MARIANGELA ZANINI

Determinação dos valores normais de Densidade Mineral Óssea (DMO) em milímetros de Alumínio (mm Al) do metacarpo de ovinos mestiços da raça Santa Inês e da raça Santa Inês por meio da Densitometria Óptica em Imagem Radiográfica

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Orientador: **Prof. Dr. Luiz Carlos Vulcano**

Botucatu, 24 de Junho de 2005

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ***ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE***

Zanini, Mariangela.
Determinação dos valores normais de densidade mineral óssea (DMO) em milímetros de Alumínio (mm Al) do metacarpo de ovinos mestiços da raça Santa Inês e da raça Santa Inês por meio da densitometria óptica em imagem radiográfica / Mariangela Zanini. – Botucatu : [s.n.], 2005.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2005.
Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Vulcano
Assunto CAPES: 40102009

1. Densitometria. 2. Medidas óticas. 3. Ovino – Melhoramento genético.

CDD 636.30824

Palavras chave: Densidade; Densitometria; Mineral; Ovinos; Santa Inês.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que não tiveram e não têm as mesmas oportunidades que eu e que, nem por isso, são menos merecedoras de reconhecimento e respeito.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pelas oportunidades, por seu infinito amor e pelo perdão às minhas imperfeições e fraquezas.

Aos amigos que não vejo, mas cuja presença é mais constante que daqueles que aqui estão. Obrigada pela inspiração e aconselhamento.

Aos meus amados pais, Ovídio e Catharina, que dedicaram suas vidas a meu progresso intelectual; e a meus irmãos, Maria do Carmo e Waldemar, com quem aprendi, acima de tudo, a compartilhar.

Ao Gordo, por alegrar minha vida todos os dias e por não me abandonar nem mesmo quando se torna impossível ficar a meu lado.

Agradeço a meus amigos Cláudia Carvalho do Nascimento, Maria Carolina Munhoz, Rosela Fernandes Postumi, Luciana Cristina Baldini, Rodrigo Felipe Pires e Neilson Cassimiro da Silva por todo apoio e companheirismo.

Ao meu orientador, Dr. Luiz Carlos Vulcano, pela oportunidade, pelo estímulo e pelas críticas que me ajudaram a crescer.

Aos professores do serviço de Radiologia do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ/UNESP/Botucatu, Luiz Carlos Vulcano, Lucy Marie Ribeiro Muniz e, principalmente, à professora Maria Jaqueline Mamprim que foi muito mais do que uma educadora, mas também uma amiga.

A todos os docentes da FMVZ/UNESP/Botucatu, em especial ao professor Carlos Roberto Teixeira cujo apoio possibilitou a concretização deste trabalho.

Aos funcionários da Radiologia: Benedito José Alho Favan, Wilma Maria de Castro e João Borioli Cassetari, colaboradores de todas as horas e parceiros de grandes momentos. Ao funcionário Maury, do serviço de Patologia Veterinária, por sua solicitude e aos colaboradores Paulo e Solange Pellicci do Abatedouro Suin Quality de São Manuel.

Aos pós-graduandos Ana Cristina Aranha Zablith, Paulo Sérgio Scudeler, Mauro José Lahn Cardoso, Sandra Regina Torelli, João Leandro Vera Chiurciu, Rodrigo Oliveira, Sílvio Henrique Santi Antunes, Viviane Montich de Castro e aos residentes Alexandre da Costa Bicudo e Taizha Cristine Ciasca.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo).

“Quem conhece a sua ignorância
Revela a mais alta sapiência.
Quem ignora a sua ignorância
Vive na mais profunda ilusão.
Não sucumbe à ilusão
Quem conhece a ilusão como ilusão.
O sábio conhece o seu não-saber,
E essa consciência do não-saber
O preserva de toda a ilusão.”

(Lao-Tsé)

“Eu, um pesquisador? Oh, não empregueis tal palavra!...”.
Sou apenas muito pesado, de muitos quilos!
Caio, caio sem descanso,
Para chegar, finalmente, ao fundo!”

(Friedrich Nietzsche)

RESUMO

ZANINI, M. Determinação dos valores normais de Densidade Mineral Óssea (DMO) em milímetros de Alumínio (mm Al) do metacarpo de ovinos mestiços da raça Santa Inês e da raça Santa Inês por meio da Densitometria Óptica em Imagem Radiográfica.

Os valores da Densidade Mineral Óssea (DMO) da extremidade distal do metacarpo de 120 ovinos, sendo 60 machos e 60 fêmeas da raça Santa Inês e mestiços da raça Santa Inês, de diferentes grupos etários, foram determinados por meio da técnica de Densitometria Óptica em Imagem Radiográfica. Para a medida da DMO foi utilizado um programa computacional que analisou a densidade óptica das radiografias confeccionadas em projeção dorso-palmar da extremidade distal do metacarpo e das partes moles adjacentes, juntamente com uma escala de alumínio (penetrômetro), usada como referência densitométrica, permitindo a mensuração da DMO, que corresponde ao valor em milímetros de alumínio (mm Al) da escala. Os valores médios da DMO da extremidade distal do metacarpo de cada grupo etário da população de machos foram: 4,719 ± 0,24 para animais de até 01 ano (Grupo G1 / n = 15); 6,407 ± 0,45 para animais com idade entre 01 e 02 anos (Grupo G2 / n = 11); 6,222 ± 0,55 para animais com idade entre 02 e 03 anos (Grupo G3 / n = 12); 5,980 ± 0,58 para animais com idade entre 03 e 04 anos (Grupo G4 / n = 11) e 5,797 ± 0,30 para animais com idade superior a 04 anos (Grupo G5 / n = 11). Os valores médios da DMO da extremidade distal do metacarpo de cada grupo etário da população de fêmeas foram: 4,989 ± 0,13 para animais de até 01 ano (Grupo G1 / n = 15); 5,710 ± 0,31 para animais com idade entre 01 e 02 anos (Grupo G2 / n = 12); 6,048 ± 0,50 para animais com idade entre 02 e 03 anos (Grupo G3 / n = 11); 5,563 ± 0,58 para animais com idade entre 03 e 04 anos (Grupo G4 / n = 12); 5,888 ± 0,45 para animais com idade superior a 04 anos (Grupo G5 / n = 10). A DMO foi significativamente influenciada pela idade, sendo que os animais do grupo etário G1 das duas populações apresentaram médias inferiores aos demais grupos estudados.

ABSTRACT

ZANINI, M. Determination of the normal values for the bone mineral density (BMD) of the distal extremity of the metacarpus in ovines Santa Inês and mix breeding of Santa Inês through the technique of optical densitometry in radiographic images.

