

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Estudo comparativo entre polímero de mamona (*Ricinus communis*) e enxerto ósseo autógeno no tratamento de fraturas segmentares induzidas em rádio de cães.

RADAMHÉS DE MONROE MACHADO

São Luís
2008

RADAMHÉS DE MONROE MACHADO

Estudo comparativo entre polímero de mamona (*Ricinus communis*) e enxerto ósseo autógeno no tratamento de fraturas segmentares induzidas em rádio de cães.

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área: Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Porfírio Candanedo Guerra

São Luís
2008

Machado, Radamhés de Monroe

Estudo comparativo entre polímero de mamona (*Ricinus Communis*) e exerto ósseo autógeno no tratamento de fraturas segmentares induzidas em rádio de cães / Radamhés de Monroe Machado. – São Luis, 2008.

55f.

Dissertação (Mestrado) – Curso Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão, 2008.

Orientador: Porfirio Candanedo Guerra

1.Biomaterial 2.Falha óssea 3.Osso 4. Poliuretana I. Titulo

Dissertação de Mestrado aprovada em _____ de _____ de 2008 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

DR. HÉLDER DE MORAES PEREIRA
1º Membro

DR. LUIZ CARLOS RÉGO OLIVEIRA
2º Membro

DR. PORFÍRIO CANDANEDO GUERRA
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus que através de Jesus tem me abençoado;

À minha família pela compreensão e paciência dispensada durante todo este período;

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho;

À FAPEMA, pelo auxílio financeiro;

Em especial ao professor Porfírio Candanedo Guerra, meu orientador, que sem sua compreensão e auxílio científico nada disto poderia ter ocorrido;

À professora Ana Lúcia Abreu Silva pelo auxílio e ensinamentos na área de histologia;

Aos amigos Francisco, Adriana, Pimenta Neto, Vitor, Leonardo e outros muitos alunos que ajudaram na realização deste trabalho. Muito obrigado pela colaboração;

A todos os funcionários do Curso de Medicina Veterinária que me ajudaram durante este tempo de pós-graduação;

Aos amigos veterinários pela convivência, amizade e por compartilharem seus conhecimentos.

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE POLÍMERO DE MAMONA (*Ricinus communis*) E ENXERTO ÓSSEO AUTÓGENO NO TRATAMENTO DE FRATURAS SEGMENTARES INDUZIDAS EM RÁDIO DE CÃES 1

Autor: Radamhés de Monroe Machado

Orientador: Prof. Dr. Porfírio Candanedo Guerra

RESUMO

A busca por novas classes de biomateriais como método auxiliar no tratamento de retardos ou não-uniões de fraturas são cada vez mais freqüentes na prática científica. Deste modo, realizou-se um estudo radiográfico, histológico e histoquímico, como forma de avaliar o desempenho da resina de poliuretana derivada do óleo de mamona (*Ricinus communis*) na forma de biomassa, para o tratamento de defeito ósseo segmentar de 0,5 cm de comprimento, induzido no rádio direito de cães, tendo como padrão comparativo o enxerto ósseo autógeno (grupo controle) coletado da crista ilíaca no momento de cada procedimento cirúrgico. Foram utilizados 15 cães adultos, sem raça definida, machos e fêmeas com idade entre dois e três anos e peso entre 8 e 13kg. Os animais foram divididos em dois grupos, tratado e controle e estudados em três momentos distintos, com 30, 60 e 90 dias de avaliação pós-operatória. Em cada momento de estudo foram utilizados cinco animais, três do grupo tratado e dois do grupo controle, sendo que ao final de cada momento, após prévia anestesia, foram eutanasiados através da administração intravenosa de cloreto de sódio a 10% e os focos de fratura dos membros estudados foram submetidos a análises radiográficas e histológicas, com coloração de rotina hematoxilina-eosina e sírios red para a técnica de histoquímica. A regeneração óssea foi maior no defeito tratado com auto-enxerto esponjoso pela análise radiográfica. No estudo histológico não se verificou diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos na maioria dos parâmetros estudados. A análise histoquímica demonstrou semelhanças nos dois tratamentos empregados, verificando-se um padrão regular do arranjo das fibras colágenas. Embora em menor proporção, o polímero de mamona na forma de biomassa influencia no processo de reparação de fratura, contribuindo para facilitar o processo de ativação osteogênica, quando comparado ao auto-enxerto esponjoso. Histologicamente, o polímero de mamona mostrou-se biocompatível, sendo reabsorvido ao longo do processo cicatricial. Tais resultados sugerem que o biomaterial pode ser usado como ferramenta adequada e alternativa para o uso em cirurgias ortopédicas com perda de tecido ósseo, evitando que outros métodos mais invasivos venham a ser realizados no mesmo paciente.

Palavras-Chave: Biomaterial; Falha óssea; Osso; Poliuretana.

1 Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias – Sanidade Animal, Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão, MA, (55p.) agosto, 2008.

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE POLÍMERO DE MAMONA (*Ricinus communis*) E ENXERTO ÓSSEO AUTÓGENO NO TRATAMENTO DE FRATURAS SEGMENTARES INDUZIDAS EM RÁDIO DE CÃES

Author: Radamhés de Monroe Machado

Adviser: Prof. Dr. Porfírio Candanedo Guerra

ABSTRACT

Research involving new classes of biomaterials as an auxiliary method for treatment of delayed union or non-union fracture have been demonstrated a large occurrence in routine scientific practices. Thus, a radiographical, histological and histochemical study was performed in order to verify the role of the polyurethane resin implants obtained from mamona's oil (*Ricinus communis*) used to treatment of 0.5-cm segmental defect induced in canine's right radio, compared with iliac crest autologous (control group) graft performed after each surgery procedure. We investigated 15 mongrel dogs of both sexes and in different ages with an average weight of 8 to 13kg. Two groups of animals were studied in three different occasions, 30, 60 and 90 days, post-surgery. At each period of study five animals were used: three of treated group and two of control group. After each stage, they were euthanized by intravenous administration of sodium chloride at 10%, after previous anesthesia, and the fracture's focuses of the studied members were submitted to radiographical and histological exams, with routine's hematoxylin-eosin staining and sírius red to histochemistry study. Radiographic examination detected that the most regeneration in bone regeneration was observed in bone defects treated with autologous graft. On the other hand, no significant differences ($p < 0.05$) were noted for both groups using histological evaluation, in the most parameters studied. Histochemistry analysis presented similarities in both treatments demonstrating a regular pattern of collagen fiber arrangements. Although in low proportion, bone repair process was influenced by biomass mamona polymer, contributing to the osteogenic activity, when compared with iliac crest autologous graft. Histologically, polyurethane resin implants obtained from mamona's soil (*Ricinus communis*) showed biocompatibility and it was reabsorbed during the healing process. These results suggest this biomaterial is a satisfactory tool in current orthopedic surgery, preventing the loss of bone tissue and the use of more invasive methods in the same patient.

Key words: Biomaterial, bone defect, bone, polyurethane resin implants

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1. Tecido ósseo.....	15
2.2. Fisiologia da reparação óssea.....	16
2.3. Enxertos ósseos.....	17
2.4. Polímero de mamona.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1. Animais.....	27
3.2. Protocolo experimental.....	27
3.3. Protocolo anestésico.....	28
3.4. Protocolo cirúrgico.....	28
3.5. Protocolo de pós-operatório.....	31
3.6. Protocolo radiográfico.....	31
3.7. Protocolo histológico.....	32
3.8. Protocolo de eutanásia.....	33
3.9. Análise dos resultados.....	33
4. RESULTADOS.....	34
5. DISCUSSÃO.....	44
6. CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Resultados gerais da análise radiográfica do grupo tratado e controle, nos três momentos de estudo, expressos em valores atribuídos de 0 a 4.....	36
Tabela 2. Resultados gerais da análise histológica do grupo tratado e controle, nos três momentos de estudo, expressos em valores atribuídos de 0 a 4	37

