortes histológicos de fêmures de coelhos neozelandeses adultos jovens. A: início da ossificação endocondral (OE) em orifício não tratado do G15; B: orifício tratado do G15 sem formação óssea no interior do cimento (Ci); C: orifício controle do G30 preenchido por tecido ósseo secundário (S); D: reação inflamatória (seta) na periferia do cimento aluminoso (Ci) do G30; E: tecido ósseo secundário com a presença de sistema de Harvers (seta); F: invasão de células ósseas (seta) na periferia do cimento aluminoso (Ci) (Hematoxilina-Eosina; A e B 5X, C 10X, D 40X, E e F 20X).....

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1 Sistema de classificação radiográfica modificada de Rezende et al. (1998).....	15

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Avaliação radiológica do defeito ósseo, produzido no fêmur direito (tratado) e esquerdo (controle) de coelhos do grupo 15 dias. UNESP/Jaboticabal, 2010.....	19
Tabela 2. Avaliação radiológica do defeito ósseo, produzido no fêmur direito (tratado) e esquerdo (controle) de coelhos do grupo 30 dias. UNESP/Jaboticabal, 2010.....	19
Tabela 3. Avaliação radiológica do defeito ósseo, produzido no fêmur direito (tratado) e esquerdo (controle) de coelhos do grupo 60 dias. UNESP/Jaboticabal, 2010.....	20
Tabela 4. Avaliação radiológica do defeito ósseo (cortical), produzido no fêmur direito (tratado) e esquerdo (controle) de coelhos do grupo 60 dias. UNESP/Jaboticabal, 2010.....	20

**“CIMENTO DE ALUMINATO DE CÁLCIO - USO EM DEFEITOS ÓSSEOS
INDUZIDOS EM FÊMURES DE COELHOS (*Oryctolagus cuniculus*)”**

RESUMO - O tratamento de não união e união retardada é um desafio constante na rotina do ortopedista veterinário. A dificuldade de se conseguir repouso adequado dos pacientes submetidos à osteossíntese, frequentemente, resulta em consolidações mal sucedidas. Com o objetivo de se avaliar o comportamento do cimento de aluminato de cálcio, foram induzidos defeitos ósseos de 3,57mm de diâmetro nos fêmures de 12 coelhos, sendo os do lado direito preenchidos com o referido biomaterial e os do esquerdo permaneceram vazios. Aos 15, 30 e 60 dias de pós-operatório, realizaram-se avaliações clínico-cirúrgicas, radiográficas e histológicas, a fim de se observar o potencial osteoindutor e osteocondutor do biomaterial no defeito ósseo, e se houve osteointegração. Os resultados evidenciaram que o cimento aluminoso, nesta formulação, não possui esses potenciais e nem poder de osteointegração, possivelmente por possuir porosidade reduzida.

Palavras-chave: cimento de aluminato de cálcio, coelhos, defeito ósseo, osteocondução, osteoindução, osteointegração

**“CALCIUM ALUMINATE CEMENT – USE IN INDUCED BONE DEFECTS IN FEMURS
OF RABBITS (*Oryctolagus cuniculus*)”**

SUMMARY – The treatment of non union and delayed union is a constant challenge for veterinary orthopedists. The difficulty in achieving adequate rest for patients which have undergone osteosynthesis results in unsuccessful bone consolidations. With the aim of evaluating the behavior of a calcium aluminate cement, bone defects of 3,57 mm of diameter were induced in femurs of 12 rabbits. The defects on the right side were filled with the biomaterial and the ones on the left side remained unfilled. The evaluation periods occurred at 15, 30 and 60 days after surgery. Clinical, surgical, radiographic and histological evaluations were performed in order to observe the osteoinductive and osteoconductive potential of the biomaterial on the bone defects, as well to verify if there was osteointegration. The results showed that the aluminate cement does not have these potencial and nor cause osteointegration in the formulation used in this study.

Keywords: bone defect, calcium aluminate cement, rabbits

1. INTRODUÇÃO

Na cirurgia ortopédica, frequentemente, ocorrem situações de alteração na continuidade óssea, especialmente nos traumatismos de alta energia, tumores ou infecções (IGNÁCIO et al., 2002). Embora a consolidação óssea seja um processo biológico aperfeiçoado, estima-se que 5 a 10% das fraturas em seres humanos apresentem complicações (EINHORN, 1995). Em animais, sabe-se que a incidência destas é dependente de fatores intrínsecos e extrínsecos, mas ainda não existe dados que expressem estatisticamente a sua ocorrência (MAYR et al., 2000).

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; 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).

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; MORAES, 2002; ANRINZEH et al., 2003; MORAES et al., 2004; ORIÁ, 2005).

Em geral, os biomateriais não devem ter resposta do tecido hospedeiro e, para tanto, devem se assemelhar quimicamente ao mesmo. Com isso ocorre a biocompatibilidade, ou seja, não induz a resposta tecidual ou imunológica adversa. Além disso, a biofuncionalidade só se manifesta se a biocompatibilidade for adequada (CAMPOS et al., 2005).

Desta forma, com este trabalho objetivou-se avaliar o comportamento do cimento de aluminato de cálcio em defeitos ósseos induzidos experimentalmente em fêmures de coelhos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A consolidação óssea é um complexo processo regenerativo em resposta a uma lesão, que resulta em reparo e restauração da função do osso (DIMITRIOU et al., 2005).

Em termos histológicos, a consolidação óssea foi dividida em direta (primária) e indireta (secundária). A direta acontece apenas quando há redução anatômica dos fragmentos da fratura por fixação interna rígida com movimentação interfragmentária mínima. Assim, a córtex tenta restabelecer os sistemas haversianos por meio da formação de discretas unidades de remodelação, na tentativa de restaurar a continuidade mecânica (MC KIBBIN, 1978). As células vasculares endoteliais e mesenquimais perivasculares fornecem células osteoprogenitoras que se transformarão em osteoblastos (DIMITRIOU et al., 2005). Durante este processo a formação de calo ósseo pode ser mínima ou nula (EINHORN, 1998)

A maioria dos reparos ósseos se dá por via indireta (DIMITRIOU et al., 2005), com ossificação intramembranosa e endocondral, e com conseqüente formação de calo ósseo (EINHORN, 1998).

Em ordem cronológica, as divisões temporais da consolidação óssea secundária são formação do hematoma, inflamação, angiogênese, formação de cartilagem (com subsequente calcificação, remoção da cartilagem e formação de novo osso) e a remodelação óssea. Primariamente, ocorre um derrame sanguíneo proveniente do periósteo, dos vasos e da medula óssea, dando origem a um hematoma que participa ativamente do recrutamento de células para o local da fratura (CLAES & WILLIE, 2007). Segue a fase inflamatória que tem início com a chegada dos leucócitos

polimorfonucleares, macrófagos e linfócitos no sítio de injúria, tendo como principal função a remoção dos debris celulares. Com o desenvolvimento do hematoma e proliferação vascular, se inicia a fase da angiogênese, responsável pela formação de novos vasos, que antecede a osteogênese (PHILLIPS, 2005; SOJO et al., 2005). A indução da formação de uma rede capilar no início do processo de reparação é necessária para que o tecido ósseo possa ser regenerado e tenha nutrientes para seu desenvolvimento (SOJO et al., 2005). Sem a ocorrência da fase inflamatória, não temos a consolidação (PHILLIPS, 2005).

As células mesenquimais do hematoma proliferam e se diferenciam, iniciando a formação do calo ósseo intramembranoso ou duro no periósteo, em local pouco distante do sítio da fratura (PHILLIPS, 2005). O calo ósseo mole, que pode ser constituído por colágeno ou tecido fibroso, envolve externamente o ponto da fratura. Após alguns dias, forma-se novo osso endocondral, simultaneamente ao desenvolvimento do calo periosteal. Durante a fase de remodelação, o calo é reabsorvido e remodelado pelas forças que atuam no osso (BETTI, 2004), processo este que permanece ativo durante vários anos (WENDEBERG, 1961). Contudo, por um longo período, a densidade mineral do osso reparado será menor que a do normal (CLAES & WILLIE, 2007).

2.1 FALHAS DA CONSOLIDAÇÃO ÓSSEA

A falha dos eventos do processo de consolidação e as violações dos princípios da cirurgia ortopédica podem causar distúrbios na reparação de fraturas, tendo como consequência a união retardada ou não união óssea (PERKA et al., 2000; SCHMAEDECKE et al., 2003). Além disso, traumas, anormalidades do desenvolvimento, neoplasias e diversas patologias podem provocar defeitos ósseos (ARINZEH et al., 2003; MORAES et al., 2004 e 2007). O tratamento tradicional de casos de não união é cirúrgico, onde se faz a limpeza dos segmentos ósseos pela remoção dos tecidos moles que interferem na cicatrização (MALIZOS et al., 2006) e depois a estabilização por fixação externa (SIMONIS et al., 1984; STEIN & ANZEL,

1984) ou placa (BRAUN et al., 1991). Outra opção é a utilização de enxertos ósseos autógenos, que embora apresentem bons efeitos, existe limitações relacionadas ao tamanho e quantidade, complicações pós-operatórias no sítio doador, aumento do tempo cirúrgico e as vezes o estado crítico do paciente impossibilita um novo procedimento cirúrgico (PERKA et al., 2000; ALBAROVA et al., 2005).

Na tentativa de reduzir o tempo de recuperação, prevenir as complicações da consolidação e oferecer tratamento mais efetivo e menos oneroso já foi pesquisado a atuação de agentes biológicos e mecânicos sobre o reparo ósseo (MALIZOS et al., 2006; MORAES et al., 2007). Baseados na descoberta de propriedades ósseas importantes na consolidação (osteocondução, osteoindução e osteogênese), diversos estudos tentaram avaliar o efeito e o mecanismo de ação da estimulação por biomateriais.

A osteocondução é o processo no qual o material serve como arcabouço para migração de vasos sanguíneos e deposição de osso novo, conhecido como “tellis formation”. O substituto ósseo é lentamente reabsorvido e trocado por tecido neoformado pelo processo de “creeping substitution”. Radiograficamente ocorre aumento inicial de radiopacidade do biomaterial, seguido por redução na densidade e uma mistura com o osso adjacente. O processo de substituição é lento, podendo levar meses, anos ou nunca ocorrer em sua plenitude (STEVENSON, 1993; COSTA, 1996; PARKER, 1996; SILVA et al., 2003).