The values of Bone Mineral Density (BMD) of metacarpus distal extremity of 120 ovines, being 60 male and 60 female Santa Ines and mix breeding Santa Ines ovines of different ages were determined using the technique of Optical Densitometry in Radiographic Images. To measure BMD it was used computer software that analyses the optical density of dorsopalmar view radiography of metacarpus distal extremity and adjacent soft tissue, with an aluminum scale (penetrometer), used as densitometric reference, which corresponds to the value in millimeters of the scale. The mean values of BMD of distal extremity metacarpus of each age group in males were: 4,719 ± 0,24 for animals ageing till 01 year (Group G1 / n = 15); 6,407 ± 0,45 for animals ageing between 01and 02 years (Group G2 / n = 11); 6,222 ± 0,55 for animals ageing between 02 and 03 years (Group G3 / n = 12); 5,980 ± 0,58 for animals ageing between 03 and 04 years (Group G4 / n = 11) e 5,797 ± 0,30 for animals ageing above 04 years (Group G5 / n = 11). The mean values of BMD of distal extremity metacarpus of each age group in females were: 4,989 ± 0,13 for animals ageing till 01 year (Group G1/ n = 15); 5,710 ± 0,31 for animals ageing above 01 year (Group G2 / n = 12); 6,048 ± 0,50 55 for animals ageing above 02 years (Group G3 / n = 11); 5,563 ± 0,58 for animals ageing above 03 years (Group G4 / n = 12); 5,888 ± 0,45 for animals ageing above 04 years (Group G5 / n = 10). BMD was significantly influenced by age once group G1 animals of both populations showed mean values below the other groups.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

1. INTRODUÇÃO 12
3. MATERIAL E MÉTODOS 17
ANÁLISE ESTATÍSTICA 18
4. RESULTADOS 19
5. DISCUSSÃO 23
6. CONCLUSÕES 26
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 27
8. APÊNDICE 32

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Gráfico das médias da Densidade Mineral Óssea em milímetros de alumínio (mm Al) segundo sexo, fêmeas (F), machos (M) e os grupos por faixa etária: G1, G2, G3, G4 e G5.....22

Figura 02. Tela de abertura do programa de leitura da densidade mineral óssea Cromox 3.1 Vet.....34

Figura 03. Tela do programa Cromox 3.1Vet para seleção do animal a ser avaliado.....34

Figura04. Tela do programa Cromox 3.1 Vet mostrando a radiografia digitalizada do animal em estudo com a imagem da extremidade distal do metacarpo e a escala de alumínio.....35

Figura 05. Tela do programa Cromox 3.1 Vet para calibração e demarcação da escala de alumínio para posterior leitura da densidade mineral óssea.....35

Figura 06. Tela do programa Cromox 3.1 vet ajustando partes moles e definindo área de leitura da densidade mineral óssea.....36

Figura 07. Tela do programa Cromox 3.1 Vet mostrando o gráfico de ajuste de partes moles e definindo área de leitura da densidade mineral óssea.....36

Fig. 08. Tela final do programa Cromox 3.1 Vet apresentando o resultado da densidade mineral óssea da extremidade distal do metacarpo em mm Al.....37

LISTA DE TABELAS

Tab. 01 – Valores da densidade mineral óssea (DMO) em milímetros de alumínio (mm Al) do metacarpo de machos ovinos com o número de indivíduos (n) nos diferentes grupos etários com as respectivas médias (X) e desvios padrão (S).....19

Tab. 02 – Valores da densidade mineral óssea (DMO) em milímetros de alumínio (mm Al) do metacarpo das fêmeas ovinas com o número de indivíduos (n) nos diferentes grupos etários com as respectivas médias (X) e desvios padrão (S).....20

Tab. 03 - Média da Densidade Mineral Óssea em milímetros de alumínio (mm Al) segundo sexo, fêmeas (F), machos (M) e os grupos por faixa etária: G1, G2, G3, G4 e G5.....21

Tab. 04 – Valores da Densidade Mineral Óssea (mm Al) de cada animal dos 05 grupos etários da população de machos, médias dos grupos e desvio-padrão.....32

Tab. 05 - Valores da Densidade Mineral Óssea (mm Al) de cada animal dos 05 grupos etários da população de fêmeas, médias dos grupos e desvio-padrão.....33

1. INTRODUÇÃO

O rebanho de ovinos deslanados, notadamente da raça Santa Inês, vem apresentando considerável aumento nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, devido à sua excelente capacidade de adaptação, além de elevadas rusticidade e eficiência reprodutiva. A raça vem adquirindo, assim, grande importância na ovinocultura moderna, caracterizando-se por não apresentar comportamento estacional (SANTOS et al., 2002) e sendo utilizada como raça pura ou para cruzamentos industriais (OLIVEIRA E LIMA, 1994).

Raça nordestina, oriunda do estado da Bahia, a raça Santa Inês é considerada como sendo resultante de cruzamentos, seguidos por períodos de seleção e evolução e pela ausência de lã. São animais com muito boa aptidão para carne e pele, mas que requerem cuidados por serem exigentes quanto à alimentação, necessitando de boa pastagem ou complemento. Os cordeiros pesam cerca de 4,9 kg ao nascimento, alcançando 23,0 kg aos 112 dias de vida. As ovelhas, sob condições de campo, atingem 40 a 50 kg, mas em regime de confinamento podem atingir até 90 kg de peso. Os machos podem chegar até 100 kg.

Além do interesse produtivo dos ovinos, estes animais vêm sendo utilizados em variados trabalhos científicos dentro da área de Medicina Humana. As ovelhas são utilizadas como modelo experimental em estudos referentes ao diagnóstico e ao tratamento de osteoporose.

O esqueleto é responsável por 99,5 % dos estoques de cálcio do organismo e constitui um reservatório de minerais que pode suprir os níveis plasmáticos de cálcio quando necessário. Sabe se que, em humanos, 60% da massa óssea final são depositados durante a fase de crescimento e, sendo assim, uma dieta inadequada pode levar à restrição na formação óssea neste período (MARCUS, 1996).

Newman et al. (1995) observaram alterações no osso mandibular de ovinos em vários graus de desenvolvimento, com diferentes incidências de perda prematura de dentes incisivos, além de redução do volume ósseo na crista ilíaca decorrentes do processo de envelhecimento.

A avaliação da densidade mineral óssea pelo método de densitometria óptica em imagens radiográficas proposto por LOUZADA (1994) e atualizado por VULCANO (2001), recebeu a implementação de novos algoritmos matemáticos e tem demonstrado

capacidade de avaliação da densidade mineral óssea similar à qualidade encontrada com a técnica de Dual Photon Absorptiometry, porém com melhor relação custo benefício, vindo de encontro às exigências necessárias na avaliação da densidade mineral óssea a campo, já que os equipamentos utilizados são de baixo custo e fácil disponibilidade, tornando o exame economicamente acessível.

Frente à importância que os ovinos vêm assumindo no cenário científico mundial, sendo hoje considerados como modelo experimental ideal nas pesquisas que visam o tratamento da osteoporose em humanos, este estudo teve como objetivo: Determinar os valores normais da densidade mineral óssea (DMO), em milímetros de Alumínio (mm Al), em ovinos mestiços da raça Santa Inês e da raça Santa Inês, por meio da técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas, utilizando cinco grupos etários (idade determinada pela erupção dos dentes incisivos). Estes valores servirão como parâmetros para estudos que visem o aprimoramento de carcaça sem comprometimento de estrutura esquelética e de referência no estudo da osteoporose experimental em ovinos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A densitometria óptica radiográfica (DOR) é um capítulo da sensitometria que estuda a ação fotoquímica da luz sobre as emulsões sensíveis. Fornece um meio para medir esta ação e determinar a relação existente entre a quantidade de luz recebida por uma película sensível e a quantidade de sal de prata que se reduzirá por enegrecimento direto ou por revelador (LOBEL & DUBOIS, 1973).