LISTA DE FIGURAS

	Página
<p>Figura 1. Indução de falha óssea segmentar no rádio direito de cão. Animal em mesa cirúrgica pronto para indução anestésica (A). Procedimento cirúrgico iniciado com acesso crânio-medial ao rádio (B). Indução da fratura com auxílio de cisalha de Listen (C). Defeito ósseo segmentar de 0,5cm de comprimento no rádio direito (D).....</p>	29
<p>Figura 2. Enxertos utilizados na pesquisa. Acesso cirúrgico para colheita de enxerto autógeno da crista ilíaca (A). Foco de fratura depois de colocado auto-enxerto esponjoso. Enxerto de mamona em sua embalagem comercial, contendo carbonato de cálcio, pré-polímero e poliol (C). Foco de fratura depois de colocado enxerto de mamona na forma de biomassa (D).....</p>	30
<p>Figura 3. Aspecto radiográfico do primeiro momento de estudo (M1) demonstrando discreta reação periosteal no foco de fratura em um animal do GC (A) em contraste a ausência no GT (B).....</p>	38
<p>Figura 4. Imagens do M2 onde se verifica importante diminuição da linha de fratura em ambos os tratamentos, porém com formação de ponte óssea no GC (A) em comparação ao GT, onde isto não é notado (B).....</p>	38
<p>Figura 5. Último momento de estudo (M3), verificando-se aos 90 dias que já há sinais de remodelação óssea no GC (A) e ainda em andamento a formação de calo ósseo no GT, porém com consolidação parcial da face caudal do rádio (B).....</p>	39
<p>Figura 6. Avaliação histológica do M1. Fotomicrografia (H/E – 4X) do GC, verificando-se presença de tecido fibro-cartilaginoso (A). Fotomicrografia (H/E – 10X), do GT onde também se verifica presença de tecido fibro-cartilaginoso no foco de fratura (B).....</p>	40
<p>Figura 7. Avaliação histológica do M2. Fotomicrografia (H/E – 10X) do GC, verificando-se ainda tecido fibro-cartilaginoso no foco de fratura, porém com áreas de osso imaturo (A). Fotomicrografia (H/E – 4X), do GT onde se verifica osso imaturo no foco de fratura (B)....</p>	41
<p>Figura 8. Avaliação histológica do M3. Fotomicrografia (H/E – 10X) do GC, demonstrando grande quantidade de osso imaturo e pequenas áreas de tecido fibro-cartilaginoso (A). Fotomicrografia (H/E – 10X) do GT, onde se verifica cicatrização avançada com presença de osso maduro e fibro-cartilaginoso (B).....</p>	42
<p>Figura 9. Técnica histoquímica (Sirius Red – 10X), demonstrando a semelhança do padrão uniforme das fibras colágenas verificados em ambos os grupos estudados, tratado (A) e controle (B).....</p>	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

01.	TFC.....	Tecido fibro-cartilaginoso
02.	OI.....	Osso imaturo
03.	OM.....	Osso maduro
04.	Kg	Quilograma
05.	G1 / GT.....	Grupo tratado
06.	G2 / GC.....	Grupo controle
07.	M1	Primeiro momento: 30 dias
08.	M2	Segundo momento: 60 dias
09.	M3	Terceiro momento: 90 dias
10.	cm	Centímetro
11.	mg	Miligrama
12.	n ^o	Número
13.	EV	Endovenoso
14.	IM	Intramuscular
15.	SC	Subcutâneo
16.	mAs	Miliamperes por segundo
17.	kVp	Kilovolts por potência
18.	mm	Milímetro
19.	p<	Margem de erro menor que
20.	H/E	Hematoxilina / Eosina
21.	®	Marca registrada
22.	%	Porcento

1. INTRODUÇÃO

As fraturas de rádio e ulna são comuns em cães e a maioria ocorre nos terços médio e distal dos ossos longos (GORSE, 1998). A consolidação de uma fratura pode ser problemática e a incidência de complicações é relativamente alta, tendo sido relatadas união retardada, não-união, deformidades no crescimento e rigidez articular, entre outras (LAPPIN et al., 1983; RUDD & WHITEHAIR, 1992).

A pouca vascularização da região distal e a pequena quantidade de tecido mole periférico conferem ao rádio dificuldades de cicatrização óssea, sendo isto verificado por Guerra (2002), que estudou a consolidação de fraturas do rádio em cães com a utilização de perfurações mecânicas nas extremidades deste osso.

A finalidade no tratamento de uma fratura é obter rápida união óssea, preservando a função normal das articulações próximas e do tecido mole adjacente (McLAIN & BROWN, 1982). O processo de consolidação de uma fratura depende de várias interações biológicas e bioquímicas, incluindo aquelas relacionadas com os fatores de crescimento.

O osso, quando lesionado, tem a capacidade de regenerar e retornar à estrutura tecidual original, sem a formação de tecido cicatricial (HOLLINGER et al., 1997; REMÉDIOS, 1999). Apesar desse potencial, a regeneração necessita de auxílio em várias ocasiões, como nas uniões retardadas, não-uniões, fraturas múltiplas ou cominutivas, osteotomias, artrodeses e no preenchimento de cavidades ou defeitos segmentares extensos (COOK & RUEGER, 1996).

A reconstrução destas lesões amplas em tecidos duros sempre foi um dos grandes desafios para a ciência (GONÇALVES et al., 1998), tendo já sido utilizados para tal, o osso autógeno, homogêneo, liofilizado,

desmineralizado, assim como materiais artificiais ou sintéticos (YAMAMOTO et al., 1993).

O enxerto ósseo, técnica de transplante de osso cortical ou esponjoso, tem sido utilizado na medicina veterinária há muitos anos. Os enxertos ósseos são assim denominados para indicar sua estrutura de origem. O enxerto autógeno de osso esponjoso é um componente vital no tratamento de fraturas que ajudam em sua cicatrização antes de os implantes se soltarem ou falharem. Os enxertos de osso cortical são algumas vezes utilizados para tratar fraturas de ossos longos com grande perda de osso cortical, sendo utilizado para substituir osso removido nos procedimentos cirúrgicos, a fim de poupar o membro afetado. Os enxertos corticoesponjosos contêm osso cortical e esponjoso (costela ou asa íliaca), e os osteocondrais também contêm cartilagem articular (fêmur proximal) (FOSSUM, 2001).

A aplicação adequada de um enxerto ósseo é, com freqüência, o fator crítico que diferencia o reparo bem sucedido de uma fratura de uma não-união, ou a possibilidade de salvamento do membro, da necessidade de sua amputação (SLATTER, 2000).

Apesar de o enxerto ósseo esponjoso autógeno ser considerado o melhor estimulador da regeneração óssea, possui entre outros inconvenientes a limitação em volume e a necessidade de um segundo procedimento cirúrgico para colheita (MOORE et al., 2001). Desta forma, vários biomateriais são constantemente desenvolvidos e testados com o intuito da produção de substitutos a este tipo de enxerto (BAUER & MUSCHLER, 2000; MOORE et al., 2001). Esses materiais apresentam como vantagem a disponibilidade ilimitada e a facilidade de esterilização e armazenamento dos mesmos (BUCHOLZ, 2002). De acordo com Moore et al. (2005) os biomateriais sintéticos são, em sua maioria, osteocondutores e osteointegráveis.

Os conhecimentos sobre bio-polímeros evoluíram muito nas últimas décadas, principalmente com o advento da primeira classe de poliuretanas,

quando foi comprovada a superioridade das uretanas vegetais sobre as resinas derivadas de minerais (BAYER, 2008).

À medida que surgiram resultados de estudos clínicos e experimentais com o emprego dos biomateriais, alguns produtos se destacaram e outros foram desacreditados. Dentre os primeiros, encontra-se a resina poliuretana derivada do óleo de mamona (*Ricinus communis*), que foi desenvolvida, em 1984, pelo Grupo de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (IGNÁCIO et al., 1996). A poliuretana é formada a partir da reação tipo uretana entre dois componentes básicos, o polioli e o pré-polímero (BIOOSTEO, 2008). Ela pode ser utilizada na formulação pura ou em associação com o carbonato de cálcio. A função do carbonato é fornecer íons cálcio, o que facilita a troca iônica na interface osso-resina, com incremento do mecanismo de deposição de cálcio na matriz colágena, nas várias fases do processo de reparação óssea (IGNÁCIO, 1999).

Atualmente existem diversas apresentações comerciais do material que permitem diferentes flexibilidades de aplicação, tais como em forma de biomassa, blocos pré-moldados, grânulos e endopróteses. O produto pode se aplicado já polimerizado ou, então, em forma de biomassa para ser manipulado e moldado conforme a necessidade, no momento do ato cirúrgico (BIOOSTEO, 2008).

Muitos são os métodos utilizados para o acompanhamento, estudo e evolução de uma fratura. A radiologia, densitometria, tomografia e ressonância magnética são importantes métodos não invasivos, que permitem detectar alterações que ocorram ainda em fases iniciais do processo (MARKEL & BOGDANSKE, 1994). Já a histologia, nos permite o acompanhamento e definição específica de todas as etapas que ocorrem durante o processo de consolidação, além de permitir a identificação de fatores que interfiram na reparação óssea adequada. O método histoquímico, quanto ao colágeno tipo I, mostra sua distribuição e arquitetura no foco da lesão (BANKS, 1992), sendo o

colágeno responsável pela força e integridade dos tecidos afetados, porém a quantificação pura e simples dessa substância não representa a quantificação de sua força tênsil (PHILLIPS, 2003).