A osteoindução é a capacidade do material de recrutar e estimular células multipotenciais do tecido mesenquimal a se diferenciarem em células osteogênicas. Este processo não é inteiramente conhecido, entretanto, sabe-se que a matriz e as células ósseas por ação da proteína morfogênica óssea (BMP) e de outras, estimulam esta função (STEVENSON, 1993; COSTA, 1996; PARKER, 1996).

A osteogênese envolve a formação de tecido no local da implantação, sendo necessário que células ósseas vivas sejam transplantadas com o enxerto. Esta característica é a única dos enxertos autógenos esponjosos colhidos a fresco, que permite a nutrição das células por difusão e micro anastomoses entre os vasos da região e do enxerto (STEVENSON, 1993; COSTA, 1996; PARKER, 1996).

2.2 BIOMATERIAIS

É importante que se faça distinção entre enxertos e implantes. O enxerto, ou transplante, é tecido ou órgão vivo, pois contém células do doador e, portanto, espera-se que sobreviva na região receptora. Já o implante, ao contrário, é material sem vitalidade (BAUER & MUSCHLER, 2000).

Apesar dos enxertos ósseos autólogos serem amplamente aceitos como padrão para o tratamento de defeitos ósseos, os implantes homólogos e heterólogos, e os substitutos ósseos sintéticos foram amplamente estudados como alternativa (CANCIAN et al., 1999; LUDWIG et al., 2000; CORDIOLO et al., 2001; VON ARX et al., 2001).

Biomaterial é definido como uma ou a combinação de duas ou mais substâncias, de natureza sintética ou natural, que pode ser utilizado por um período de tempo para melhorar, aumentar ou substituir, parcial ou inteiramente, tecidos ou órgãos (PARK, 1984). Os naturais ou biológicos incluem os biopolímeros tais como colágenos, seda, queratina, polissacarídeos ou mesmo tecidos como o pericárdio de bovinos. Os sintéticos podem ser compostos por metais e suas ligas, polímeros, cerâmicas e compósitos (ZAVAGLIA et al., 1986).

Segundo Boschi (1996), para que os biomateriais consigam realizar as funções para as quais foram desenvolvidos, precisam possuir pelo menos duas propriedades importantes: a biocompatibilidade e a biofuncionalidade. A primeira é a capacidade do 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 aquela que está substituindo.

Para Hench (1993), biocompatibilidade não é apenas a ausência de rejeição, mas envolve a interação entre o substituto ósseo e o tecido adjacente. Deste enfoque, surgiram os conceitos de bioinércia e bioatividade. Bioinerte é aquele material que quando implantado não sofre rejeição. Bioatividade é a capacidade do biomaterial em interagir com células e tecidos e induzir atividade biológica específica no corpo, refletida

na união entre o material e o tecido vivo, cujo resultado é o reparo ou regeneração tecidual (HENCH et al., 1971; BRINK, 1997; XYNOS et al., 2000; GORUSTOVICH et al., 2002).

O cimento aluminoso, em fase de testes e patentes, possui características importantes quando comparado aos mais utilizados em Endodontia e Ortopedia. Dentre estas vantagens, o menor tempo de endurecimento (ou pega), maior resistência mecânica que o torna um aliado em potencial na recuperação de grandes falhas ósseas ou ainda em casos de não união e neoplasias (PANDOLFELLI et al., 2008).

2.2.1 CIMENTO À BASE DE ALUMINATO DE CÁLCIO

A busca por biomateriais de nova geração contribui para a formação de equipes multidisciplinares capazes de aceitar o desafio de desenvolver produtos que satisfaçam às especificidades das áreas médica e odontológica do nosso país. Foi assim que surgiram as pesquisas para adaptação de uma formulação cimentícia à base de aluminato de cálcio capaz de ser utilizada como biomaterial, inicialmente na Universidade Federal de São Carlos, que posteriormente transferiu a tecnologia para a empresa Binderware Biomateriais Ltda, uma “spin-off” cujo objetivo é inovar para ter competitividade. A formulação, a princípio, fora voltada para aplicação na odontologia, mais especificamente na endodontia, tendo alcançado desempenho suficiente para se transformar em alternativa para o agregado de trióxidos minerais (MTA), o cimento endodôntico mais usado na atualidade. As vantagens do cimento à base de aluminato de cálcio frente ao MTA são:

- menor tempo de endurecimento;
- coloração naturalmente branca (próxima à estrutura dental), além da ausência de elementos que causam o escurecimento do dente, como ocorre quando se usa o MTA (JACOBOVITZ & LIMA, 2008);
- melhor desempenho mecânico: 80MPa de resistência à compressão contra os 40MPa do MTA;

- porosidade reduzida e menor dimensão dos poros próprios do material, o que garante uma barreira contra a microinfiltração bacteriana, em adição a alcalinidade que torna o meio inóspito ao crescimento de colônias na superfície do material (JACOBOVITZ et al., 2009).

Além dessa caracterização físico-química, outros predicados indicam que o cimento à base de aluminato de cálcio pode ser explorado em áreas biomédicas em adição à odontológica. De acordo com resultados preliminares¹ do Prof. Paulo Tambasco de Oliveira, do Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia da USP de Ribeirão Preto, a exposição de células osteogênicas primárias ao cimento de aluminato de cálcio resulta em valores significativamente maiores no número total de células, na viabilidade celular e na atividade de fosfatase alcalina, quando comparados aos observados nas culturas primárias expostas ao MTA.

Diante dessas premissas, e da definição de biomaterial, a Binderware e a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal firmaram convênio, via Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão (FUNEP), para explorar o cimento à base de aluminato de cálcio para as necessidades clínicas ortopédicas veterinárias. A primeira etapa desse propósito passa pelo estudo da biocompatibilidade e do potencial osteoindutor e osteocondutor deste em defeitos ósseos induzidos em fêmures de coelhos, objetivo desse trabalho.

Os resultados esperados projetam o desenvolvimento de um cimento ortopédico inorgânico capaz de se transformar numa alternativa para aquele mais utilizado na atualidade, o polimetilmetacrilato (PMMA). O PMMA é um polímero com rápido endurecimento, porém, com elevado calor de reação: pode alcançar temperaturas acima de 100 °C, o que dificulta sua aplicação e em alguns casos provoca necrose dos tecidos adjacentes (PUTNEY et al., 1983; YAMAZOE et al., 1994). Em contraponto, o cimento à base de aluminato de cálcio adquire resistência mecânica adequada, ao ser empregado em ortopedia pela simples reação com água e sem liberação significativa de calor, predicados que poderão aumentar as chances de sucesso no mercado.

¹ Comunicação pessoal

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Hospital Veterinário Governador “Laudo Natel” e no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV)- UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados 12 animais da espécie leporina (*Oryctolagus cuniculus*; Lilljeborg, 1874), raça Nova Zelândia Branco, adultos jovens, machos, não castrados, com peso corpóreo médio de 3,5Kg provenientes do biotério da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Câmpus de Botucatu.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com dimensões de 80 x 50 x 35cm, com ração comercial², própria para a espécie, e água “*ad libitum*”.

Os coelhos foram distribuídos, aleatoriamente, em três grupos experimentais com quatro animais cada, correspondentes aos tempos de observação do pós-operatório de 15 (G15), 30 (G30) e 60 (G60) dias.

3.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, sob o protocolo nº 006693-09, de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal, adotado pelo Colégio de Experimentação Animal (COBEA).

O trabalho também seguiu as Normas da ASTM International (American Society for Testing and Materials) seguindo o Standard Practice for Assessment of Compatibility

² Purina, Linha Natural Coelhos, Caixa Postal 21100, CEP 04602-970

of Biomaterials for Surgical Implants with Respect to Effect of Materials on Muscle and Bone (2004).

3.3 CIMENTO DE ALUMINATO DE CÁLCIO

O cimento de aluminato de cálcio foi cedido pela empresa Binderware Biomateriais Ltda, de São Carlos/SP. Sua composição química básica constitui-se de Al_2O_3 ($\geq 68,5\%$), CaO ($\leq 31\%$), SiO_2 (0,3-0,8%), MgO (0,4-0,5%) e Fe_2O_3 ($< 0,3\%$). A formulação cimentícia usada neste estudo é composta de cimento aluminoso e aditivos específicos, tais como aceleradores de endurecimento, plastificante, dispersante e radiopacificador – conforme preconizam as reivindicações da patente original (PANDOLFELLI et al., 2008).

A amostra foi mantida em tubos de ensaio contendo dez gramas cada e passou pelo processo de esterilização em estufa à 100°C por duas horas.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

3.4.1 PRÉ-OPERATÓRIO

Os coelhos não foram submetidos a jejum alimentar e hídrico, visto que tal procedimento não é necessário nesta espécie, já que raramente apresentam emese (FLECKNELL et al., 2007). Como medicação pré anestésica associou-se acepromazina 1%³, na dose de 0,3mg/kg e cloridrato de tramadol⁴, na dose de 4mg/kg, por via intramuscular (IM). Após 20 minutos, realizou-se a indução anestésica com isoflurano⁵ por meio de máscara facial (Figura 1A) e CAM de 2,5% até que o animal perdesse o reflexo laringotraqueal e fosse intubado com sonda de Magill número 2,5 (Figura 1B),

³ Acepran a 1% - Univet S.A. R. Clímaco Barbosa, 700. São Paulo - SP

⁴ Tramal 100mg/2mL – Pfizer Av. Monteiro Lobato, 2270. Guarulhos - SP

⁵ Forane – Abbott Laboratórios do Brasil. Rio de Janeiro - RJ

mantendo circuito sem reinalação de gases. Nestas condições foi feita tricotomia ampla dos membros pélvicos, até o joelho, e ao redor do espaço lombossacro (Figura 1C).