Esta metodologia, de baixo custo, requer padronizações acuradas, tais como o uso de padrão de referência, técnica radiológica apropriada e posicionamento específico do material a ser analisado, segundo Anderson et al. (1966) e Schneider (1984). Pode ser utilizada para uma análise seqüencial da massa óssea, com um custo menor que as demais metodologias conhecidas e tem como fator preponderante a precisão (COSMAN et al., 1991; MATSUMOTO et al., 1994; LOUZADA,1994; SEO et al., 1994; YANG et al., 1994; MAZZONETTO et al., 1995; YATES et al., 1995; GALLO et al., 1996; LOUZADA et al., 1996a; LOUZADA et al., 1996b; VULCANO et al., 1997; CARVALHO FILHO, 1997).

A densidade óptica é o logaritmo (base10) do inverso da transmitância (DO= log 1/T). Dessa maneira, densidade óptica (DO) de um filme é a relação logarítima da intensidade de luz que incide sobre o filme (Io), e a intensidade desta luz transmitida por este filme (It), assim: DO=log (Io/It).

Bausells & Santos-Pinto (1970), estudando o crescimento e desenvolvimento ósseo de crianças, observaram que a avaliação da idade óssea pela densitometria pareceu-lhes segura, uma vez que podem ser estabelecidas condições padronizadas desde a tomada radiográfica até a sua interpretação densitométrica, mais ainda por sua viabilidade prática. Concluíram, também, que havia uma relação entre os valores provenientes da densitometria óptica com a idade cronológica nos grupos etários considerados. Utilizaram para o estudo, como padrão densitométrico, dois penetrômetros de alumínio.

Meakim et al. (1981) utilizaram a técnica de densitometria óptica radiográfica para estimar o conteúdo mineral ósseo do III metacarpo de cadáveres de eqüinos. Depois dos membros serem radiografados, amostras ósseas eram retiradas, secas, pesadas, incineradas e novamente pesadas. Com os valores das cinzas ósseas, em massa, determinavam o conteúdo mineral ósseo dividindo-os pelo comprimento inicial da amostra retirada. Estes

valores foram confrontados com os valores de espessura em milímetros de alumínio, obtidos por meio das curvas de transmitância de luz das imagens radiográficas dos degraus de um penetrômetro de alumínio, em função de suas espessuras, radiografados simultaneamente com o III metacarpiano. Citaram terem encontrado coeficientes "estreitos" de correlação, variando de 0,88 a 0,94, com $p<0,01$. Utilizaram esta mesma metodologia para acompanhar o crescimento de potros, concluindo que a densitometria óptica é um método não dispendioso, não destrutivo, exato e preciso para estimar o conteúdo mineral ósseo do III metacarpiano de eqüinos em crescimento.

Tiedeman et al. (1990) citaram que a densitometria óptica de radiografias foi metodologia capaz de detectar pequenas diferenças no conteúdo mineral ósseo quando se usam radiografias padronizadas. Comentaram que a alta correlação indicou que este método tem potencialidade para ser usado "in vivo" na avaliação de consolidação de fraturas.

Korstjens et al. (1996), medindo a geometria do osso trabecular, bem como sua orientação, e comparando-as com suas características biomecânicas, observaram que o padrão trabecular radiográfico está significativamente relacionado à força compressiva, à densidade de cinzas e à idade.

Vulcano et al. (1997), em estudo piloto por meio da técnica de densitometria óptica radiográfica, na avaliação da densidade mineral óssea do carpo ulnar de eqüinos da raça Quarto de Milha em crescimento, concluíram que a técnica empregada é de fácil aplicação na avaliação da densidade óssea, passível de ser utilizada na rotina da Clínica Veterinária pelo baixo custo e altas sensibilidade, precisão e reprodutibilidade.

Majer et al. (1990) compararam os resultados do método de densitometria radiográfica com os fornecidos por meio da DPA (Dual Photon Absorptiometry) e encontraram que o índice de exatidão e reprodutibilidade daquele método qualifica-o para ser utilizado na detecção e monitorização da mineralização óssea com custo moderado, além de independer dos parâmetros sensibilização e processamento do filme. Tais resultados foram comprovados por Vulcano (2001), que desenvolveu o Software para a determinação da densidade mineral óssea por meio da densitometria óptica em imagens radiográficas digitalizadas, em conjunto com a firma ATHENA SAI – Sistema de Inteligência Avançada Com. Imp. Exp. Ltda, padronizando os valores da densidade mineral

óssea do osso carpo acessório de eqüinos PSI em crescimento, a partir dos 12 meses de idade até o fechamento da linha fisária distal do rádio.

Newman et al. (1995) observaram alterações no osso mandibular de ovinos em vários graus de desenvolvimento e com diferentes incidências de perda prematura de dentes incisivos, além de redução do volume ósseo na crista ilíaca devido à idade.

Nafei et al. (2000) determinaram a relação entre a idade e as propriedades físicas e mecânicas do osso trabecular de ovinos para descrever os padrões em que as variações dessas propriedades agem e para investigar a influência das propriedades físicas nas características mecânicas durante o crescimento. Observaram que a idade tem correlação positiva com elasticidade, força, densidade tecidual, densidade aparente, densidade aparente de cinzas e conteúdo mineral ósseo, afirmando que a densidade aparente do tecido ósseo trabecular destacou-se como o maior indicativo de suas propriedades mecânicas compressivas.

Lill et al. (2000) avaliaram métodos de indução de osteoporose em ovelhas visando o estabelecimento de um modelo animal para posteriores estudos de tratamento e consolidação de fraturas em casos de osteoporose grave. O estudo por meio da Tomografia Computadorizada Quantitativa determinou a Densidade Mineral Óssea da região distal da tíbia, bilateralmente, concluindo que existe uma considerável relação entre densidade, parâmetros estruturais e propriedades mecânicas do osso.

De maneira similar, Leung et al. (2001), estudando um modelo animal que reproduzisse alterações osteoporóticas humanas, mediram a Densidade Mineral Óssea, por meio da Tomografia Computadorizada Quantitativa Periférica, em fragmentos da crista ilíaca de cabras submetidas à ovariectomia e à restrição dietética de cálcio. Concluíram que tais procedimentos induzem à osteopenia significativa e à deterioração das propriedades mecânicas do osso nesses animais.

Campbell et al. (2003) avaliaram a densidade mineral óssea em ovinos e o lócus gênico associado à variação da mesma, bem como a relação entre componentes adiposos e musculares e a DMO e observaram que houve variação genética significativa entre os animais, relacionada ao peso e a massa muscular.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 120 animais da espécie ovina, mestiços da raça Santa Inês e da raça Santa Inês, sendo 60 machos e 60 fêmeas, divididos em cinco grupos de acordo com a erupção dos dentes incisivos: G1 = dentes decíduos (cordeiros até 01 ano de idade), G2 = 2 dois dentes (idade acima de 01 ano), G3 = 04 dentes (idade acima de 02 anos), G4 = 06 dentes (idade de 03 anos) e G5 = 08 dentes (idade acima de 04 anos).

Após a classificação da idade dos animais pela erupção dos dentes incisivos a população de machos foi constituída de 15 animais no grupo G1, 11 animais no grupo G2, 12 animais no grupo G3, 11 animais no grupo G4 e 11 animais no grupo G5; e a população de fêmeas, 15 animais no grupo G1, 12 animais do grupo G2, 11 animais no grupo G3, 12 animais no grupo G4 e 10 animais no grupo G5. Foram utilizados animais vivos e peças de abatedouro. As 15 fêmeas do grupo G1 provinham do Sítio São José, sediado no Distrito de Rubião Júnior na cidade de Botucatu, estado de São Paulo, Brasil. O restante das amostras (peças) foi obtido por meio do Abatedouro Suin Quality da cidade de São Manoel, estado de São Paulo, Brasil.