Devido ao número reduzido de pesquisas com a poliuretana derivada da mamona, principalmente na espécie canina, o presente trabalho pretendeu testar o material na forma de biomassa, objetivando desta forma comparar a ação do polímero de mamona a do enxerto ósseo autógeno, que já possui eficiência comprovada, no tratamento de fraturas segmentares induzidas em rádio de cães.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Tecido ósseo

O tecido ósseo é altamente organizado e diferenciado, composto por uma matriz orgânica e inorgânica mineral formando um tecido conjuntivo altamente denso e especializado. Esta combinação é resultante da associação de cristais de hidroxiapatita que resistem à compressão e por fibras de colágeno tipo I que resistem as forças de tração. O volume ocupado pelo colágeno é aproximadamente igual àquele ocupado pelo fosfato de cálcio, sendo as fibras de colágeno no osso adulto arranjadas em camadas regulares, colocadas paralelamente à outra (CROCI, 1997).

A cartilagem possui células de um único tipo, os condrócitos, que são inseridos em uma matriz uniforme. A matriz cartilaginosa é deformável, e o tecido cresce por expansão quando os condrócitos se dividem e secretam mais matriz. Já a matriz óssea é secretada pelos osteoblastos, que se localizam na superfície da matriz existente. Alguns dos osteoblastos permanecem livres na superfície, enquanto outros se tornam gradualmente embutidos na sua própria secreção. Este material formado essencialmente de colágeno do tipo I é chamado osteóide e rapidamente é convertido em matriz óssea dura pela deposição de cristais de fosfato de cálcio sobre ele (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

Uma vez aprisionado no tecido endurecido, a célula original formadora de matriz é agora chamada de osteócito e não tem oportunidade de se dividir embora continue a secretar pequenas quantidades de matriz em torno de si mesma. O osteócito ocupa uma pequena lacuna na matriz, e minúsculos canais irradiam de cada lacuna, contendo projeções celulares do osteócito residente, possibilitando formar junções comunicantes dos osteócitos adjacentes (DELLMANN et al., 1982).

Enquanto a matriz óssea é depositada pelos osteoblastos, ela é corroída pelos osteoclastos. Estas células multinucleadas grandes se originam, como os macrófagos, de células –tronco hematopoéticas na medula óssea. Os osteoclastos são capazes de escavar um túnel profundo na compacta substância óssea, formando cavidades que são invadidas por outras células. Um capilar sanguíneo cresce em direção ao centro de tal túnel, e as paredes do túnel tornam-se revestidas por uma camada de osteoblastos. Desta forma é proporcionado ao tecido ósseo a capacidade de se adaptar a cargas impostas sobre ele (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

2.2. Fisiologia da reparação óssea

A fratura de um osso provoca uma determinada seqüência de acontecimentos durante o processo de consolidação. O reparo da fratura envolve mudanças no suprimento sanguíneo que afeta a proliferação e diferenciação celular, bem como a reabsorção óssea. O coágulo sanguíneo que se forma no local da fratura impede a circulação e determina a necrose ou morte do tecido circundante. O novo tecido que se desenvolve no local da fratura forma uma ponte entre os fragmentos, denominado calo, que é formado de duas partes. O calo interno desenvolve-se entre as extremidades opostas do osso e o externo que circunda a superfície mais externa do osso fraturado. As células envolvidas no processo de reparo são células osteogênicas do perióstio, células do endóstio e células reticulares indiferenciadas da medula óssea (DELLMANN et al., 1982).

O processo de consolidação de um osso tubular fraturado pode ser considerado como ocorrendo em cinco estágios: hematoma, que se forma para conter a hemorragia local e estimula o início da fase inflamatória; proliferação subperiosteal, onde as células mesenquimais diferenciam-se em osteoblastos; endosteal, onde a osteogênese é mais ativa devido a maior vascularização; calo que é o estágio de consolidação da matriz óssea e remodelação com ação intensa de células especializadas na reabsorção óssea. Estes estágios não são

demarcados de maneira nítida e dois ou mais estágios de consolidação podem ocorrer ao mesmo tempo em diferentes partes do osso (CROCI, 1997).

É importante considerar também que o tipo de consolidação não é o mesmo para todos os ossos em todas as circunstâncias. A reparação dos ossos tubulares difere muito daquela ocorrida nos ossos esponjosos, sendo o tipo de consolidação influenciado por fatores como a fixação rígida dos segmentos fraturados e a perfeição da coaptação (SANTOS NETO et al., 1984; SCHATZER et al., 1989).

2.3. Enxertos ósseos:

Os enxertos ósseos foram introduzidos na prática cirúrgica geral no início do século XX, e o princípio dos enxertos vem sendo bem estabelecido por 75 anos. As infecções associadas a enxertos ósseos têm sido mínimas quando os procedimentos assépticos são usados e quando o osso não for introduzido em área contaminada e instável (PIERMATTEI & FLO, 1999).

Um enxerto deslocado de um ponto para outro no mesmo indivíduo é um auto-enxerto, descrito pelos adjetivos autólogo, autógeno, ou autóctone. Um aloenxerto é tecido transferido entre dois indivíduos geneticamente diferentes, pertencentes, entretanto à mesma espécie. Um xenoenxerto é tecido de animal de uma espécie implantado num membro de espécie diferente (SLATTER, 2000).

O enxertamento ósseo poroso autógeno é um dos procedimentos mais subutilizados na prática ortopédica veterinária atual. Um osso poroso autógeno é facilmente atingível, pode ser feita sua coleta sem qualquer equipamento caro ou complicado e não custa nada. O seu uso pode fazer a diferença entre uma cura de fratura satisfatória e uma não-união ou complicações resultantes de falhas de fixação da fratura (BOJRAB, 1996).

O recurso do enxerto de osso esponjoso autólogo possui alguns inconvenientes, nomeadamente, a significativa morbidade que a sua obtenção pode provocar no local doador e a limitada quantidade de enxerto possível de obter (BETZ, 2002). A obtenção de auto-enxerto de osso esponjoso na crista ilíaca pode originar complicações em cerca de 10% dos casos, sendo as mais freqüentes a infecção, conseqüentes feridas com drenagem prolongada, hematomas extensos e necessidade de segunda intervenção cirúrgica (YOUNGER & CHAPMAN, 1989).

O enxerto esponjoso pode ser colhido da metáfise de qualquer osso longo, mas, pela facilidade técnica e volume, tem sido removido, em cães, na porção crânio-dorsal da asa ilíaca, úmero proximal, tibia proximal e fêmur distal (JOHNSON, 1995; SLOCUM & SLOCUM, 1998; PIERMATTEI & FLO, 1999). Em gatos, segundo Denny & Butterworth (2000), a colheita de enxerto do úmero proximal, fêmur ou tibia pode ser frustrante, por serem obtidas pequenas quantidades, especialmente em adultos. A asa do ílio consiste no local mais satisfatório. Há evidências de que osso de origem membranosa, como o ílio, é mais osteoindutivo que o de origem endocondral, como a tibia e o fêmur (PERRY, 1999). O local de escolha deve ser determinado pelo volume necessário e proximidade do leito receptor (FOX, 1984). Em geral, apenas um local de colheita é suficiente para cães de tamanho grande ou médio; porém, em cães "toys" podem ser necessários diversos locais (SCHENA, 1983). Penwick et al. (1991) observaram em estudo com oito cães, que a restauração do enxerto esponjoso no local doador foi mais rápida e completa no úmero em relação à tibia. Os resultados sugeriram ser o úmero fonte para uma segunda colheita de enxerto num período de dois meses, mas não a tibia, que apresentou proeminente quantidade de tecido conjuntivo.

Os enxertos ósseos porosos funcionam como uma fonte de osteogênese ou de formação de um osso novo. Quando se forma um novo osso em ou acima de um enxerto, pode-se deriva-lo a partir do enxerto (ou seja, a partir de células que sobreviverem à transferência e sejam capazes de formar um osso) ou a partir de células de origem no hospedeiro. As células

superficiais nos enxertos porosos que forem apropriadamente manipuladas podem sobreviver e produzir um novo osso (BOJRAB, 1996).

O auto-enxerto de osso fresco é o mais efetivo em promover a consolidação, já que proporciona células viáveis e elimina os problemas de histocompatibilidade e transmissão de doenças (GOLDBERG & STEVENSON, 1987). Por outro lado, ele tem como desvantagens a necessidade de dois tempos cirúrgicos, como a colheita e transplante (PINTO-JÚNIOR, 1990), a exigência de um novo acesso cirúrgico e a limitação em quantidade (ITHO et al., 1998), além de promover o aumento do tempo anestésico, o risco de infecções e a perda de sangue intra-operatória (FITCH et al., 1997).