Assim, o animal foi colocado em decúbito lateral direito para a realização da anestesia epidural, no espaço lombossacro (L7-S1), utilizando-se cloridrato de lidocaína⁶ sem vasoconstritor na dose de 0,7mL por coelho (Figura 1D, E e F). Na sequência, foi efetuada antissepsia com álcool, clorexidine 2% e álcool.

⁶ Xylestesin a 2% - Cristália, Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda. Itapira - SP

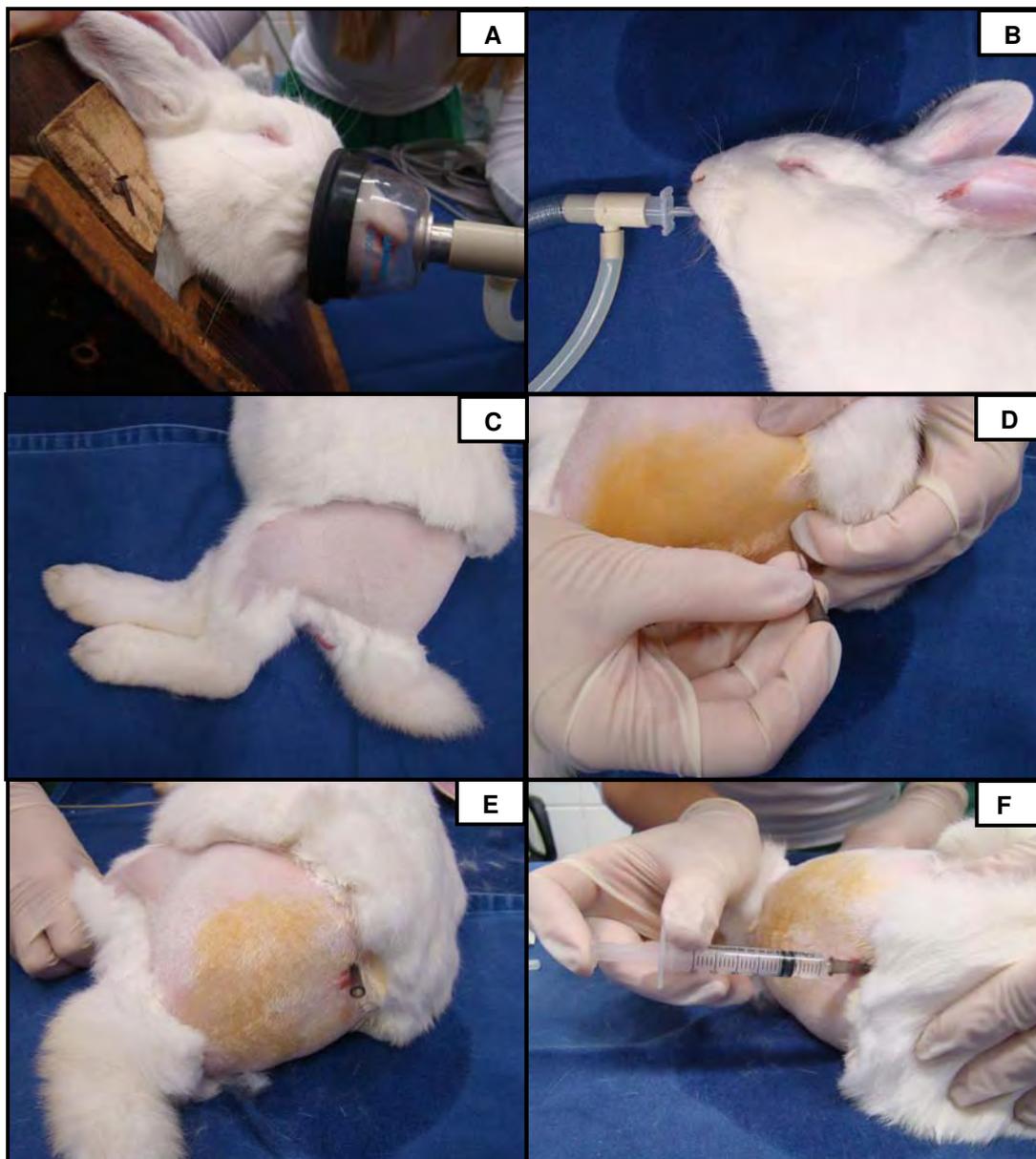


Figura 1. Imagem fotográfica do procedimento anestésico em coelho neozelandese adulto jovem. A: posição da máscara para indução anestésica; B: animal intubado com sonda orotraqueal 2,5; C: tricotomia ampla de parte dos membros pélvicos e da área para anestesia regional epidural; D: posicionamento da agulha 25X7 para introdução no espaço lombossacro; E e F: agulha no espaço intervertebral.

3.4.2 TRANS-OPERATÓRIO

Com os membros pélvicos tricotomizados e antissépticamente preparados para a cirurgia, foram colocados panos de campo para delimitação do sítio operatório (Figura 2A) e realizada incisão de pele de aproximadamente dez centímetros ao longo da margem craniolateral da coxa (Figura 2B). Por extensão, foi incisada a camada superficial da fáscia lata ao longo da margem cranial do músculo bíceps femoral (FOSSUM, 1997), feita a elevação periosteal com deslocador e rotação do membro para exposição da face cranial do fêmur (Figura 2C e D). Prosseguiu-se com de duas perfurações no terço médio da diáfise dos fêmures direito e esquerdo. A distância entre elas foi de aproximadamente 1,5cm com profundidade até a segunda cortical do osso. Para tanto, utilizou-se perfuratriz com broca de aço cirúrgico de 3,57mm, sob pressão manual e irrigação contínua com solução salina a 0,9%. O procedimento foi feito primeiramente do lado direito e posteriormente no esquerdo.

Após confecção das perfurações, estas foram lavadas com solução fisiológica 0,9% para retirada de fragmentos ósseos. No fêmur direito os orifícios foram preenchidos com o cimento aluminoso (Figura 2E) e os do lado esquerdo, apenas coágulo sanguíneo (Figura 2F). Para preparação do cimento de aluminato de cálcio, misturou-se 10g de pó e 2,4mL de água destilada, e durante a fase borrachóide foi implantado nos orifícios. A sutura da fáscia lata e da pele foram realizadas com náilon 3-0⁷ e, ponto simples contínuo e colchoeiro, respectivamente.

⁷ Mononylon Ethicon 3-0 – Johnson & Johnson Medical Devices & Diagnostics Group. Brasil

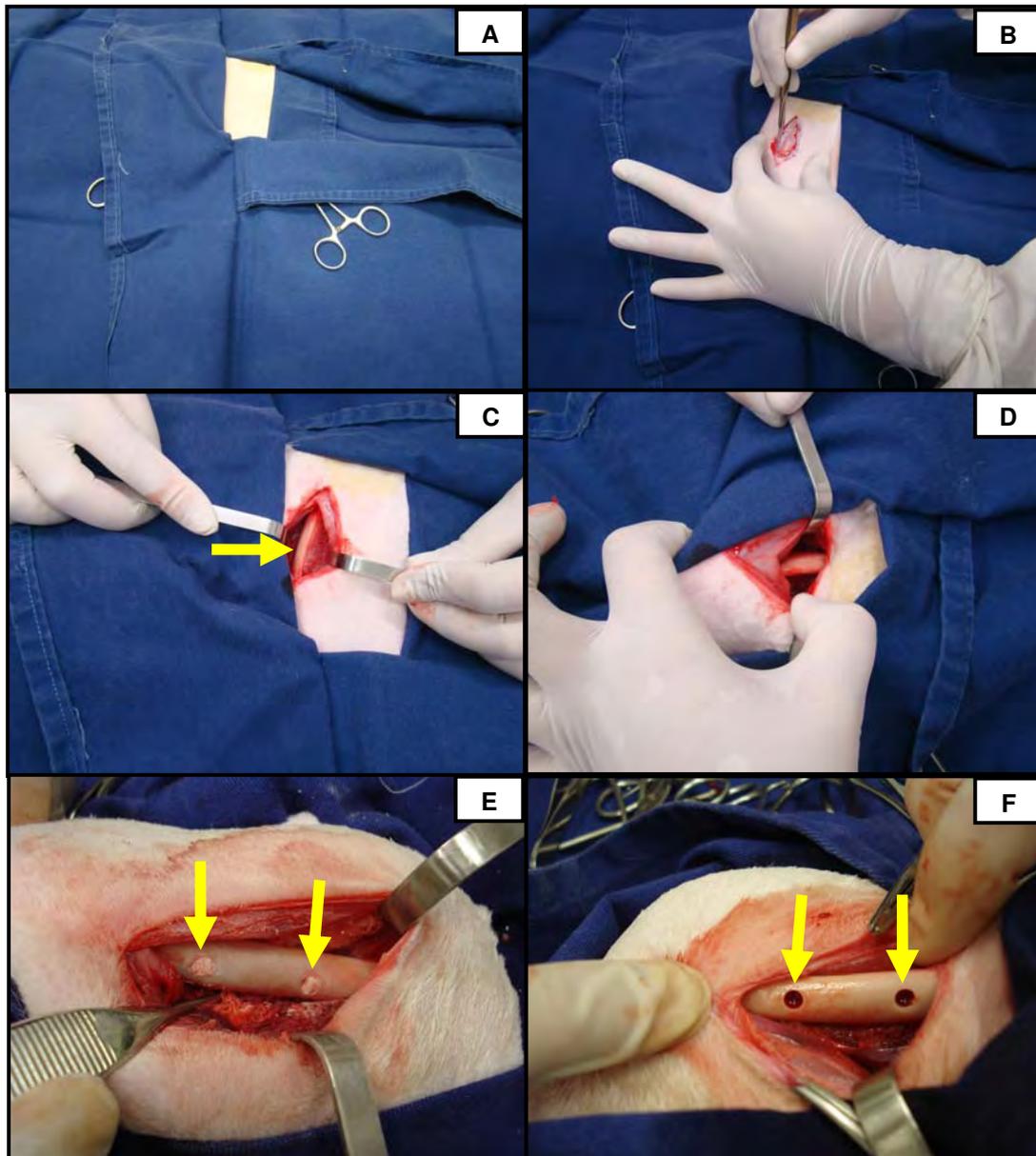


Figura 2. Imagem fotográfica do procedimento cirúrgico. A: sítio cirúrgico delimitado por panos de campo; B: incisão de pele; C: face cranial do fêmur com elevação do periósteo (seta); D: face cranial do fêmur evidenciada após rotação do membro; E: fêmur direito com os orifícios preenchidos com o cimento aluminoso (setas); F: fêmur esquerdo com as perfurações preenchidas com coágulo (setas).