A estrutura óssea escolhida para radiografar e realizar o estudo da densidade mineral óssea nos ovinos foi o metacarpo do membro direito, na projeção dorso-palmar. Foi utilizado chassi 24 x 30 cm, contendo filme radiográfico inserido dentro de um porta-chassi confeccionado em madeira compensada com espessura de 03 mm, onde se fixou uma escala de alumínio[1] (phantom), utilizada como referencial densitométrico, constituída de 20 degraus, tendo o primeiro degrau a espessura de 0,5 mm, variando a seguir de 0,5 mm em 0,5 mm de um degrau para outro até o vigésimo degrau, cada qual com área de 5 x 15 mm.

Os valores, em milímetros, de cada degrau da escala de alumínio foram conferidos com um micrômetro e os valores obtidos de cada degrau, mantendo uma variação máxima do valor não mais que ± 0.03 mm de um degrau em relação ao outro imediatamente superior ou inferior. Em seguida os valores de cada degrau da escala foram inseridos no programa computacional desenvolvido para servir como referência da densidade mineral óssea (DMO) em mm Al.

[1] Liga 6063 – ABNT (Brasil)

O phantom foi fixado no porta-chassi para ser radiografado ao lado dos ossos metacarpianos em projeção dorso-palmar. Para a realização das radiografias utilizamos um aparelho de raios-X portátil modelo FNX JOCKEY 90[2] com distância foco-filme de 70 cm. A kilovoltagem (kVp) utilizada foi 53 kVp para todos os animais e a miliamperagem/segundo (mAs) foi ajustada de acordo com o porte do animal, variando entre 1,0 e 3,0 mAs. Para os processos de revelação e fixação utilizou-se processadora automática da marca Macrotec[3].

Após a realização das radiografias dos animais, procedeu-se a digitalização das imagens radiográficas do metacarpo direito e do phantom, realizada por meio de um Scanner HP ScanJet 6C[4] com adaptador para transparência HP ScanJet 6C[5]. Utilizou-se um programa computacional (software)[6] para a medida de densidade óptica em filmes radiográficos. O programa utilizou a imagem radiográfica do osso metacarpo direito e região de partes moles adjacentes e do phantom de alumínio, permitindo a medida de densidade mineral óssea que é a média aritmética da região de interesse, determinada na porção distal do metacarpo, correspondente aos milímetros da escala de alumínio (phantom). A região utilizada para a leitura da densidade mineral óssea foi a porção distal do metacarpo do membro anterior direito, onde se abriu uma janela acima da linha epifisária distal, com altura de 5 mm, envolvendo todo o diâmetro da metáfise. Foram realizadas três medidas da DMO na região, obtendo-se o valor da média para cada animal.

Análise Estatística

Foi efetuada Análise de Variância (ANOVA) de um ensaio inteiramente ao acaso, no esquema fatorial Sexo x Faixa Etária e comparação das médias pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância (ZAR, 1996).

[2] FNX – Distribuidora de Equipamentos Médicos Ltda - RJ
[3] MACROTEC – Ind. E Com. De Equipamentos Ltda
[4] Hewlett Packard
[5] Hewlett Packard
[6] ATHENA – SAI – Sistema de Inteligências Avançadas Com. Imp. Exp. Ltda – SJC - SP

4. RESULTADOS

Os valores das médias da Densidade Mineral Óssea (DMO) e desvio padrão dos cinco grupos etários dos ovinos machos e ovinos fêmeas estão expressos na Tab. 01 e Tab. 02, respectivamente.

Os valores das médias da Densidade Mineral Óssea (DMO), expressos em mm Al (milímetros de Alumínio), determinados por meio da técnica de Densitometria Óptica em Imagem Radiográfica e a sua representação gráfica segundo o sexo e a faixa etária, nos grupos de fêmeas e de machos estudados na raça Santa Inês e nos mestiços da raça Santa Inês divididos por idade em grupos G1, G2, G3, G4 e G5 de acordo com a erupção dos dentes incisivos, estão apresentados na Tab. 03 e na Fig. 01.

Tabela 01 –Valores da densidade mineral óssea (DMO) em milímetros de alumínio (mm Al) do metacarpo de machos ovinos com o número de indivíduos (n) nos diferentes grupos etários com as respectivas médias (X) e desvios padrão (S).

GRUPOS	**Animais com até 01 ano** G1	**Animais entre 01 e 02 anos** G2	**Animais entre 02 e 03 anos** G3	**Animais entre 03 e 04 anos** G4	**Animais com mais de 04 anos** G5
(n)	15	11	12	11	11
X	4,72	5,80	6,41	6,22	5,98
S	0,24	0,30	0,44	0,55	0,58

Tabela 02 – Valores da densidade mineral óssea (DMO) em milímetros de alumínio (mm Al) do metacarpo das fêmeas ovinas com o número de indivíduos (n) nos diferentes grupos etários com as respectivas médias (X) e desvios padrão (S)

GRUPOS	**Animais com até 01 ano** G1	**Animais entre 01 e 02 anos** G2	**Animais entre 02 e 03 anos** G3	**Animais entre 03 e 04 anos** G4	**Animais com mais de 04 anos** G5
(n)	15	12	11	12	10
X	4,99	5,71	6,05	5,56	5,89
S	0,13	0,31	0,50	0,58	0,45

Tabela 03 - Média da Densidade Mineral Óssea em milímetros de alumínio (mm Al) segundo sexo, fêmeas (F), machos (M) e os grupos por faixa etária: G1, G2, G3, G4 e G5 de acordo com Análise de Variância (ANOVA) de um ensaio inteiramente ao acaso, no esquema fatorial Sexo x Faixa Etária e comparação das médias pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância .

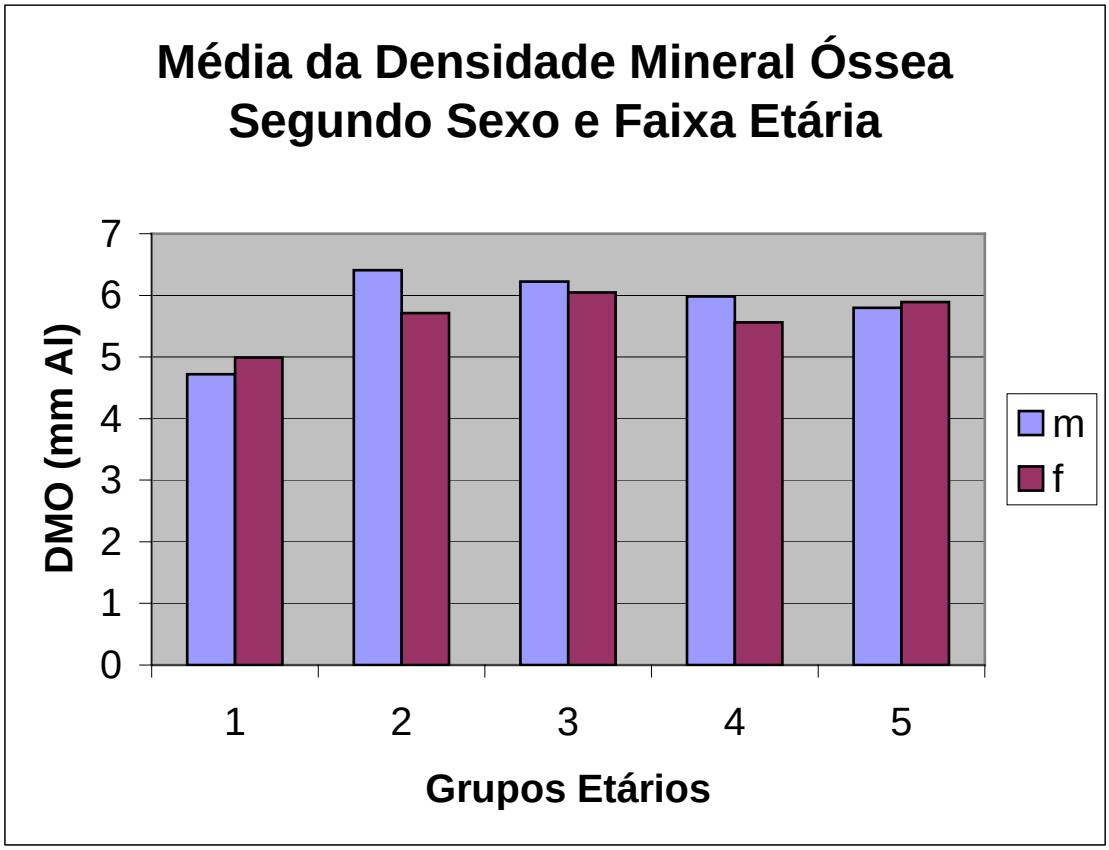
	Faixa Etária				
Sexo	**G1**	**G2**	**G3**	**G4**	**G5**
M	4,719 a A	6,407 a B	6,222 a B C	5,980 a C	5,797 a C
F	4,989 a A	5,710 b B	6,048 a B	5,563 b B	5,888 a B

Letras minúsculas comparam sexos para cada faixa etária.

Letras maiúsculas comparam faixas etárias para cada sexo.

Médias seguidas de pelo menos uma letra igual não diferem significativamente (P > 0,05)

Figura 01. Gráfico das médias da Densidade Mineral Óssea em milímetros de alumínio (mm Al) segundo sexo, fêmeas (F), machos (M) e os grupos por faixa etária: G1, G2, G3, G4 e G5.



5. DISCUSSÃO

Além do aspecto econômico, por se tratarem de animais com excelente aptidão para produção de carne e peles, os ovinos vêm sendo utilizados em inúmeros trabalhos de pesquisa dentro da Medicina.

Com o melhoramento genético desta espécie buscando uma melhor conversão alimentar e, conseqüentemente, um melhor desenvolvimento da carcaça, e sem um conhecimento completo da biologia, da fisiologia e do manejo destes animais pode-se ter alterações no sistema osteomuscular, como má formação, alteração do crescimento e descalcificação. A maioria destas alterações está relacionada com manejo sanitário e alimentar deficiente, cujas conseqüências podem refletir nos sistemas osteomuscular e reprodutivo, bem como na própria qualidade da pesquisa produzida. Assim, os estudos desenvolvidos abrangendo a biologia, a fisiologia e a anatomia destes animais auxiliarão no melhor conhecimento desta raça, uma vez que as ovelhas estão sendo utilizadas como modelo experimental em estudos referentes ao diagnóstico e ao tratamento da osteoporose. (LILL et al., 2000). Pequenos ruminantes, quando submetidos à ovariectomia, desenvolvem quadro de redução de massa óssea semelhante à que ocorre em mulheres na menopausa, servindo como modelo experimental ideal para o estudo e desenvolvimento de novos tratamentos desta alteração em mulheres (LEUNG et al., 2001).

Neste estudo, utilizamos kilovoltagem (kVp) fixa para todas as radiografias dos grupos estudados e, de acordo com TIEDEMAN et al. (1990), a densitometria óptica radiográfica é uma metodologia capaz de detectar pequenas diferenças no conteúdo mineral ósseo, quando utilizamos técnicas padronizadas.

Os resultados da comparação dos valores das médias da densidade mineral óssea da extremidade distal do metacarpo, considerando-se os sexos, não foram estatisticamente significativos, com exceção dos Grupos etários G2 e G4, nos quais os machos apresentaram valores discretamente superiores aos das fêmeas.

Na avaliação dos valores da Densidade Mineral Óssea em relação à idade, ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre G1 e os demais grupos etários da população de fêmeas. Na população de machos, também houve diferenças estatisticamente significativas entre G1 e os demais grupos e entre G2 e os grupos G4 e G5.

Os animais do grupo G1 das populações de machos e de fêmeas apresentaram valores de DMO inferiores em relação aos demais grupos etários. Tais resultados condizem com os relatados por Nafei et al. (2000), que por meio de análise de cinzas, avaliaram o Conteúdo Mineral Ósseo (CMO) em ovinos machos e em ovinos fêmeas, com idade variando entre 03 e 80 meses, com pesos corpóreos conhecidos, oriundos da mesma propriedade e submetidos à mesma alimentação e às mesmas condições ambientais. Concluíram que o osso trabecular dos animais jovens é mais fraco, mais poroso, contém mais colágeno e menos minerais e, portanto, é menos denso e que há uma correlação positiva entre CMO e a idade, uma vez que a CMO do grupo jovem foi cerca de 3,3% menor que a do grupo adulto.

Santos (2002) e Delaquerriere – RichardsonN et al. (1982) também observaram correlação significativa entre a Densidade Mineral Óssea e o aumento da idade em populações de felinos e de caninos, respectivamente. Por outro lado, no estudo de LEAL (2002), não houve correlação entre a DMO e a faixa etária em 293 cães com idade variando entre 02 e 256 meses.

O maior valor de DMO dos grupos G2 e G4 da população dos machos ocorreu, provavelmente, devido à presença de animais com peso superior em relação aos das fêmeas, uma vez que a densidade mineral óssea depende de diversos fatores como dieta, exercícios, idade, equilíbrio endócrino e carga de peso crônica (STOLIKER et al., 1976). Da mesma forma, o grupo G2 da população de machos apresentou valor médio de DMO maior do que os grupos G4 e G5 da mesma população. Esses dados nos levam a supor que o peso corpóreo, uma das variáveis determinantes da DMO, que não foi considerado neste estudo, pode ter sido o responsável por essas diferenças estatísticas, de modo análogo ao que ocorre nos seres humanos (FEHILY et al., 1992) e nos cães (LEAL, 2002) em que a DMO correlaciona-se positivamente com o peso. Estudos comprovam que a perda de peso induzida por dieta hipocalórica acarreta rápida redução de massa óssea e que o ganho de peso subseqüente é acompanhado de aumento de densidade mineral óssea (COMPSTON et al., 1992; CHAO et al., 2000; JENSEN et al., 2001).

Os animais utilizados neste experimento provinham de diferentes propriedades e estavam, dessa forma, sob diferentes condições de manejo e alimentação. Além disso, foram radiografados animais mestiços para complementação de grupos, o que pode também

ter determinado algumas diferenças de valores. Tais resultados indicam que novos estudos são necessários, utilizando-se grupos mais homogêneos em relação à alimentação, manejo, condições ambientais e, principalmente, no que diz respeito ao peso corpóreo dos animais.