Indicam-se os auto-enxertos porosos quando se deseja promover a consolidação em uniões retardadas, não uniões, osteotomias e artrodeses através da estimulação da formação dos calos em ponte; unir os defeitos principais em fraturas multifragmentares através do restabelecimento da atividade osteogênica, promovendo desta maneira a formação precoce dos calos em ponte; repor a perda total de segmentos corticais devido à fragmentação da fratura ou excisão devido a neoplasias, e quando há a necessidade de preencher cavidades ou defeitos parciais da espessura óssea resultantes da excisão de cistos ou neoplasias (PIERMATTEI & FLO, 1999).

A osteoindução é um aspecto extremamente importante no enxerto ósseo e se refere à potencialidade do receptor em produzir osso novo. Diversos produtos sintéticos têm sido utilizados para o preenchimento de defeitos ósseos, tais como a proteína morfogenética (YASKO et al., 1992) e hidroxiapatita (GAUTHIER et al., 1997).

Stevenson (1999) e Bauer & Muschler (2000) dividiram a incorporação do auto-enxerto de osso esponjoso no local receptor em cinco estágios sucessivos. Na fase inicial, muitas células transplantadas morrem devido à isquemia ou por via de apoptose, especialmente os osteócitos situados nas lacunas no interior das trabéculas ósseas. No entanto, se o

enxerto for convenientemente manipulado, as células com maior resistência à isquemia poderão sobreviver à transferência para o local receptor. Numa segunda fase, cerca de cinco dias após a transplantação, ocorre inflamação, migração e proliferação de células mesenquimais e a reorganização gradual do hematoma em tecido conjuntivo fibroso e, numa terceira fase, a progressiva revascularização do enxerto, nos 10 dias seguintes. Na quarta fase ocorre a substituição do enxerto em extensão variável, por reabsorção osteoclástica das trabéculas ósseas enxertadas, em simultâneo com a deposição de matriz óssea pelos osteoblastos, para numa quinta fase ocorrer o processo de remodelação óssea. As duas últimas fases poderão ter uma duração de vários meses, sendo que o estágio final inicia-se geralmente seis meses após a realização do enxerto e completa-se cerca de um ano após a cirurgia (DIAS et al., 2007).

2.4. Polímero de mamona

O polímero de mamona é sintetizado a partir do óleo da mamona que é extraído de uma oleaginosa, da classe dicotiledônea, ordem gerianáceas, família da euforbáceas (*Ricinus communis*). Foi quimicamente desenvolvido para prover sítios ativos reagindo com os grupos isocianato e o carbonato de cálcio, como material de preenchimento não ativo, que melhora sua integração ao tecido ósseo (CHIERICE, 2003). É um produto 100% compatível, osteointegrável, peso específico e módulo de elasticidade similar ao osso, além de ser atóxico. É destinado em ortopedia para preenchimento de espaços deixados por cistos ósseos, lesões diversas, fixação primária e revisões de artoplastias (BIOOSTEO, 2008).

O biomaterial osteocondutivo promove aposição de tecido ósseo em sua superfície, funcionando, em parte, como um arcabouço receptivo que facilita a formação óssea (BAUER & SMITH, 2002). Para Greenwald et al. (2001), a osteocondução é uma facilitação da incursão de vasos sangüíneos e osso neoformado para dentro de um arcabouço. Este arcabouço deve fornecer, principalmente, um substrato no qual células osteoblásticas possam crescer se

diferenciar e depositar matriz óssea extra-celular, além de ser biocompatível (LU et al., 2000). Osteointegração é definida como uma ancoragem direta de um implante pela formação de tecido ósseo ao redor deste, sem o crescimento de tecido fibroso na interface osso-implante (MERCK, 2005). Contudo, nenhum material sintético utilizado até o momento apresenta características próximas ao tecido natural, atendendo tanto aos aspectos biológicos como também às necessidades mecânicas (PEREIRA et al., 2003).

Ignácio et al. (1997), testaram o uso de poliuretana de mamona em um modelo de defeito diafisário de rádios de coelhos. Um segmento de 2cm de comprimento da diáfise radial era ressecado de ambos os rádios de cada animal e substituído por um cilindro confeccionado com a poliuretana adicionada de carbonato de cálcio para aquisição de porosidade e radiodensidade. Foram utilizados 34 animais, distribuídos em grupos de acordo com o período de observação pós-operatória (2, 4, 8 e 16 semanas) e submetidos a avaliações radiológica, macroscópica e histológica. Os resultados mostraram que a poliuretana era primeiro envolvida por espessa camada de tecido fibroso e, depois, por lâmina de osso de organização e maturação progressivas. Não foram observadas reações de corpo estranho, nem reabsorção e crescimento de tecido ósseo dentro da poliuretana. Os resultados indicaram que a poliuretana derivada do óleo de mamona é material biocompatível e apresenta propriedades de osteocondução e, possivelmente, de osteoindução, de grande interesse para aplicação em cirurgia ortopédica.

Com o objetivo de estudar o efeito da poliuretana de mamona aplicada ao osso de cães em crescimento Maria et al. (2003) utilizaram 12 cães subdivididos aleatoriamente em 3 grupos, os quais receberam o implante de mamona na face medial proximal da tíbia, com análise macroscópica e histopatológica aos 30 (GIII), 60 (GII) e 90 (GI) dias. Como resultado verificou-se que a poliuretana foi recoberta por uma cápsula conjuntiva fibrosa, não ocorrendo proliferação óssea ao seu redor. Não houve processo inflamatório e nem infeccioso associado ao biomaterial, permitindo concluir que a poliuretana

é biocompatível, comportando-se como espaçador biológico em cães, não ocorrendo osteointegração nesta espécie.

A presença de porosidade na arquitetura interna de um biomaterial é condição fundamental para a estabilização e neoformação tecidual. Por apresentar poros irregulares, o polímero de mamona atuaria como material osteocondutivo (LEONEL et al., 2003). Contudo, conforme Ignácio (1995), os resultados experimentais utilizando o polímero de mamona são ainda controversos, com relação ao preenchimento desses poros após a inserção em tecidos vivos.

Calixto et al. (2001) objetivando testar a biocompatibilidade da resina natural, derivada do óleo de mamona, implantada na cavidade de extração dental de ratos, e estudar a possível interferência do material na cronologia do reparo alveolar, realizaram extração do incisivo superior direito e implantaram no alvéolo a resina de mamona, sendo os ratos sacrificados de 1 a 6 semanas após a extração ou extração + implante. Histologicamente foram observados flocos da resina, de forma irregular e tamanho variável, localizando-se entre o terço alveolar médio e cervical, sendo inicialmente circundados por tecido de granulação e a seguir por quantidade progressivamente maior de tecido ósseo, no geral com a presença de um tecido conjuntivo interposto, mas em algumas áreas estabelecendo aparente osteointegração direta. Não houve persistência da reação inflamatória, mas observou-se pequena quantidade de células gigantes aderidas à superfície do material, em todos os períodos. A análise histométrica (contagem diferencial de pontos) do terço apical mostrou um atraso de 13% a 20% no reparo alveolar dos ratos implantados, com menor neoformação óssea associada a maiores volumes percentuais de tecido conjuntivo e de remanescentes do coágulo sangüíneo.

Ignácio et al. (2002) realizaram em 18 cães, falhas ósseas com dimensões de 1,0cm de diâmetro por 0,8cm de profundidade nas metáfises distais dos fêmures e proximais das tíbias, bilateralmente, que foram preenchidas com a poliuretana da mamona. Foram sacrificados seis animais ao

final de 3, 6 e 12 meses de cirurgia. Macroscopicamente, ao longo do tempo, observou-se aderência maior dos corpos de prova no interior dos defeitos ósseos, especialmente nos porosos. As avaliações radiográficas evidenciaram aspectos semelhantes aos obtidos pela tomografia computadorizada, com formação de uma linha de menor radiodensidade entre o implante e o tecido ósseo. Os dados obtidos com a microscopia de luz demonstraram a formação de um tecido conjuntivo fibroso na interface osso-poliuretana, que não diminuiu de espessura ao longo do tempo e que penetrou superficialmente nos corpos de prova de maior porosidade, especialmente no maior tempo de evolução. Não foi verificado, histologicamente, a presença de reação tipo corpo estranho ou de células fagocitárias e, na microscopia eletrônica de varredura, não foram observados sinais de irregularidades na superfície da poliuretana em contato com o tecido ósseo, indicativos de reabsorção do material.

Ziliotto et al. (2003) empregaram o polímero extraído da mamona para preenchimento do canal medular de aloenxerto conservado em glicerina 98%, que foi interposto para o tratamento de falha óssea segmentar induzida no rádio e ulna de cães. Histologicamente, na interface entre o polímero e o osso, foi observada a presença de infiltrado inflamatório mononuclear. Não houve osteointegração e o biomaterial não foi absorvido nem substituído por tecido ósseo. Segundo os autores, o polímero foi um substituto adequado ao cimento ósseo, que é o material tradicionalmente utilizado nestas circunstâncias.