3.4.3 PÓS-OPERATÓRIO

Após recuperação anestésica, os animais já tinham a disposição ração sólida e água “*ad libitum*”.

Logo após o término do procedimento cirúrgico iniciou-se a antibioticoterapia com enrofloxacina⁸, na dose de 5mg/kg e analgesia com cloridrato de tramadol na dose de 4mg/kg, ambos por via subcutânea (SC), a cada 12 horas durante cinco dias e até remoção dos pontos curativo tópico diário com iodo povidine.

3.4.4 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Feita a cada 12 horas até o momento da eutanásia, a fim de se verificar qualquer manifestação anormal na ferida cirúrgica e eventual claudicação no decorrer do tempo de avaliação.

3.3.5 AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA

Os animais, de acordo com o grupo experimental tiveram seus membros pélvicos (direito e esquerdo) radiografados, nas projeções craniocaudal, mediolateral e lateromedial, logo após o término da cirurgia, no décimo quinto, trigésimo, e sexagésimo dia. Utilizou-se aparelho de Raios-X marca Siemens, modelo tridoros 812E com capacidade para 800mA, equipado com grade antidifusora Polter-Bucky, empregando-se filme TGM/RA montado em chassi metálico com écrans intensificador Lanex Regular. A revelação dos filmes, previamente identificados por impressão luminosa, foram realizadas em processadora automática modelo Kodak X-OMAT 2000 Processor.

⁸ Baytril injetável 5% - Bayer Pet. Brasil

A classificação radiográfica teve como base o sistema modificado de Rezende et al. (1998), apresentada no quadro a seguir. Este modelo baseou-se na observação da perfuração e da cortical.

Quadro 1. Sistema de classificação radiográfica modificada de Rezende et al. (1998).

Formação óssea	Escore
Radiolucente	-
Radiopacidade discreta	+
Radiopacidade moderada	++
Radiopacidade média	+++
Radiopacidade máxima	++++
Regeneração óssea	+++++

Essa avaliação foi realizada no Setor de Radiologia, do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, S.P. (FCAVJ/UNESP).

3.3.6 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

Para avaliações macro e microscópicas, os animais de cada grupo foram eutanasiados em tempos distintos (15, 30 e 60 dias). Para esse procedimento utilizou-se dose alta de propofol (15mg/kg)⁹ associada a 20mL de cloreto de potássio¹⁰, ambos por via intravenosa (IV), procurando evitar qualquer tipo de desconforto.

Em seguida, os fêmures direito e esquerdo de cada coelho foram expostos e os orifícios investigados quanto à falha na implantação do biomaterial e também formação de calo ósseo ao redor do cimento aluminoso e sobre as perfurações com coágulo.

⁹ DIPRIVAN-ZENECA Farmacêutica do Brasil Ltda - São Paulo, SP, Brasil.

¹⁰ Cloreto de Potássio Solução – ARISTON. Rua Adherbal Stresser, 84 – São Paulo – SP.

3.3.7 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Feita avaliação macroscópica, foram retirados fragmentos do osso hospedeiro no local das perfurações e estes foram fixados em formalina 10%, após foram lavados em água corrente e descalcificados em ácido tricloroacético a 20%. Posteriormente, os fragmentos foram desidratados em etanol, diafanizados em xilol, incluídos em Histosec^{®11} (Merck), como de rotina, e seccionados em cortes de 5µm em micrótomo automático (Leica, RM 2155). As lâminas foram coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (H.E.) segundo De Tolosa et al. (2003) e o material examinado ao microscópico de luz, a fim de se observar as interações das interfaces osso/implante e as diferenças entre o grupo tratado e o controle.

As melhores preparações foram fotodocumentadas em microscópio de luz Leica DM 5000 B para análise histológica.

4. RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Durante o procedimento cirúrgico não ocorreram complicações que pudessem alterar os resultados.

Todos os indivíduos apresentaram bom estado geral, ausência de infecção ou alterações que pudessem ser atribuídas ao biomaterial utilizado. Alguns animais claudicaram logo após o procedimento cirúrgico e foram substituídos, em consequência de fraturas próximas ao local das perfurações. Os coelhos substitutos e os demais não mostraram claudicação em nenhum momento, exibindo função normal dos membros logo após o término do efeito anestésico geral e epidural.

¹¹ Merck KGaA. 64271 Darmstadt, Germany

4.2 AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA

As radiografias sequenciais, de logo após a cirurgia (Figura 3A e B), 15, 30 e 60 dias, dos fêmures controle (esquerdo) de todos os animais revelaram aumento de radiopacidade no local da perfuração (Figura 4), devido à reparação óssea, ao passo que nos membros tratados (direito) a radiopacidade manteve-se inalterada durante todo período de avaliação (Figura 4), entretanto ocorreu formação óssea sobre o cimento aluminoso, preenchendo totalmente a camada cortical onde o defeito foi provocado.

Utilizando o sistema de classificação modificada de Rezende et al. (1998), foram observados os resultados descritos nas tabelas 1, 2, 3 e 4.

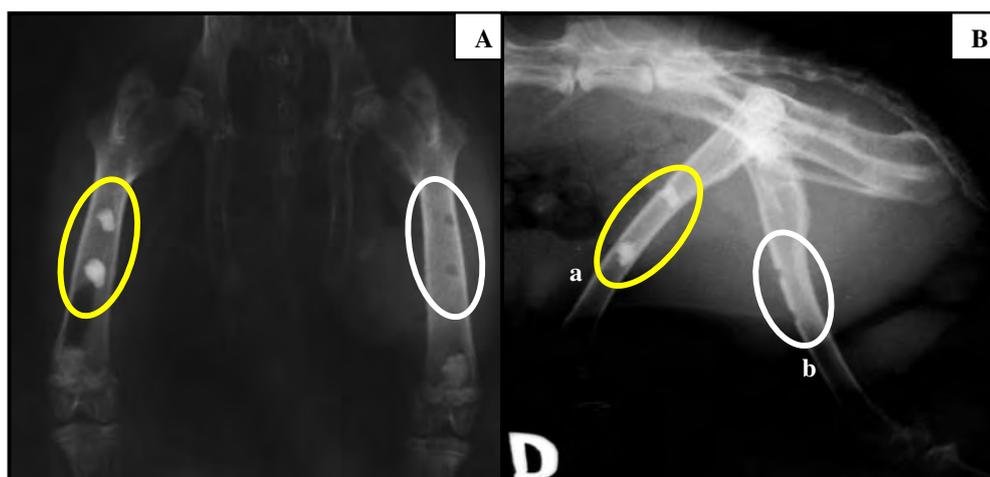


Figura 3. Imagem radiográfica de fêmures de coelhos neozelandeses adultos jovens. A: imagem craniocaudal e B: imagem mediolateral (a) e lateromedial (b). Evidencia-se no fêmur direito duas perfurações preenchidas por cimento aluminoso (elipse amarela) e no esquerdo, dois orifícios vazios (elipse branca).

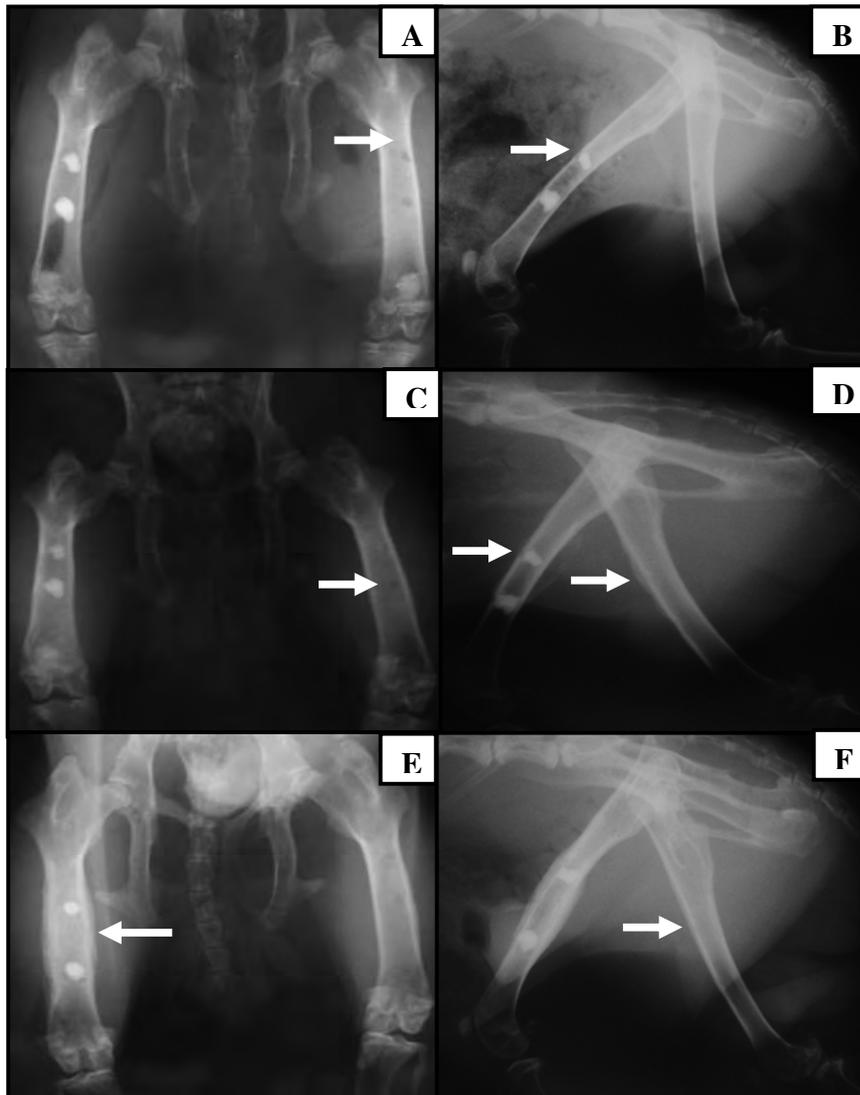


Figura 4. Imagem radiográfica de fêmures de coelhos neozelandeses adultos jovens. A e B: G15 com ambos os membros contendo orifícios abertos (setas); C e D: G30 onde se observa o início do fechamento dos orifícios (setas); E e F: G60, com calo exuberante ao redor do cimento aluminoso (seta) e fechamento quase completo dos orifícios preenchidos por coágulo (seta).