A Densitometria Óptica em Imagem Radiográfica é uma técnica de fácil aplicação, de baixos custos e com eficiência comprovada na determinação da DMO. No entanto, sua utilização em Medicina Veterinária ainda é experimental e requer estudos diferenciados dentro das espécies animais, estabelecendo comparações entre a estrutura e as diferentes regiões ósseas, raças, porte, idade, peso, condições climáticas, ciclos reprodutivos e sazonalidade, condições hormonais e estados patológicos.

A espécie ovina pode nos oferecer uma rica fonte de recursos para pesquisa, uma vez que peças ósseas podem ser adquiridas em abatedouros, viabilizando os trabalhos científicos em Densitometria Óptica Radiográfica sem transgredir as normas dos comitês de ética em experimentação animal.

6. CONCLUSÕES

O estudo, nas condições em que se desenvolveu, permitiu as seguintes conclusões:

A avaliação da Densidade Mineral Óssea (DMO) por meio da técnica de Densitometria Óptica em Imagem Radiográfica é de fácil execução e eficaz para a utilização em ovinos.

Os valores médios de DMO (em mm Al) para ovinos machos da raça Santa Inês e mestiços da raça Santa Inês de cinco grupos etários foram: G1= 4,719 ± 0,24; G2= 6,407 ± 0,30; G3= 6,222 ± 0,44; G4= 5,980 ± 0,55; G5= 5,797 ± 0,58.

Os valores médios de DMO (em mm Al) para ovinos fêmeas da raça Santa Inês e mestiços da raça Santa Inês de cinco grupos etários foram: G1= 4,989 ± 0,13 ; G2= 5,710 ± 0,31 ; G3= 6,048 ± 0,50 ; G4= 5,563 ± 0,58 ; G5= 5,888 ± 0,45.

A Densidade Mineral Óssea foi significativamente influenciada pela idade dos animais, sendo que o grupo etário G1 das duas populações apresentou médias inferiores aos demais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J.B., SHIMMINS, J., SMITH, D.A. A new technique for the measurements of metacarpal density**. Br. J. Radiol**., v. 39, p. 443-450, 1966.

BAUSELLS, J., SANTOS-PINTO, R. Índice carpal densitométrico. **Ver. Farm. Odontol.** Araraquara, v.04, n.1, p.183-197, 1970.

CAMPBELL, A.W., BAIN, W.E., McRAE, A.F., BROAD, T.E., JOHNSTONE, P.D., DODDS, K.G., VEENVILIET, B.A., GREER, G.J., GLASS, B.C., BESTTIE, ªE., JOPSON, N.B., McEWAN, J.C. Bone Density in Sheep: Genetic Variation and Quantitative Trait Loci Localisation. **Bone**, v. 33, n. 04, p. 540-8, 2003.

CARVALHO FILHO, F. **Estudo radiográfico do núcleo secundário de ossificação do calcâneo da população normal e acometida de apofisite do calcâneo**. Ribeirão Preto: USP, 1997, 90p., Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 1997.

CHAO, D., ESPELAND, M. A, FARMER, D., REGISTER, T. C., LENCHIK, L., APPLEGATE, W. B., ETTINGER, W. H. Jr. Effect of voluntary weight loss on bone mineral density in older overweight women. **J. Am. Geriatr. Soc**., v.48, n. 07, p753-9, 2000.

COMPSTON, J. E., LASKEY, M. A., CROUCHER, P. I., COXON, A., KREITZMAN, S. Effect of diet-induced weight loss on total body bone mass. **Clin. Sci** (London), v. 82, n. 04, p429-32, 1992.

COSMAN, F., HERRINGTON, B., HIMMELSTEIN, S., LINDSAY, R. Radiographic absorptiometry: A simple method for determination of bone mass. **Osteopoprosis Int**., v.2, p34-38, 1991.

DELAQUERRIERE – RICHARDSON, M.D. et al. Radiographic morphometry and radiographic photodensitometry of the femur in the Beagle at 13 and 21 months. **Am. J. Vet. Res**., v.43, n.12, p2255-8, 1982.

FEHILY, A. M., COLES, R. J., EVANS, W. D., ELWOOD, P. C. Factors affecting bone density in young adults. **Am. J. Clin. Nutr**., v.556, n.03, p579-86, 1992.

GALLO, R.N., RAHAL, S.C., VULCANO, L.C., LOUZADA, M.J.Q. Avaliação da densidade óssea em gatos em crescimento submetidos a dois tipos de ração. In: XV Congresso Pan-americano de Ciências Veterinárias, 1996, Campo Grande. **Anais**...Campo Grande, MS, 1996.

JENSEN, L.B., KOLLERUP, G., QUAADE, F., SORENSEN, O. H. Bone minerals changes in obese women during a moderate weight loss with or without calcium supplementation. **J. Bone Miner. Res**., v.16, n.01, p141-7, 2001.

KORSTJENS, C.M., MOSEKILDE, L., SPRUIJT, R.J., GERAETS, W.G., VAN DER STELT, P.F. Relations Between Radiographic Trabecular Pattern and Biomechanical Characteristics of Human Vertebrae**. Acta Radiol**., v. 37, n. 05, p. 618-24, 1996.

LEAL, A.C.R., **Determinação dos valores normais de Densidade Mineral Óssea (DMO) da extremidade distal do rádio em cães por meio da técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas: correlação entre peso, sexo e idade**. 2002. 51p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

LEUNG, K.S., SIU, W.S., CHEUNG, N.M., LUI, P.Y., CHOW, D.H., JAMES, A., QIN, L. Goats as an Osteopenic Animal Model. **J. Bone Mineral Res**., v. 16, n. 12, p. 2348-55, 2001.

LILL, C.A., FLUEGEL, A.K., SCHNEIDER, E. Sheep Model for Fracture Treatment in Osteoporotic Bone: a Pilot Study About Different Induction Regimens. **J. Orthop. Trauma**., v. 14, n. 08, p. 559-65, 2000.

LOBEL, L., DUBOIS, M. **Manual de Sensitometria: la técnica de la medición de los materiales fotográficos**. 2.ed. Barcelona: Ediciones Omega, 1973. 238p.

LOUZADA, M.J.Q. **Otimização da Técnica de Densitometria Óptica em Imagens radiográficas de Peças Ósseas. Estudo "In Vitro"**. Campinas, 1994. 191 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia Elétrica, Universidade Estadual de Campinas.

LOUZADA, M.J.Q., BELANGERO, W.D., PELÁ, C.A., SANTOS-PINTO, R. Avaliações da densidade óssea em radiografias – I metodologia. In: 30º Congresso Brasileiro de Ortopedia e Traumatologia, 1996, Curitiba. **Anais**... Curitiba, PR, 1996a.

LOUZADA, M.J.Q., BELANGERO, W.D., PELÁ, C.A., SANTOS-PINTO, R. Avaliações da densidade óssea em radiografias – II metodologia. In: 30º Congresso Brasileiro de Ortopedia e Traumatologia, 1996, Curitiba. **Anais**... Curitiba, PR, 1996b.

MARCUS, R. Endogenous and Nutricional Factors Affecting Bone. **Bone**, v. 18, n.01, Suppl., p.11-13, 1996.