Com o objetivo de se avaliar a importância da porosidade interna do polímero de mamona durante a neoformação óssea, Leonel et al. (2003) realizaram ressecção de um segmento do arco zigomático em ratos, preenchendo-o com polímero derivado do óleo de mamona em forma de blocos pré-polymerizados ou em forma de biomassa. Os resultados histopatológicos demonstraram a existência de neoformação tecidual em meio aos poros de ambos os materiais aos 15, 30, 60, 90 e 120 dias de avaliação. Ocorreu progressiva diminuição no volume do polímero, à medida que este foi substituído por tecido ósseo.

Figueiredo et al. (2004) compararam implantes de osso bovino desvitalizado, hidroxiapatita porosa de coral, poliuretana de mamona em forma de biomassa e enxerto ósseo autógeno, no reparo de falha óssea de 6x10mm de diâmetro realizada no fêmur de coelhos. As avaliações radiológicas, tomográficas e histológicas foram realizadas com quatro e 12 semanas de pós-operatório. Os autores concluíram que o implante de osso bovino desvitalizado produz maior reação inflamatória, maior formação de cavidades císticas e reparação tecidual guiada mais lenta, quando comparado ao enxerto ósseo autógeno e aos implantes de hidroxiapatita porosa de coral e poliuretana de mamona. Esta última mostrou maior propriedade osteocondutiva e menor reação inflamatória que o osso bovino desvitalizado, com invasão de seus poros e preenchimento das cavidades císticas por tecido ósseo, mostrando-se eficaz como arca-bouço para a reparação tecidual guiada.

Jacques et al. (2004) estudaram o papel da poliuretana de mamona como substituto do enxerto ósseo autógeno em coelhos, com o objetivo de verificar a integração da poliuretana de mamona na forma de biomassa moldável. Foram utilizados 20 coelhos e uma falha padrão condilar femoral foi realizada, sendo utilizado em um membro enxerto ósseo autógeno e no outro poliuretana de mamona na forma de biomassa. Os animais foram observados por período de 45 e 90 dias, onde se verificou que no grupo do auto-enxerto houve 100% de presença de cicatrização cortical nos 45 e 90 dias, enquanto que no grupo da mamona esta cicatrização estava ausente aos 45 dias. Em relação à presença do tecido ósseo maduro na zona de transição entre o implante e o osso receptor, a observação microscópica mostrou que ele estava completamente ausente, aos 45 dias. Aos noventa dias ele estava presente em todos os animais que receberam enxerto ósseo autógeno e em nenhum dos que receberam poliuretana de mamona, que mostravam a presença apenas de tecido ósseo imaturo. Os pesquisadores concluíram que a poliuretana de mamona integrava-se ao osso receptor mais lentamente que o enxerto ósseo autógeno. No entanto a proposta do uso de uma massa moldável, para

preencher a falha óssea, mostrava-se factível e promissor na pesquisa do polímero de mamona como substituto ósseo biológico.

Pereira Júnior (2005), em seu estudo com 20 coelhos, produziu uma falha óssea segmentar de 1,0 cm de comprimento na diáfise de ambos os raios pela excisão de fragmento osteoperiosteal, sendo que no rádio esquerdo o defeito foi tratado com a resina de poliuretana e no direito com auto-enxerto esponjoso colhido do úmero proximal esquerdo. Após a eutanásia dos animais, exames histológicos foram realizados em cada cinco animais aos 15, 30, 60 e 120 dias de pós-operatório, sendo observado que a regeneração óssea foi maior no defeito tratado com auto-enxerto esponjoso em todos os períodos de observação, e aos 120 dias de pós-operatório, estes estavam totalmente reconstituídos, porém somente o grupo do auto-enxerto teve 100% da falha óssea cicatrizada, e no grupo tratado com polímero de mamona, observou-se não haver formação de cortical óssea externa. Pela avaliação histológica o polímero de mamona atuou como preenchedor de espaço, minimizando a produção de tecido fibroso no local, além de não apresentar sinais de reabsorção em nenhum dos momentos de estudo, não apresentando ainda qualquer sinal de reação inflamatória ou de corpo estranho, sendo concluído, portanto que o polímero de mamona na forma de grânulos foi biocompatível e osteointegrável, porém não apresentou a mesma capacidade de regeneração óssea do auto-enxerto esponjoso.

Com o objetivo de analisar histologicamente o efeito da matriz óssea desmineralizada de origem humana e a resina poliuretana derivada do óleo da mamona sobre o processo de reparação óssea, Laureano Filho, et al. (2007), utilizaram 24 coelhos, executando cirurgicamente duas cavidades nos crânios dos animais, sendo uma do lado direito e a outra do lado esquerdo da sutura parietal. Os animais foram divididos igualmente em dois grupos. No grupo I, a cavidade experimental (lado direito) foi preenchida com a matriz óssea desmineralizada de origem humana, enquanto no grupo II a cavidade experimental foi preenchida com a poliuretana derivada do óleo de mamona. As cavidades de controle (lado esquerdo) foram preenchidas apenas com o

sangue do animal. Ao final de 4, 7 e 15 semanas do período pós-operatório oito animais foram sacrificados, tendo-se observado à análise histológica que tanto a região controle quanto as cavidades dos grupos I e II apresentaram aumento na neoformação óssea ao longo do tempo, sendo que esta reparação se deu mais rapidamente no grupo controle, mesmo mostrando diminuição importante na espessura. Concluiu-se então que ambos os materiais foram biocompatíveis, sendo a poliuretana reabsorvida mais tardiamente e considerada de melhor resultado em relação ao outro material empregado.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais:

Foram utilizados 15 animais adultos, entre dois e três anos, machos e fêmeas, sem raça definida, com peso entre 8 e 13 kg, provenientes do Centro de Controle de Zoonoses-CCZ de São Luís-MA, mantidos em canis individuais e alimentados com ração comercial e água *ad libitum*. Durante o período de adaptação de uma semana antes das cirurgias os cães foram avaliados clinicamente e exames laboratoriais (hemograma e pesquisa de hemoparasitas) foram feitos.

O projeto foi encaminhado e aprovado pelo Comitê de Ética do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão sob o protocolo 025/2008.

3.2. Protocolo experimental:

Os cães foram separados em dois grupos experimentais, sendo que nove no grupo tratado (G1) e seis no controle (G2). O trabalho foi realizado em três momentos distintos de estudo: M1 (30 dias após a cirurgia), M2 (60 dias) e M3 (90 dias). Em cada momento foram utilizados cinco animais, três do G1 e dois do G2. Tanto nos animais do grupo tratado quanto nos do controle foram induzidas fraturas cirúrgicas, tipo simples transversa no terço médio do rádio direito, com retirada de fragmento ósseo segmentar de aproximadamente 0,5cm de comprimento. Para a execução do procedimento foi utilizado instrumental cirúrgico ortopédico Cisalha de Listen. O grupo tratado recebeu no foco de fratura o enxerto sintético a base de óleo de mamona (Bio-Osteo[®]) na forma de biomassa, que foi obtida através da mistura dos componentes comerciais do produto (carbonato de cálcio, pré-polímero e polioli). No controle, o defeito ósseo foi preenchido por enxerto autógeno retirado da crista ilíaca e coletado de cada animal no momento da cirurgia. Foram realizadas radiografias logo após o ato cirúrgico para avaliar o foco de fratura. Ao final de 30, 60 e 90

dias de pós-operatório, avaliações radiográficas e histológicas foram realizadas no foco de fratura dos animais.

3.3. Protocolo anestésico:

Após jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 2 horas e uma vez determinado o peso, os animais foram sedados com Acepromazina por via endovenosa (EV) na dose de 0,1mg/Kg, sendo em seguida executada a tricotomia do membro torácico direito e região da crista ilíaca, de acordo com o grupo estudado. Após 15 minutos de iniciado o processo de sedação, os cães foram induzidos com 12,5mg/Kg de Tiopental Sódico por via EV, sendo instalado o 2º plano do 3º estágio de anestesia geral, de acordo com a tabela de Guedel. Em seguida foi feita entubação com sonda endotraqueal nº 7,5 para manutenção anestésica com a associação Halotano - Oxigênio. Após o procedimento cirúrgico foi feito uso de analgésico opióide a base de buprenorfina por via subcutânea (SC) na dose de 0,03mg/Kg (MASSONE, 1999).

3.4. Protocolo cirúrgico:

Os animais foram colocados em decúbito lateral esquerdo, sendo feita assepsia do campo operatório com solução de iodopovidine degermante diluído em soro fisiológico. A porção distal do membro direito, a partir da articulação carpo-metacarpiana foi isolada com atadura de crepe estéril e os campos cirúrgicos colocados a partir da articulação úmero-rádio-ulnar. O rádio foi acessado por incisão cutânea crânio-medial para abordagem da diáfise em seu terço médio a distal, e a crista ilíaca por incisão dorso-lateral. As suturas da musculatura local e tecido subcutâneo foram realizadas com cat-gut® 3-0 em pontos simples interrompidos, e a sutura de pele executada com fio de Mononylon 3-0 no mesmo padrão de sutura.