Tabela 1. Avaliação radiológica do defeito ósseo, produzido no fêmur direito (tratado) e esquerdo (controle) de coelhos do grupo 15 dias. UNESP/Jaboticabal, 2010.

Animais	Tempo após cirurgia (dias)			
	0		15	
	Fêmur			
	Tratado	Controle	Tratado	Controle
1	++++	-	++++	+
2	++++	-	++++	+
3	++++	-	++++	++
4	++++	-	++++	-

(-): radioluciente; (+): radiopacidade discreta; (++): radiopacidade moderada; (+++): radiopacidade média; (++++): radiopacidade máxima; (+++++): regeneração óssea.

Tabela 2. Avaliação radiológica do defeito ósseo, produzido no fêmur direito (tratado) e esquerdo (controle) de coelhos do grupo 30 dias. UNESP/Jaboticabal, 2010.

Animais	Tempo após cirurgia (dias)					
	0		15		30	
	Fêmur					
	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle
1	++++	-	++++	+	++++	+++++
2	++++	-	++++	+	++++	+++
3	++++	-	++++	+	++++	+++
4	++++	-	++++	+	++++	++

(-): radioluciente; (+): radiopacidade discreta; (++): radiopacidade moderada; (+++): radiopacidade média; (++++): radiopacidade máxima; (+++++): regeneração óssea.

Tabela 3. Avaliação radiológica do defeito ósseo, produzido no fêmur direito (tratado) e esquerdo (controle) de coelhos do grupo 60 dias. UNESP/Jaboticabal, 2010.

animais	Tempo após cirurgia (dias)							
	0		15		30		60	
	Fêmur							
	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle
1	++++	-	++++	+	++++	+	++++	+
2	++++	-	++++	+	++++	+++++	++++	+++++
3	++++	-	++++	+	++++	++	++++	+++
4	++++	-	++++	+	++++	+	++++	++

(-): radioluciente; (+): radiopacidade discreta; (++) : radiopacidade moderada; (+++): radiopacidade média; (++++): radiopacidade máxima; (+++++): regeneração óssea.

Tabela 4. Avaliação radiológica do defeito ósseo (cortical), produzido no fêmur direito (tratado) e esquerdo (controle) de coelhos do grupo 60 dias. UNESP/Jaboticabal, 2010.

animais	Tempo após cirurgia (dias)							
	0		15		30		60	
	Fêmur							
	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle
1	-	-	-	+	-	+	+	+
2	-	-	+	+	+++++	+++++	+++++	+++++
3	-	-	++	+	++	++	+++	+++
4	-	-	-	+	+	+	++	++

(-): radioluciente; (+): radiopacidade discreta; (++) : radiopacidade moderada; (+++): radiopacidade média; (++++): radiopacidade máxima; (+++++): regeneração óssea.

4.3 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

Não se observou sinais macroscópicos de rejeição ou falhas no implante, nem de inflamação ou secreções.

Aos 15 dias de pós-operatório, em todos os animais, nos orifícios que permaneceram vazios foram encontradas pequenas reações ósseas ao redor ou sobre as aberturas produzidas (Figura 5A), já nos membros tratados não havia reação óssea (Figura 5B). No G30, no membro controle, em três animais os defeitos já estavam totalmente fechados (Figura 5C) e, em dois coelhos, nos defeitos preenchidos por cimento aluminoso, era perceptível uma fina camada óssea sobre o material cimentício (Figura 5D). Por fim, no G60, as perfurações repletas de coágulos estavam perfeitamente fechadas, com remodelamento do fêmur (Figura 5E). No fêmur contralateral, apenas um animal exibiu reação óssea exuberante sobre os orifícios repletos do cimento à base de aluminato de cálcio (Figura 5F), enquanto os outros membros tratados apresentavam as perfurações totalmente preenchidas por tecido novo.

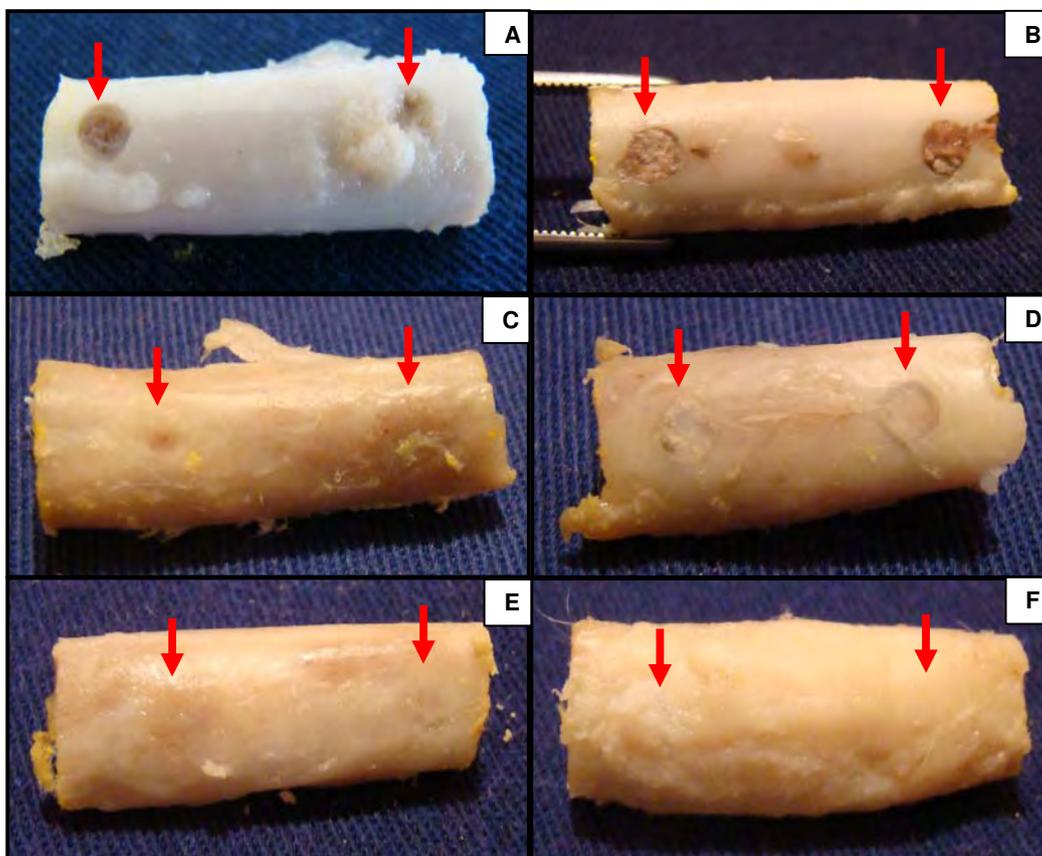


Figura 5. Imagem fotográfica do aspecto macroscópico dos segmentos de fêmures de coelhos neozelandeses adultos jovens. A: fêmur controle do G15, onde nota-se pequenas formações ósseas sobre e ao redor dos orifícios (setas); B: fragmento do fêmur tratado do G15, onde não se observa formação óssea sobre o cimento (setas); C: os orifícios fechados em G30 (setas); D: formação de uma fina camada óssea sobre o cimento ósseo em G30 (setas); E: os orifícios controle completamente fechados do G60 (setas); F: calo exuberante formado sobre o biomaterial em G60.

4.4 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Nas lâminas do G15, nas perfurações que preenchidas por coágulo havia início da ossificação endocondral, ou seja, presença de fibras colágenas dispostas em várias

direções sem organização definida e grande quantidade de osteócitos, afirmando a presença de tecido ósseo primário ou imaturo (Figura 6A). Nos orifícios preenchidos com cimento de aluminato de cálcio não apresentaram formação óssea no interior do biomaterial, somente reação inflamatória ao redor do mesmo (Figura 6B).

No G30, no membro controle (esquerdo), encontrou-se o defeito praticamente preenchido por tecido ósseo secundário ou maduro, no qual as fibras colágenas estavam organizadas em lamelas dispostas em camadas concêntricas em torno dos canais com vasos, formando os sistemas de Harvers (Figura 6C). Neste tipo de tecido, os osteócitos estavam presentes em menor número comparado ao osso imaturo. No membro contralateral, notou-se aumento da reação inflamatória com grande número de células polimorfonucleares, ainda sem qualquer reação no interior do biomaterial implantado (Figura 6D).

O grupo avaliado aos 60 dias apresentou, no membro controle, osso compacto lamelar, indicando a finalização da troca de tecido ósseo primário para secundário (Figura 6E) e, no tratado (direito), invasão de células ósseas na periferia do cimento aluminoso (Figura 6F).