MATSUMOTO, C., KUSHIDDA, K., YAMAZAKI, K., IMOSE, K., INOUE, T. Metacarpal boné mass in normal and osteoporotic japanese women using computed X-ray densitometry. **Calcif. Tissue Int**., v.55, p.324-329, 1994.

MAZZONETTO, R., SEGURA, M.O., LOUZADA, M.J.Q., BEDRAN-CASTRO, J.C. Efeito do glutamato monossódico no processo de reparo alveolar e densidade óssea em ratos. In: XII Reunião Científica da Sociedade Brasileira de Pesquisas Odontológicas, 1995, Águas de São Pedro. **Anais**...Águas de São Pedro, SP, 1995.

MEAKIM, D.W., OTT, E.A., ASQUITH, RL. FEASTER, J.P. Estimation of mineral content of the equine third metacarpal bye radiographic photometry. **J. Anim. Sci**., v.53, n.4, p.1019-1026, 1981.

MONTGOMERY, D.C. **Design and Analysis of Experiments**. 3rd Ed., John Wiley, New York, p. 649, 1991.

NAFEI, A., DANIELSEN, C.C., LINDE, F., HVID, I. Properties of Growing Trabecular Ovine Bone. Part I: Mechanical and Physical Properties. **J. Bone Joint Surg**. Br., v. 82, n. 06, p. 910-20, 2000.

NEWMAN, E., TURNER, A.S., WARK, J.D. The Potencial of Sheep for the Study and Comparison with Other Animal Models. **Bone**, v.16, n.4, Suppl., p.277-284, 1995.

OLIVEIRA, A.A.P., LIMA, V.P.M.S. Aspectos econômicos da caprino-ovinocultura tropical brasileira. In: Semana da Caprinocultura e da Ovinocultura Tropical Brasileira. Sobral, **Anais**...EMBRAPA-CNPC, 1994.

PIPKIN, J. L., BAKER, L. A, BUCHHOLZ-BRYANT, M. A, LAMPLEY, W. J., ELMORE-SMITH, K. A, HALIBURTON, J. C., VENEKLASEN, G. O, BACHMAN, R. C., POTTER, G. D. The effect of Aerobic exercise after a Period of Inactivity on Bone Remodelling and Calcium and Phosphorus Balance in Mature Horses. **J. Equine Vet. Sci**., v. 21, n. 10, p. 491, 2001.

SANTOS, F.A.M. **Determinação dos valores normais de Densidade Mineral Óssea (DMO) da extremidade distal do rádio-ulna em gatos, por meio da técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas: correlação entre peso, sexo, idade.** 2002. 55p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SCHNEIDER, R. Radiologic methods of evaluating generalized osteopenia. **Orthop. Clin. North Am**., v.14, n.4, p. 631-651, 1984.

STOLIKER, H.E., DUNLAP, H.L., KRONFELD. D.S. Bone mineral measurement by photon densitometry in racing sled dogs, and its relationship to body weight, sex and bone fractures. **Vet. Med. Small Anim. Clin**., v.71, n.11. p.1545-50, 1976.

TIEDEMAN, J.J., LIPPIELLO, L., CONNOLLY, J.F., STRATES, B.S. Quantitative roentgenographic densitometry for assessing fracture healing. **Clin. Orthop**., v.253, p.279-86, Apr. 1990.

VULCANO, L.C.. CIARLINI, L.D.R.P.; LOUZADA, M.J.Q., CALDAS, E.L.C. Valores normais da densidade óssea doa carpo ulnar em potros em crescimento da raça Quarto de Milha através da densitometria óptica radiográfica. **A Hora Veterinária**, ano 17, n.100, p.52-54, 1997.

VULCANO, L. C. **Determinação e padronização dos valores normais da densidade mineral óssea (DMO) do carpo acessório de eqüinos em crescimento da raça Puro Sangue Inglês (PSI) por meio da densitometria óptica em imagem radiográfica**. Botucatu, 2001. 62p. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu.

YANG, S., HAGIWARA, S., ENGELKE, E.J., SOEJIMA, O., NELSON, D.L., GENANT, H.K. Radiographic Absorptiometry for bone mineral measurement of the phalange: precision and accuracy study**. Radiol**., v.192, p.857-859, 1994.

YATES, A.J., ROSS, P.D., LYDICK, E., EPSTEIN, R.S. Radiographic absorptiometry in the diagnosis of osteoporosis. **Am. J. Med**., v.98 (2A), p.41-47, 1995.

ZAR, J. H. **Bioestatistical Analysis**. Prentice Hall. New Jersey, 718 p., 1996.

8. APÊNDICE

Tabela 04 – Valores da Densidade Mineral Óssea (mm Al) de cada animal dos 05 grupos etários da população de machos, médias dos grupos e desvio-padrão.

	VALORES DMO (mm Al)				
	G1	**G2**	**G3**	**G4**	**G5**
MACHOS	4,25	6,08	5,94	6,98	5,27
	4,67	6,12	6,07	6,98	5,79
	4,68	6,21	6,14	6,09	5,5
	4,88	5,97	5,69	5,49	5,73
	5,16	5,94	7,1	5,37	5,81
	4,87	6,11	5,41	5,45	5,73
	4,46	6,21	5,94	5,24	5,98
	4,31	7,03	6,13	5,64	5,41
	4,54	7,18	5,94	6,22	6,16
	4,61	7,04	7,07	6,07	6,26
	4,82	6,17	7,01	6,25	6,13
	4,92	6,82			
	4,91				
	4,92				
	4,79				
X	4,719	6,407	6,222	5,980	5,797
S	0,24	0,45	0,55	0,58	0,30

Tabela 05 - Valores da Densidade Mineral Óssea (mm Al) de cada animal dos 05 grupos etários da população de fêmeas, médias dos grupos e desvio-padrão.

	VALORES DMO (mm Al)				
	G1	**G2**	**G3**	**G4**	**G5**
FÊMEAS	5,06	5,38	7,11	5,97	5,27
	5,03	6,03	6,95	5,84	5,86
	4,8	5,37	5,35	5,38	5,99
	4,91	5,83	5,74	5,39	5,95
	4,97	5,97	5,72	4,99	7,06
	4,94	5,4	5,84	5,23	5,47
	4,83	6,12	5,9	5,27	5,67
	4,87	5,98	5,77	5,04	5,75
	4,95	6,07	6,11	5,08	5,97
	5,19	5,47	6,13	5,34	5,89
	5,16	5,45	5,91	7,06	
	5,06	5,45		6,17	
	4,95				
	5,21				
	4,91				
X	4,989	5,710	6,048	5,563	5,888
S	0,13	0,31	0,50	0,58	0,45

Figura 02 – Tela de abertura do programa de leitura de densidade mineral óssea Cromox 3.1 vet.