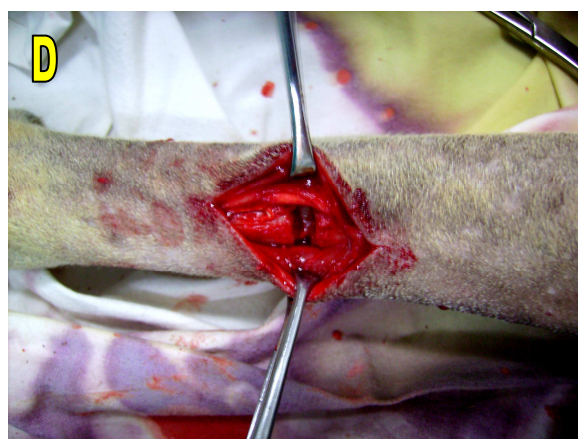
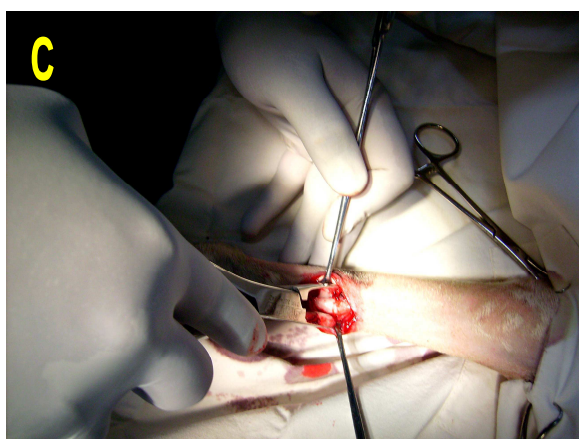


Figura 1 – Indução de falha óssea segmentar no rádio direito de cão. Animal em mesa cirúrgica pronto para indução anestésica (A). Procedimento cirúrgico iniciado com acesso crânio-medial ao rádio (B). Indução da fratura com auxílio de cisalha de Listen (C). Falha óssea segmentar de 0,5cm de comprimento no rádio direito (D).

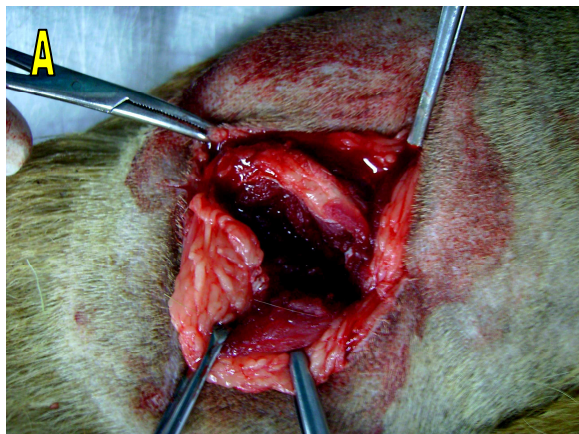


Figura 2 – Enxertos naturais e sintéticos utilizados nas falhas ósseas segmentares. Acesso cirúrgico para colheita de enxerto autógeno da crista ilíaca (A). Foco de fratura depois de colocado auto-enxerto esponjoso. Enxerto de mamona em sua embalagem comercial, contendo carbonato de cálcio, pré-polímero e poliol (C). Foco de fratura depois de colocado enxerto de mamona na forma de biomassa (D).

3.5. Protocolo de pós-operatório:

Ao término do ato cirúrgico foi realizada imobilização do membro com aparelho de Thomas, confeccionado com arame galvanizado nº 10, algodão e esparadrapo. Os ferimentos cirúrgicos foram tratados com soro fisiológico e posteriormente pomada de nitrofurazona, sendo cobertos com gazes estéreis. Nos primeiros sete dias os curativos foram diários, e a partir do oitavo dia, quando foi feita a retirada dos pontos de pele, a imobilização empregada foi acompanhada diariamente. Antibiótico a base de enrofloxacin, na dose de 5mg/Kg, 1X/dia, foi administrado por via intramuscular (IM) no período pré-operatório e por mais 7 dias no pós-operatório. Também foi utilizado flunixin meglumine como agente antiinflamatório, na dose de 1,1mg/Kg, 1X/dia, IM, durante 2 dias. O uso de Buprenorfina por via SC permaneceu a cada 12 horas durante cinco dias, na dosagem já estabelecida no protocolo anestésico.

3.6. Protocolo radiográfico:

Utilizando aparelho de raios-x de 100mAs, chasis e filmes radiográficos de 24x30 cm, com técnica radiológica de 40kVp / 1mAs, as radiografias foram realizadas nos grupos tratado e controle aos dias 0, 30, 60 e 90, de acordo com cada momento de estudo. Na análise radiográfica foram consideradas características como reação periosteal, formação de ponte óssea, diminuição da linha de fratura e aparecimento de calo ósseo, utilizando-se score de avaliação de 0 a 4, com valores atribuídos para cada característica, sendo 0 correspondente a “ausência”, 1 “discreto”, 2 “razoável”, 3 “moderado” e 4 correspondendo a “acentuado”.

3.7. Protocolo histológico:

As técnicas de histologia e histoquímica foram realizadas para acompanhar a neoformação dos tecidos fibro-cartilagosos, osso jovem e maduro durante o processo de cicatrização óssea, além de analisar o padrão de distribuição do colágeno no processo de reparação.

Os animais de ambos os grupos foram submetidos à eutanásia e fragmentos ósseos do foco de fratura retirados e fixados em Formalina a 10%, sendo posteriormente submetidos ao processo de descalcificação com Ácido nítrico a 25% (PROPHET et al., 1992) durante três a quatro dias. Após a descalcificação, os fragmentos foram tratados com solução de sulfato de sódio a 5% por 1 hora e em seguida lavados em água corrente por 30 minutos e finalmente, processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina, sendo cortados em micrótomo de rotação para obtenção de cortes histológicos com 5mm de espessura, os quais foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina (H/E) e avaliados ao microscópio óptico (FRANCO et al., 2001). Na avaliação histológica consideraram-se eventos como presença de tecido fibro-cartilaginoso, osso imaturo e osso maduro, atribuindo-se valores de 0 a 4 para cada característica analisada, assim como descrito no protocolo radiográfico.

Para a visualização do padrão das fibras colágenas I e III pelo método histoquímico, foi utilizada coloração Sirius Red. Nesta técnica, após a saturação do ácido pícrico, os cortes foram desparafinizados em banho de xileno, sendo em seguida hidratados e corados com Sirius Red-Direct Red 80 por 1 hora, posteriormente lavados rapidamente e contra-corados com hematoxilina por 3 minutos, quando em seguida as lâminas foram desidratadas e preparadas, sendo observadas em microscópio de polarização (PROPHET et al., 1992). A análise dos resultados nesta técnica foi realizada mediante avaliação descritiva das imagens obtidas em cada momento do estudo, levando-se em consideração o padrão de arranjo das fibras colágenas obtidos em ambos os tratamentos.

3.8. Protocolo de eutanásia:

Após sedação com Acepromazina na dose de 0,1mg/Kg por via endovenosa e aplicação de Tiopental sódico na dose de 12,5mg/Kg por via endovenosa, foi aplicado Cloreto de Potássio a 10% pela mesma via, até que se confirmasse o óbito do animal. Logo após, o rádio fraturado foi retirado e encaminhado ao Laboratório de Anatomopatologia do Curso de Medicina Veterinária da UEMA, onde foram realizadas as análises histológicas e histoquímicas.

3.9. Análise dos resultados:

Os resultados dos exames radiográficos e histológicos ao final de cada momento foram submetidos à análise estatística, pelo teste de qui-quadrado ($p < 0,05$), para diferença entre os grupos, utilizando-se de programa computacional InStat[®] 2.0 – 2003.

4. RESULTADOS

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados satisfatoriamente tanto no grupo tratado, quanto no controle. A mistura dos componentes comerciais do polímero de mamona, no momento da cirurgia, resultou na formação da biomassa que posteriormente foi utilizada no preenchimento da falha óssea induzida. A coleta do enxerto autógeno esponjoso da crista ilíaca foi realizada adequadamente, conseguindo-se obter boas quantidades de material coletado, porém houve aumento do tempo cirúrgico em aproximadamente 20 minutos. O aparelho de Thomas, colocado logo após o ato cirúrgico, promoveu boa estabilidade no local fraturado. Foi verificado ainda que três dos seis animais em que se coletou o enxerto autógeno apresentaram dor e inflamação local, os outros apresentaram pouca sensibilidade no local. Ao término das cirurgias observou-se uniformidade dos defeitos ósseos e bom alinhamento dos membros fraturados e a ulna, não fraturada, ajudou na estabilização do local como era esperado.