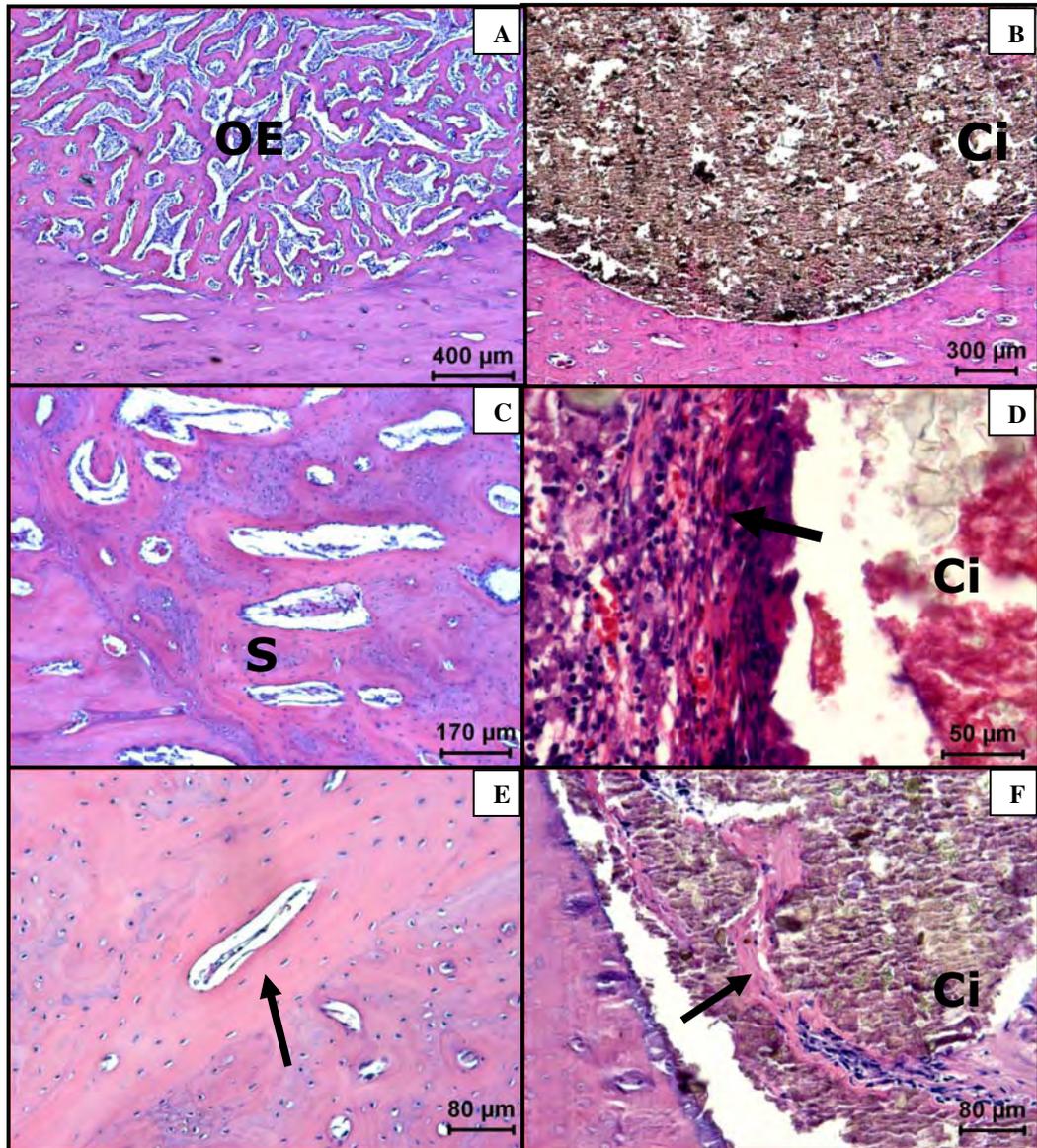


Figura 6. Fotomicrografia dos cortes histológicos de fêmures de coelhos neozelandeses adultos jovens. A: início da ossificação endocondral (OE) em orifício não tratado do G15; B: orifício tratado do G15 sem formação óssea no interior do cimento (Ci); C: orifício controle do G30 preenchido por tecido ósseo secundário (S); D: reação inflamatória (seta) na periferia do cimento aluminoso (Ci) do G30; E: tecido ósseo secundário com a presença de sistema de Harvers (seta); F: invasão de células ósseas (seta) na periferia do cimento aluminoso (Ci) (Hematoxilina-Eosina; A e B 5X, C 10X, D 40X, E e F 20X).

5. DISCUSSÃO

Na prática ortopédica, frequentemente, o cirurgião se depara com perda substancial de tecido ósseo, de diversas causas, sendo necessária a aplicação de enxertos ou implantes. Ossos, metais e polímeros são os materiais mais comumente empregados, entretanto nenhum deles se destaca como o ideal, além das limitações impostas na sua utilização (MORAES , 2002). É sabido que a melhor escolha recai sobre o tecido ósseo autógeno, pois possui células vivas que estimulam a osteogênese. No entanto, suas desvantagens incluem o aumento do tempo operatório, dificuldade de conformação exata ao defeito e quantidade insuficiente de osso para a restauração (CONSTANTINO et al., 1991; MUNTING et al., 1993; KURASHINA et al., 1998; WEINFELD, 1999).

O presente estudo avaliou a eficiência do aluminato de cálcio como substituto ósseo, no intuito de usá-lo na rotina da cirurgia ortopédica, visto que sua biocompatibilidade já fora comprovada em testes realizados na Odontologia (PANDOLFELLI et al., 2008). A principal vantagem deste biomaterial é o menor tempo de endurecimento, aliado a maior resistência mecânica, quando comparado com outros materiais já destinados para este fim (PANDOLFELLI et al., 2008; JACOBOVITZ et al., 2009).

Selecionou-se o coelho como modelo experimental, por ser um animal de fácil obtenção e manejo, além de ser o menor mamífero, quando comparado aos roedores habitualmente utilizados em pesquisas, a possuir dimensões femorais suficientes para o estudo de implantes, o que permite induzir defeitos ósseos maiores (GUIRRO, 1995; CARRO, 1998; MORAES, 2002; ARINZEH et al., 2003; CROCI et al., 2003; DEL CARLO et al., 2003; SILVA et al., 2003; SOUSA, 2003; BETTI, 2004; FIGUEIREDO et al., 2004; MORAES et al., 2004; LEITE, 2005; MELO et al., 2005; ORIÁ, 2005).

O osso utilizado para a criação dos defeitos neste trabalho foi o fêmur, assim pudemos empregar a anestesia epidural, além de medicação pré-anestésica e agentes inalatórios, o que, corrobora o relatado por Intelizano et al. (2002), que isto diminui as

complicações trans-operatórias, devido ao menor consumo de agentes voláteis. Nesta espécie, como é estreita a margem de segurança entre o plano anestésico e o óbito (KALLAS et al., 2001), é de fundamental importância que o protocolo aplicado seja o mais seguro possível, como o deste estudo, que resultou em nenhuma intercorrência neste aspecto.

Assim como no trabalho de Betti (2004), nesta pesquisa optou-se pela confecção de defeito não crítico e com remoção de apenas uma cortical na face cranial da diáfise do fêmur, o qual este que teria reparação natural. A expectativa com a utilização do cimento de aluminato foi a aceleração deste processo. Além disso, o não envolvimento da segunda cortical evitou o extravasamento do biomaterial e impediu que o osso ficasse muito fragilizado, causando fraturas.

Os animais, durante o período de avaliação pós-operatória, não apresentaram nenhuma reação tecidual adversa. Tiveram excelente regeneração da ferida cirúrgica e ausência de complicações, como claudicação, corroborando Moraes (2002).

As radiografias sequenciais (0, 15, 30 e 60 dias) dos fêmures controle de todos os animais revelaram aumento da radiopacidade diretamente proporcional aos tempos de avaliação da reparação óssea. Aos 60 dias era possível identificar, radiograficamente, apenas a silhueta do defeito. Este fato corrobora os achados de outros autores, com diversos materiais em sítios ósseos diferentes (BORGES, 1998; REZENDE et al., 1998; FEHLBERG, 2001; VITAL et al., 2006; MORAES et al., 2007).

Nos defeitos preenchidos com o cimento de aluminato foi visibilizada radiopacidade maior do que a do osso normal, que permaneceu inalterada durante todo período de avaliação pós-operatória. É importante ressaltar que, mesmo com maior lentidão, houve a reparação da superfície periostal do defeito, sugerindo que a presença do biomaterial estivesse impedindo a circulação de células no local. Estes resultados confrontam os de Rezende et al. (1998), Vital et al. (2006) e Freitas et al. (2008), que encontraram redução gradativa da radiopacidade nos materiais por eles testados.

Na avaliação macroscópica, nos membros preenchidos apenas por coágulos, houve o fechamento progressivo dos orifícios por tecido ósseo, semelhante ao descrito

por Andrade (1997), Jacques et al. (2004) e Ribeiro et al. (2004). Já nos membros tratados, este recobrimento se deu com menor intensidade, como aconteceu com Andrade (1997), em estudo com hidroxiapatita em fêmur de ratos. Em contrapartida, Sato & Urist (1985) e Monteiro et al. (2007) verificaram a superioridade de preenchimento ósseo nos defeitos que receberam proteína morfogenética óssea (BMP) em relação ao controle, em calvária de cães e coelhos.

À histologia, aos 15 dias de observação nos orifícios vazios foi evidenciada formação de tecido ósseo primário, gradualmente substituído por secundário ou maduro aos 30 e 60 dias, sendo neste último totalmente preenchido. Estes resultados divergem dos encontrados por Ignácio et al. (2002), em seu grupo controle, com formação de tecido conjuntivo fibroso em seu interior, sem neoformação óssea, mesmo aos 12 meses de observação. Estes mesmos resultados foram verificados, em 1982, por Santos Neto e, posteriormente, por Ignácio et al. (1997), que também não obtiveram consolidação de falhas ósseas extensas produzidas em cães e coelhos, respectivamente, quando deixadas vazias. Entretanto, se assemelham aos resultados descritos na literatura por vários autores que trabalharam com defeitos não críticos, como os do presente trabalho (BORGES, 1998; FRANCO, 2000; FEHLBERG, 2001; PRADO et al., 2006; VITAL et al., 2006). Com base nesses achados divergentes, nota-se que a reparação óssea acontece de forma natural dependendo do tamanho do defeito.

Em contrapartida, nos defeitos tratados não foi encontrada formação óssea no interior do cimento aluminoso, nos 15 e 30 dias de pós-operatório, e somente aos 60 dias foi possível identificar uma discreta invasão de tecido ósseo. Este retardo, se comparado aos orifícios vazios, pode ser explicado pela reduzida porosidade e pela dimensão dos poros característicos do material. Moraes et al., (2004) obtiveram resultados semelhantes quando da utilização do cimento de fosfato de cálcio e relacionaram os achados com o menor tempo de endurecimento e maior resistência mecânica.