Figura 03 – Tela do programa Cromox 3.1Vet para seleção do animal a ser avaliado

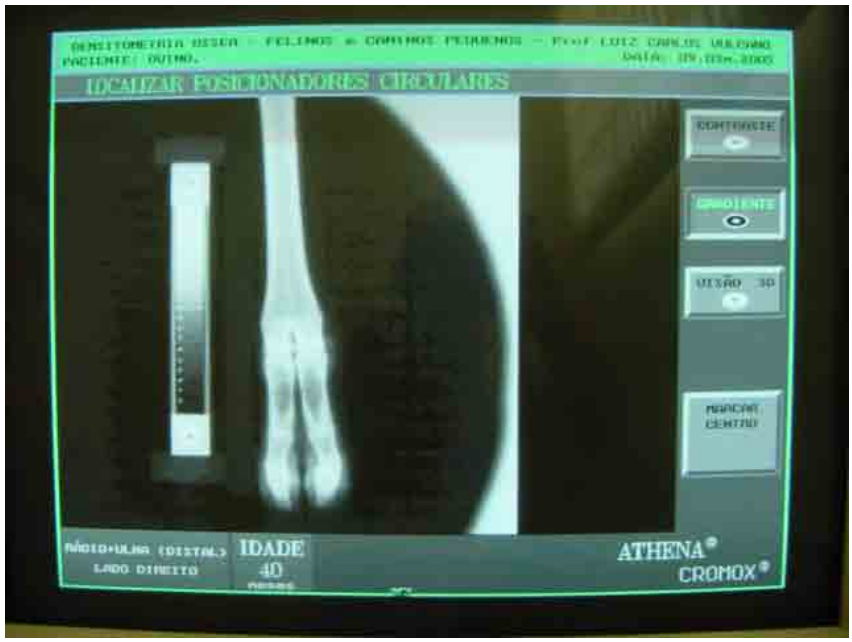


Figura 04 – Tela do programa Cromox 3.1 Vet mostrando a radiografia digitalizada do animal em estudo com a imagem da extremidade distal do metacarpo e a escala de alumínio.

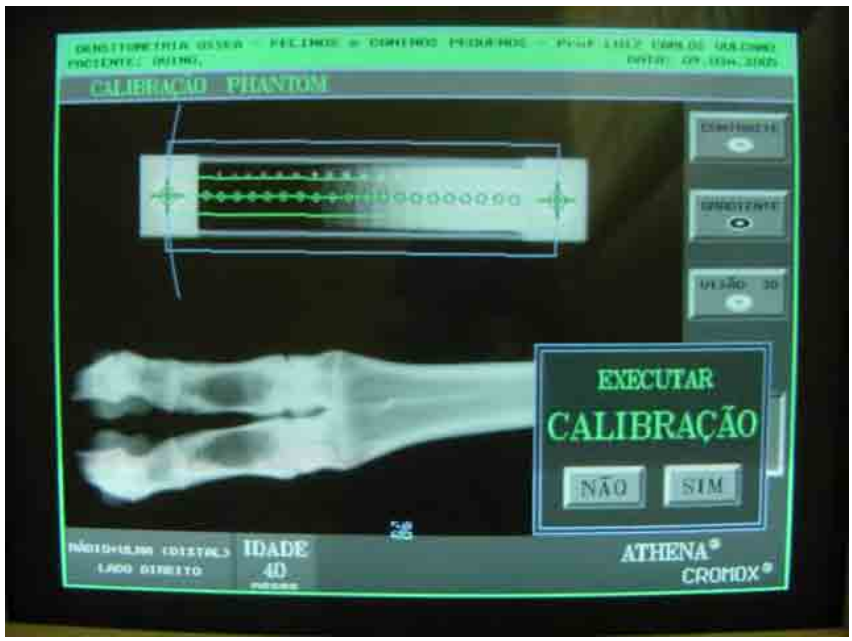


Figura 05 – Tela do programa Cromox 3.1 Vet para calibração e demarcação da escala de alumínio para posterior leitura de densidade mineral óssea.

Figura 06 – Tela do programa Cromox 3.1 vet ajustando partes moles e definindo área de leitura da densidade mineral óssea.

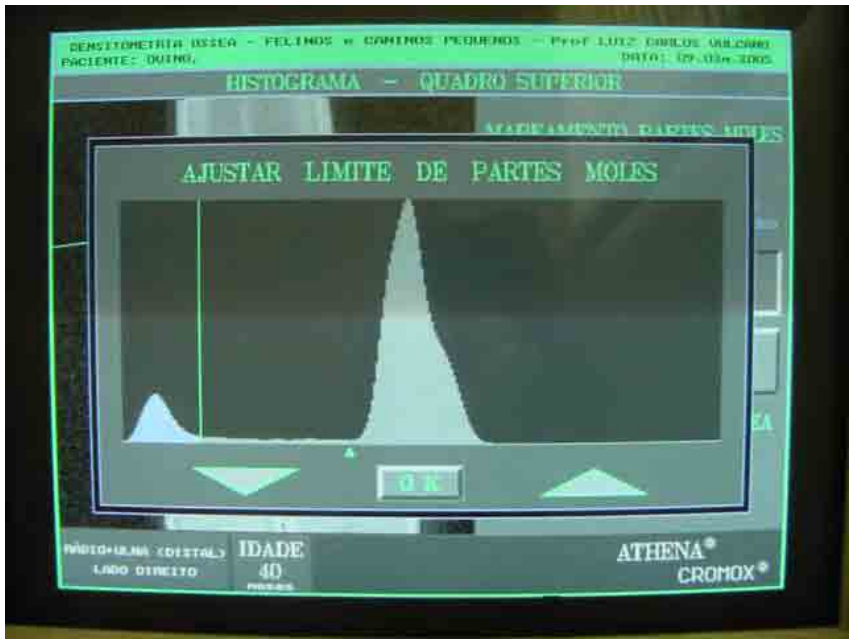


Figura 07 – Tela do programa Cromox 3.1 Vet mostrando o gráfico de ajuste de partes moles e definindo área de leitura da densidade mineral óssea.

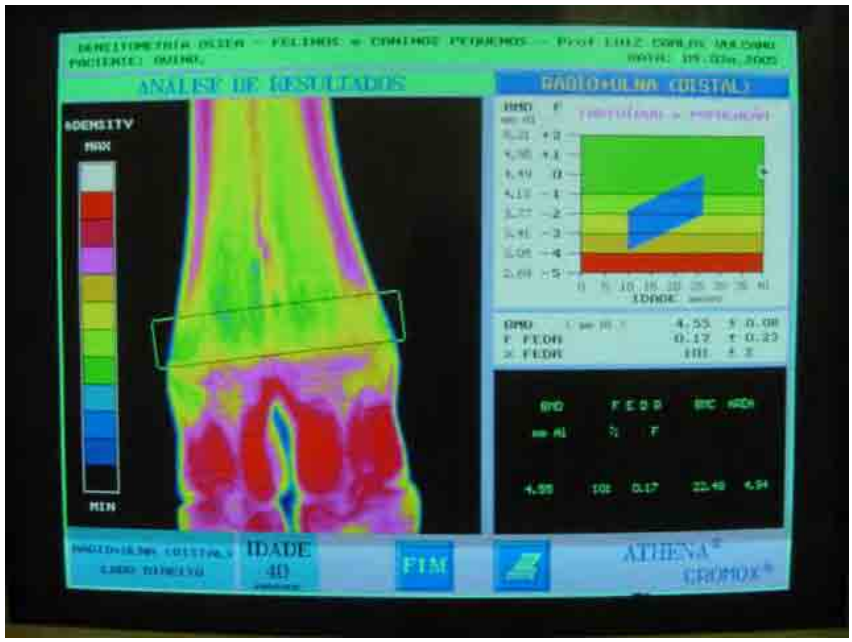


Figura 08 – Tela final do programa Cromox 3.1 Vet apresentando o resultado da Densidade mineral óssea da extremidade distal do metacarpo em mm Al.