Na avaliação radiográfica do primeiro momento (M1) de estudo (30 dias), a reação periosteal, formação de ponte óssea e diminuição da linha de fratura ocorreram nos dois grupos, não se verificando diferenças estatísticas (Tabela 1). No M2 da pesquisa observou-se que no grupo controle o aparecimento do calo ósseo ocorreu antes que no grupo tratado, havendo dessa forma diferença estatística nos valores atribuídos (Tabela 1). Não se observou o mesmo resultado nos demais parâmetros estudados. No terceiro momento do estudo as fases de formação da ponte óssea, diminuição da linha de fratura e aparecimento do calo ósseo aconteceram antes nos focos de fraturas dos animais controle, resultando em diferença estatística nos valores atribuídos (Tabela 1).

No estudo histológico se verificou que o tecido fibro-cartilaginoso se formou mais rapidamente nos focos das fraturas dos animais controle, variação essa que, de acordo com os valores atribuídos mostram diferença significativa.

Por outro lado, a presença de osso imaturo e maduro observado nesta fase no local do defeito ósseo, não mostraram a mesma diferença após avaliação estatística de seus valores (Tabela 2). Já no segundo momento (M2) foi constatado que a presença de osso imaturo e maduro estava na maioria das amostras obtidas do foco de fratura dos animais controle. Tal observação resultou em diferença significativa favorável a dito grupo (Tabela 2). Ao analisarmos o M3 verificou-se que a formação do osso imaturo ocorreu melhor no grupo tratado, o que estatisticamente foi confirmado (Tabela 2). Contudo ao estudarmos a formação do osso maduro desta fase se percebiam que os dois grupos tiveram comportamento parecido, não ocorrendo atividades de formação óssea superior em um dos grupos. Em nenhum dos momentos de estudo se verificou reação inflamatória local ou presença de células gigantes, que poderiam indicar algum tipo de rejeição com relação ao polímero de mamona.

A avaliação histoquímica das amostras obtidas dos grupos revelou um padrão de arranjo de fibras colágenas homogêneo, distribuindo-se com uniformidade semelhante em ambos os tratamentos empregados, enxerto autógeno e polímero de mamona (Figura 9).

Tabela 1- Resultados gerais da análise radiográfica do grupo tratado e controle, nos três momentos de estudo, expressos em valores atribuídos de 0 a 4.

AVALIAÇÃO	30 DIAS		60 DIAS		90 DIAS	
	GT	GC	GT	GC	GT	GC
REAÇÃO PERIOSTEAL	1,7 ^A	2 ^A	1 ^A	2 ^A	0 ^A	0 ^A
FORMAÇÃO DE PONTE ÓSSEA	1,3 ^A	1 ^A	1 ^A	3 ^A	1,7 ^A	3 ^B
DIMINUIÇÃO DA LINHA DE FRATURA	1,3 ^A	1 ^A	1,3 ^A	2,5 ^A	1,7 ^A	3,5 ^B
APARECIMENTO DE CALO ÓSSEO	0,3 ^A	0,5 ^A	0,3 ^A	1,5 ^B	1,7 ^A	3 ^B

A – A: Sem diferença estatística para valores do mesmo parâmetro de avaliação.

A – B: Diferença estatística para valores do mesmo parâmetro de avaliação.

Tabela 2- Resultados gerais da análise histológica do grupo tratado e controle, nos três momentos de estudo, expressos em valores atribuídos de 0 a 4.

AVALIAÇÃO	30 DIAS		60 DIAS		90 DIAS	
	GT	GC	GT	GC	GT	GC
PRESENÇA DE TECIDO FIBRO CARTILAGINOSO	2 ^A	3,5 ^B	1,3 ^A	1,5 ^A	1 ^A	2 ^A
PRESENÇA DE OSSO IMATURO	3 ^A	2 ^A	0,3 ^A	3 ^B	3 ^A	2,5 ^B
PRESENÇA DE OSSO MADURO	1,7 ^A	1 ^A	0,3 ^A	2,5 ^B	2,7 ^A	2,5 ^A

A – A: Sem diferença estatística para valores do mesmo parâmetro de avaliação.

A – B: Diferença estatística para valores do mesmo parâmetro de avaliação.

Figura 3 – Aspecto radiográfico do primeiro momento de estudo (M1) demonstrando discreta reação periosteal no foco de fratura em um animal do GC (A) em contraste a ausência no GT (B).



Figura 4 – Imagens do M2 onde se verifica importante diminuição da linha de fratura em ambos os tratamentos, porém com formação de ponte óssea no GC (A) em comparação ao GT, onde isto não é notado (B).



Figura 5 – Último momento de estudo (M3), verificando-se aos 90 dias que já há sinais de remodelação óssea no GC (A) e ainda em andamento a formação de calo ósseo no GT, porém com consolidação parcial da face caudal do rádio (B).

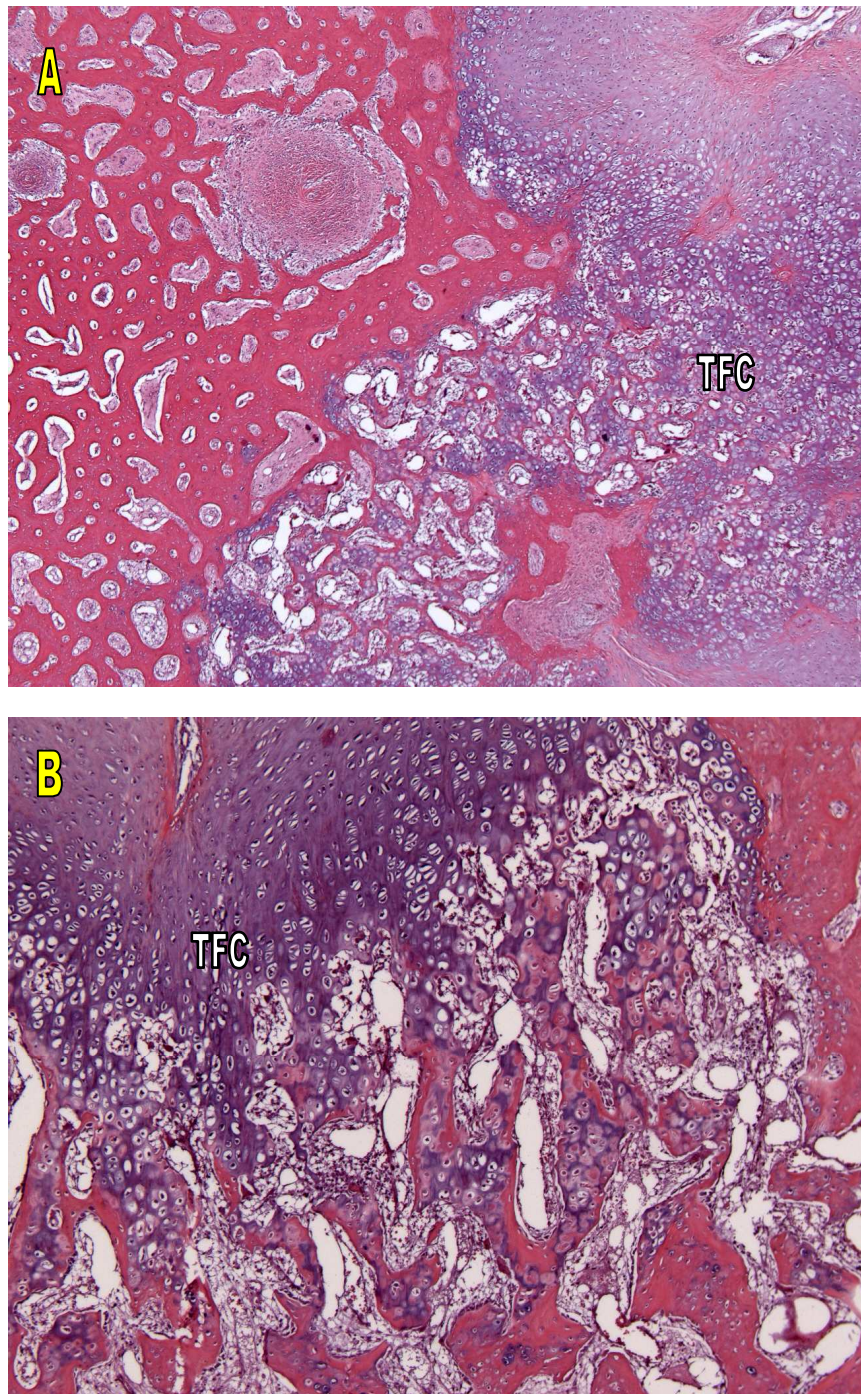


Figura 6 – Avaliação histológica do M1. Fotomicrografia (H/E – 4X) do GC, verificando-se presença de tecido fibro-cartilaginoso (A). Fotomicrografia (H/E – 10X), do GT onde também se verifica presença de tecido fibro-cartilaginoso no foco de fratura (B).