A presença do infiltrado inflamatório durante mais tempo ao redor dos defeitos preenchidos com o cimento de aluminato de cálcio pode ser explicada pela tentativa de

reparo do hospedeiro, visto que a inflamação é uma das etapas da consolidação óssea (PHILLIPS, 2005; SOJO et al., 2005). Ademais, a já citada baixa porosidade também pode ter dificultado este processo.

Dependendo do objetivo para a utilização deste tipo de material, a porosidade é relevante. Para que a resistência seja alta, os poros devem ser poucos e de tamanho reduzido. Desta forma, a infiltração do material por células do hospedeiro fica prejudicada, quando não impedida. Por outro lado, tais propriedades garantem uma barreira contra a microinfiltração bacteriana, em adição a alcalinidade que torna o meio inóspito ao crescimento de colônias na superfície do material. Portanto, para a Odontologia, estes atributos são importantes, pois promovem o selamento das cavidades endodônticas (JACOBOVITZ et al., 2009). Já na ortopedia, é indispensável que haja penetração celular no implante, para que este possa ser considerado biomaterial osteocondutor ou ainda, osteoindutor, havendo a osteointegração. Assim, provavelmente, os resultados poderiam ter sido diferentes caso a porosidade fosse maior, mesmo prejudicando a resistência mecânica.

6. CONCLUSÕES

Assim, com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- Os animais não apresentaram nenhuma alteração geral que pudesse ser atribuída à utilização do cimento;
- A reduzida porosidade do material impõe uma barreira física que limita a proliferação de vasos sanguíneos essenciais para o processo de reparação;
- O cimento de aluminato de cálcio, nesta formulação, não possui potencial osteocondutor, osteoindutor e, conseqüentemente, poder de osteointegração;
- Tempos de observação superiores a dois meses assim como a reformulação do cimento são necessários para melhor avaliar o comportamento do biomaterial nos defeitos ósseos induzidos em fêmures de coelhos.

7. REFERÊNCIAS

ALBAROVA, J.G.; SALINAS, A.J.; BUENO-LOZANO, A.L.; ROMAN, J.; ALDINI-NICOLO, N.; GARCIA-BAREA, A.; GIAVARESI, G.; FINI, M.; GIARDINO, R.; VALLET-REGLI, M. The in vivo behavior of a sol-gel glass and glass-ceramic during critical diaphyseal bone defects healing. **Biomaterials**, Kidlington, v. 26, p. 4374-4382, 2005.

ANDRADE, J.C.T. **Osteointegração de corpos cerâmicos densos e porosos de hidroxiapatita em cavidades produzidas no fêmur do rato**. 1997. 83f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia, Universidade de Campinas, Campinas, 1997.

ANRIZEH, T.L.; PETER, S.J.; ARCHAMBAULT, M.P.; VAN DE BOS, C.; GORDON, S.; KRAUS, K.; SMITH, A.; KADIYALA, S. Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical size canine segmental defect. **Journal of bone and Joint Surgery American**, v. 85-A, n. 10, p. 1927-1935, 2003.

BAUER, T.W.; MUSCHLER, G.F. Bone graft materials: an overview of the basic science. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 371, p. 10-27, 2000.

BETTI, L. V. **Análises microscópica e radiográficas do reparo ósseo de defeitos confeccionados em fêmures de coelhos preenchidos com matriz óssea bovina medular em bloco ou cortical em microgrânulos**. 2004. 152 f. Tese (doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2004.

BORGES, A.P.B. **O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço proximal da tíbia de cães: estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico por microscopia de luz e microscopia**

eletrônica de retrodispersão. 1998. 112 f. Tese (Doutorado)- Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1998.

BOSCHI, A. O. O que é necessário para que um material possa ser considerado um biomaterial? In: Seminário Regional de Biomateriais 1, 1996, Santa Catarina. **Anais**, Santa Catarina: UDESC, 1996. p. 4-16.

BRAUN, W. et al. Die Plattenosteosynthese zur Behandlung offener Femurschaftfrakturen. **Akt. Traumatol**, v. 21, p. 189-193, 1991.

BRINK, M. **Bioactive glasses with a large working range.** 1997. 48 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Abo Akademi University, Finlândia, 1997.

CAMPOS, S.D.; CAMPOS, É.A.; SILVEIRA, C.B.; BINI, R.A. Biomateriais à base de Na₂O-CaO-SiO₂-P₂O₅ preparados com serragem e com glucose de milho: influência na porosidade e na cristalinidade. **Cerâmica**, São Paulo, v. 51, p. 274-279, 2005.

CANCIAN, D.C.; VIEIRA, E.H.; MARCANTONIO, R.A.C.; MARCANTONIO JÚNIOR, E. Use of BioGran and Calcitite in bone defects: histologic study in monkeys (*Cebus apella*). **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 14, n. 6, p. 859-864, 1999.

CARRO, A.P.M.C. **Uso de matriz óssea desmineralizada associada a estimulação ultra sônica pulsada de baixa intensidade na correção de falha óssea. Estudo experimental em coelhos.** 1998. 49 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 1998.

CLAES, L.; WILLIE, B. The enhancement of bone regeneration by ultrasound. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 93, p. 394-398, 2007.

CONSTANTINO, P. et al. Hydroxyapatite cement, basic chemistry and histologic properties. **Archives Otolaryngology - Head & Neck Surgery**, Chicago, v. 117, 1991.

CORDIOLO, G.; MAZZOCCO, C.; SCHEPERS, E.; BRUGNOLO, E.; MAJZOUN, Z. Maxillary sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement: clinical and histological findings. **Clinical Oral Implants Research**, v. 12, n. 3, p. 270-278, 2001.

COSTA, J. L. O. **Reconstrução de grande falha óssea com enxerto cortical alógeno conservado em glicerina, fixado com placa e parafusos de aço inoxidável da série 304, estudo experimental em cães (*Canis familiaris*)**. 1996. 100 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

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 fêmures de camundongos como estimulação de formação óssea – estudo experimental. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 230-239, 2003.

DEL CARLO, R.J.; KAWATA, D.; VILORIA, M.I.V.; OLIVEIRA, D.R.; SILVA, A.S.; MARQUESI, D.R.; GALVÃO, S.R.; AZEVEDO, P.; MONTEIRO, B.S. Polímero de mamona acrescido de cálcio, associado ou não à medula óssea autógena na reparação de falhas ósseas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 6, p. 1081-1088, 2003.

DE TOLOSA, E.M.C; FREITAS NETO, A.G.; RODRIGUES, C.J.; BEHMER, O.A. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 1. ed. Barueri: Editora Manole, 2003, p. 80

DIMITRIOU, R.; TSIRIDIS, E.; GIANNOUDIS, P.V. Current concepts of molecular aspects of bone healing. **Injury: International Journal of the Care of the Injured**, v. 36, p. 1392-1404, 2005.

EINHORN, T.A. Enhancement of fracture-healing. **Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 77, p. 940-956, 1995.

EINHORN, T.A. The cell and molecular biology of fracture healing. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 355S, p. 7-21, 1998.

FEHLBERG, A.F. **Hidroxiapatita sintética na regeneração de falha óssea provocada em fratura completa de terço intermédio de tibia imobilizada pela fixação percutânea em cães**. 2001. 42 f. Tese (Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

FIGUEIREDO, A.S.; FAGUNDES, D.J.; NOVO, N.F.; INOUE, C.M.; TAKITA, L.C.; SASSIOTO, M.C.P. Osteointegração de osso bovino desvitalizado, hidroxiapatita de coral, poliuretana de mamona e enxerto ósseo autógeno em coelhos. **Acta Cirúrgica Brasileira**; São Paulo, v.19, n.4, 2004.

FLECKNELL, P.A. et al. Laboratory animals. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones' veterinary anesthesia and analgesia**. 4. ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. p. 765-784.

FOSSUM, T.W. **Small animal surgery**. Missouri: Mosby, 1997. p.760-765.

FRANCO, K.L. **Avaliação clínico-cirúrgica, radiológica e histológica da reparação óssea após a utilização de HAP-91, COL.HAP-91 e INT.HAP-91 em defeito provocado experimentalmente na tibia de cães**. 2000. 22 f. Monografia (Especialização)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

FREITAS, S.H.; DÓRIA, R.G.S.; MENDONÇA, F.S.; EVÊNCIO NETO, J.; CAMARGO, L.M. Aspecto radiológico de heteroenxerto ósseo cortical fragmentado na reparação de falhas ósseas em coelhos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 3, p. 107-110, 2008.

GORUSTOVICH, A.; ROSENBUSCH, M.; GUGLIELMOTTI, M. G. Characterization of bone around titanium implants and bioactive glass particles: an experimental study in rats. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 17, n. 5, p. 644-650, 2002.

GUIRRO, R.R.J. **O uso da hidroxiapatita associada a estimulação ultra-sônica pulsada de baixa intensidade na correção de falha óssea. Estudo experimental em coelhos**. 1995. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 1995.

HENCH, L.L.; SPLINTER, R.J.; ALLEN, W.C.; GREENLEE, T.K. Bone mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 2, p. 117-141, 1971.

HENCH, L.L. Characterization of Bioceramics. In: HENCH, L. L.; WILSON, J. **An introduction to biocerâmicas**, Singapore, World Scientific, 1993.

IGNÁCIO, H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C.H.; GILBERTO C. Uso da poliuretana derivada do óleo de mamona para preencher defeitos ósseos diafisários segmentares do rádio: estudo experimental em coelhos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 3, p. 815-821, 1997.

IGNÁCIO, H. MAZZER, N.; BARBIERI, C.H.; CHIERICE, G.O. Avaliação da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 37, n. 5, p. 187-194, 2002.

INTELIZANO, T.R.; SANTOS, P.R.; FUTEMA, F.; OTSUKI, D.A.; ALMEIDA, T.I. Técnicas de anestesia local. In: Fantoni, D. T.; Cortopassi, S. R. G. (Eds.). **Anestesia em cães e gatos**. São Paulo: Rocca, 2002. p. 199-208.

JACOBOVITZ, M., LIMA, R.K.P. Treatment of Inflammatory Internal Root Resorption with Mineral Trioxide Aggregate: a Case Report. **International Endodontic Journal**, v. 41, p. 905-12, 2008.

JACOBOVITZ, M., VIANNA, M.E., PANDOLFELLI, V.C., OLIVEIRA, I.R., ROSSETTO, H.L., GOMES, B.P., Root Canal Filling with Cements Based on Mineral Aggregates: an in vitro Analysis of Bacterial Microleakage. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 108, issue 1, p. 140-144, 2009

JACQUES, J.W.; FAGUNDES, D.J.; FIGUEIREDO, A.S.; INOUE, S.M.; SCAPULATEMPO, R.P.; SASSIOTO, M.C.P. O papel da poliuretana de mamona como substituto do enxerto ósseo autógeno em coelhos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 4, p. 236-241, 2004.

KALLAS, E.; SCHNAIDER, T.B.; JULIANO, Y.; NOVO, N.F.; KALLAS, I.E.; ENGELMAN, M.F.B.; KALLÁS, A.C.; CASTRO, L.F. Modelo de Anestesia em coelhos para procedimento no tórax. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 16. p.65-78, 2001.

KURASHINA, K. et al. Experimental cranioplasty and skeletal augmentation using an α -tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide cement: a preliminary short-term experiment in rabbits. **Biomaterials**, Guildford, v. 19, p. 701-706, 1998.

LEITE, V.L. **Estudo comparativo do efeito do ultra-som de 1 MHz com frequência de repetição de pulso a 100 Hz e 16 Hz no tratamento de fratura de fíbula de rato.**

2005. 75 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2005.

LUDWIG, S.C.; KOWALSKI, J.M.; BODEN, S.D. Osteoinductive bone graft substitutes. **European Spine Journal**, v. 9, supl. 1, p. 119-125, 2000.

MALIZOS, K.N.; HANTES, M.E.; PROTOPAPPAS, V.; PAPACHRISTOS, A. Low intensity pulsed ultrasound for bone healing: Na overview. **Injury, International Journal of the Care Injured**, v. 37S, p. S56-S62, 2006.

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.

MC KIBBIN, B. The biology of fracture healing in long bones. **The Journal of Bone and Joint Surgery [Br]**, v. 60-B, n. 2, p. 150-162, 1978.

MELO, M.M.; GOUVÊA, C.M.C.P.; SILVA, A.L. Efeito do ultra-som na prevenção da hérnia incisinal mediana no rato. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 100-109, 2005.

MONTEIRO, B.S; DEL CARLO, R.J.; Pinheiro, L.C.P.; VILORIA, M.I.V.; SILVA, P.S.A.; SOUZA, L.P.O.; BALBINOT, P.Z. Proteínas morfogenéticas ósseas associadas a osso esponjoso autógeno na reparação de falhas experimentais na calota craniana de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 6, p. 1451-1461, 2007.

MORAES, P. C. **Biocompatibilidade e comportamento do cimento de fosfato de cálcio, reforçado com diferentes tipos de fibras, implantado no rádio de coelhos.** 2002, 73 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, S.P., 2002.

MORAES, P.C.; PADILHA FILHO, J.G.; CANOLA, J.C.; SANTOS, L.S.; MACORIS, D.G.; ALESSI, A.C.; CASTRO, M.B.; DÓRIA NETO, F.A. Biocompatibilidade do cimento de fosfato de cálcio implantado em rádio de coelhos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 351-359, 2004.

MORAES, P. C. **O uso do ultra-som 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.

MORAES, P.C.; PADILHA FILHO, J.G.; CANOLA, J.C.; SANTOS, L.A.; FERREIRA, A.L.; CRISCI, A.R.; NOGUEIRA, G.M.; MARQUES, I.C.S.; FERMOSELI, W.A.O. Uso do ultra-som de baixa intensidade em falhas ósseas produzidas experimentalmente em rádios de coelhos, preenchidas ou não com cimento de fosfato de cálcio. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.13, n.1, p. 67-74, 2007.

MUNTING, E.; MIRTCHI, A.; LEMAITRE, J. Bone repair of defects filled with a phosphocalcic hydraulic cement: an In Vivo Study. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, Netherlands, n. 4, p. 337-344, 1993.

ORIÁ, A. P. **Cimento de α -fosfato tricálcico de dupla pega e polimetilmetacrilato como implantes intra-oculares em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*, Lilljeborg, 1874)**. 2005. 44 f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, S.P., 2005.

PANDOLFELLI, V.C., OLIVEIRA, I.R., JACOBOVITZ, M., ROSSETTO, H.L., Composição à Base de Cimento Aluminoso para Aplicação em Endodontia e Produto Cimentício Obtido, INPI-PI 0704502-6 (26/11/2007) e PCT-WO (26/11/2008).

PARK, J. **Biomaterials Science and Engineering**, Plenum Press, New York, 1984.

PARKER, R.B. Estabelecimento de banco de ossos In: BOJRAB, J.M. **Mecanismo da moléstia na cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1996. p.799-803.

PERKA, C. et al. Segmental bone repair by tissue-engineered periosteal cell transplants with bioabsorbable fleece and fibrin scaffolds in rabbits. **Biomaterials**, Kidlington, v.21, n. 11, p. 1145-1153, 2000.

PHILLIPS, A.M. Overview of the fracture healing cascade. **Injury: International Journal of the Care of the Injured**, v. 36S, p. S5-S7, 2005.

PRADO, F.A.; ANBINDER, A.L.; JAIME, A.P.G.; LIMA, A.P.; BALDUCCI, I.; ROCHA, R.F. Defeitos ósseos em tíbias de ratos: padronização do modelo experimental. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 7-13, 2006.

PUTNEY, D.L.; BORMAN, E.R.; LOHSE, C.L. Methylmethacrylate fixation of avian humeral fractures: a radiographic histologic study. **Journal of the American Animal Hospital Association.**, v.19, p.773-782, 1983.

REZENDE, C.M.F; BORGES, A.P.B.; BERNIS,W.O.; MELO,E.G.; NOBREGA NETO, P.I. Aspecto clínico-cirúrgico e radiográficos da hidroxiapatita sintética na diáfise proximal da tíbia de cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 5, p. 537-545, 1998.

RIBEIRO, J.L.; CAMANHO, G.L.; TAKITA, L.C. Estudo macroscópico e histológico de reparos osteocondrais biologicamente aceitáveis. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 12, n.1, p. 16-21, 2004.

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

SANTOS NETO F.L.: **Pseudartrose experimentalmente provocada em raios de cães. Estudo do seu desenvolvimento.** 1982. 74f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 1982.

SATO, K.; URIST, M.R. Induced regeneration of calvaria by bone morphogenetic protein (BMP) in dogs. **Clinical Orthopaedics and Related Research.**, v. 197, p.301-311, 1985.

SCHMAEDECKE, A. et al. Tratamento cirúrgico de não união retardada e não união de fratura em cães: revisão de literatura. **Educação continuada CRMV-SP**, São Paulo, v. 6, n. 1/3, p. 74-82, 2003.

SILVA, A.M.; CARLO, R.J.D.; VILORIA, M.I.V.; SILVA, A.S.; FILGUEIRAS, R.R. Matriz óssea desmineralizada na preparação de falhas ósseas segmentares produzidas no rádio de coelhos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 3, p. 539- 545, 2003.

SIMONIS, R.B.; GOOD, C.; COWELL, T.K. The treatment of nonunion by pulsed electromagnetic fields combined with Denham external fixator. **Injury**, v. 15, p. 255-260, 1984.

SOJO, K.; SAWAKI, Y.; HATTORI, H.; MIZUTANI, H.I.; UEDA, M. Immunohistochemical study of vascular endothelial growth factor (VEGF) and bone morphogenetic protein-2, -4 (BMP-2,-4) on lengthened rat femurs. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 33(4), p. 238-452, 2005.

SOUSA, V.L. **Efeitos do ultra som de baixa intensidade sobre a consolidação óssea em fratura de ossos longos (rádio e ulna, tíbia e fíbula) em cães (*Canis familiaris*)**. 2003. 127 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

STEIN, G.A.; ANZEL, S.H. Review of delayed unions of open tibia fractures treated with external fixation and pulsing electromagnetic fields. **Orthopedics**, v. 7, p. 428-436, 1984.

STEVENSON, S. Bone Grafting. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993. v.2, p.1694-1703.

VITAL, C.C; BORGES, A.P.B.; FONSECA, C.C.; TSIOMIS, A.C.; CARVALHO, T.B.; FONTES, E.B.; SENA, M.P.; FÓFANO, G. Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxapatita em falha óssea na ulna de coelhos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 2, p. 175-183, 2006.

VON ARX, T.; COCHRAN, D. L.; HERMANN, J. S.; SCHENK, R. K.; BUSER, D. Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application: a histologic and histomorphometric pilot study in the canine mandible. **Clinical Oral Implants Research**, v. 12, n. 3, p. 260-269, 2001.

XYNOS, I.D.; EDGAR, A.J.; BUTTERY, A.D.; HENCH, L.L.; POLAK, J.M. Ionics products of bioactive glass dissolution increase proliferation of human osteoblast and induce insulin-like growth facto II mRNA expression and protein synthesis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 276, n. 2, p. 461-465, 2000.

ZAVAGLIA, C.A.C.; PURCHIO, R.A.J.; BIERWAGEN, L.E.; ZOLOTAR, M.S. O uso de novos materiais cerâmicos em próteses ortopédicas. In: I Seminário Regional de Biomateriais, Santa Catarina **Anais**, p. 18-31, Santa Catarina, UDESC, 1986.

WEINFELD, I.; MAGALHÃES, L.V.; VILA, N. Estudo histológico de um novo material (biobone) indicado para reparação óssea. **Revista Paulista de Odontologia**, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 9-10, 1999.

WENDENBERG, B. Mineral metabolism of fractures of the tibia in man studied with external counting of Sr85. **Acta orthopaedica Scandinavica. Supplementum.**, v. 52, p. 1-79, 1961.

YAMAZOE, K.; HIBINO, C.; KUDO, T. et al. The reduction of humeral fracture in pigeons with intramedullary poly (methylmethacrylate) and neutralization plate fixation. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.56, p.739-745, 1994.