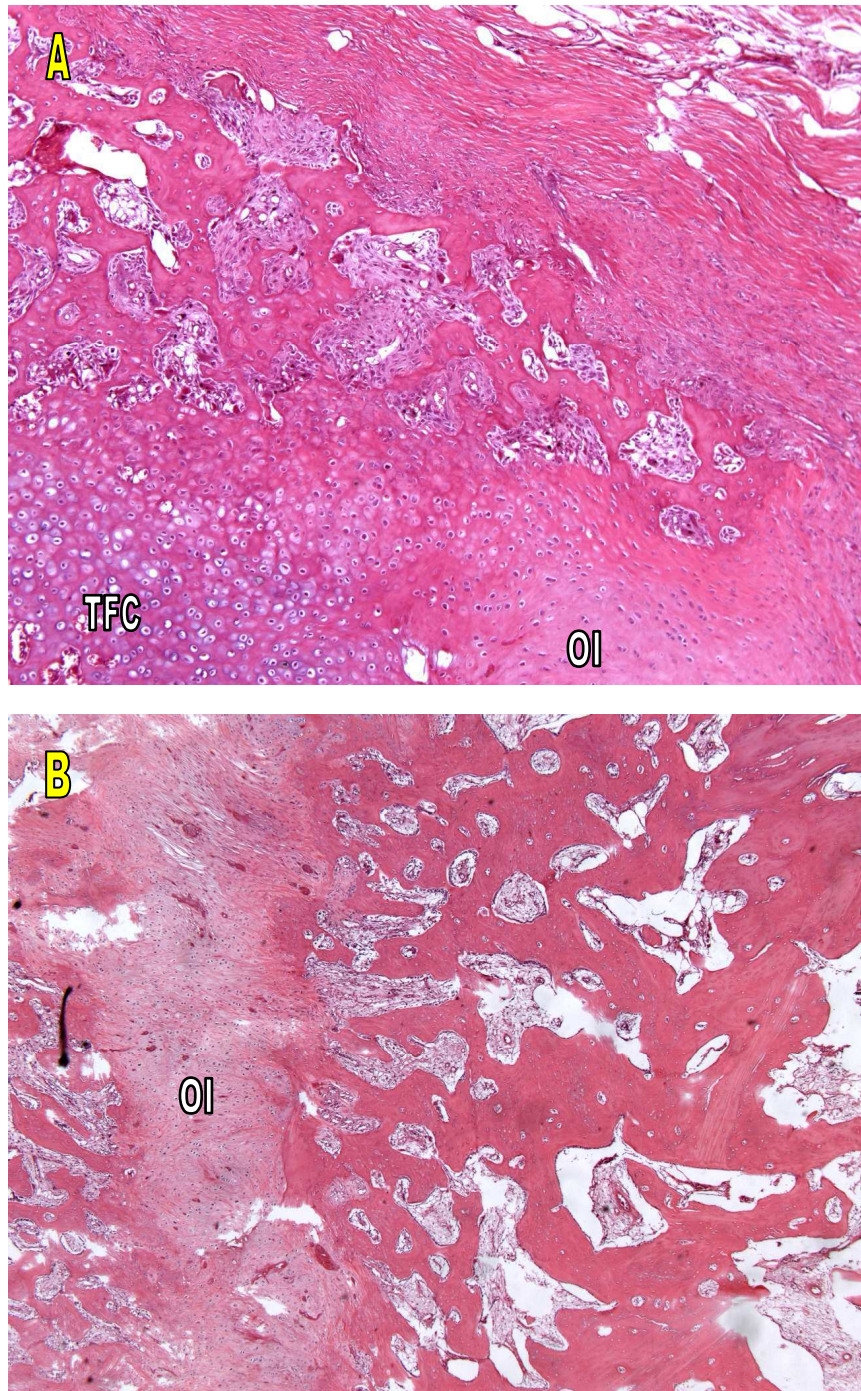


Figura 7 – Avaliação histológica do M2. Fotomicrografia (H/E – 10X) do GC, verificando-se ainda tecido fibrocartilaginoso no foco de fratura, porém com áreas de osso imaturo (A). Fotomicrografia (H/E – 4X), do GT onde se verifica osso imaturo no foco de fratura (B).

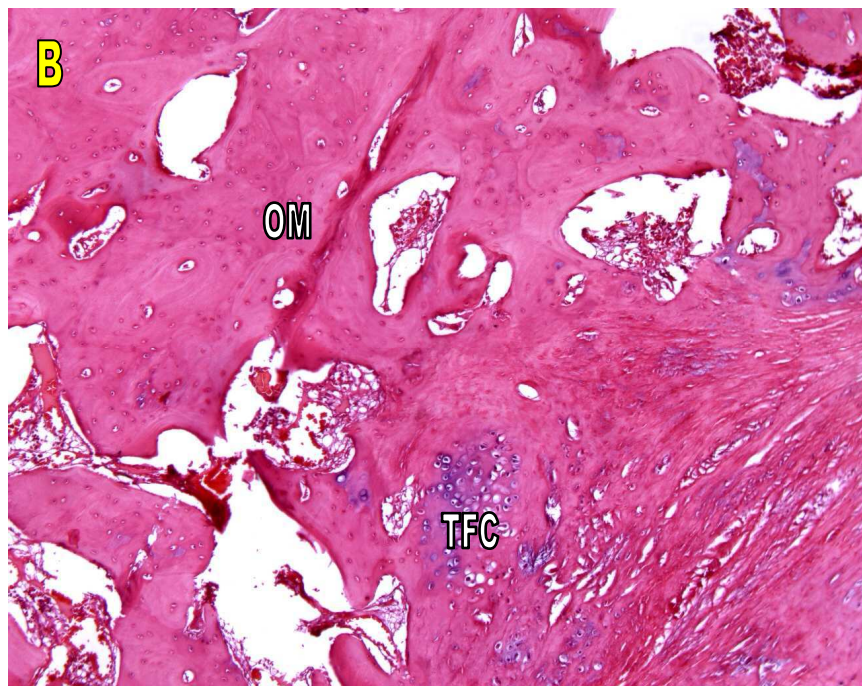
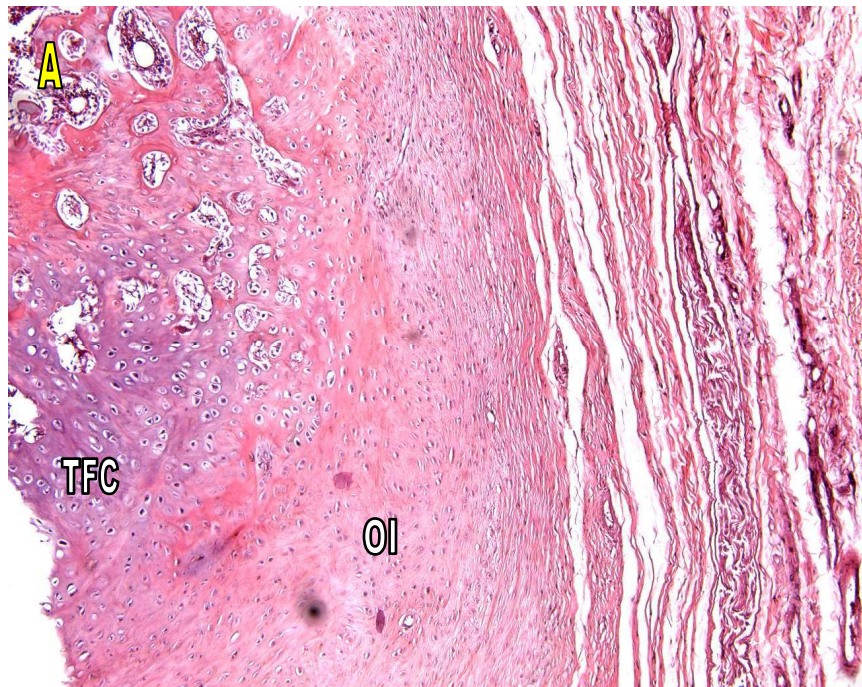


Figura 8 – Avaliação histológica do M3. Fotomicrografia (H/E – 10X) do GC, demonstrando grande quantidade de osso imaturo e pequenas áreas de tecido fibro-cartilaginoso (A). Fotomicrografia (H/E – 10X) do GT, onde se verifica cicatrização avançada com presença de osso maduro e fibro-cartilaginoso (B).

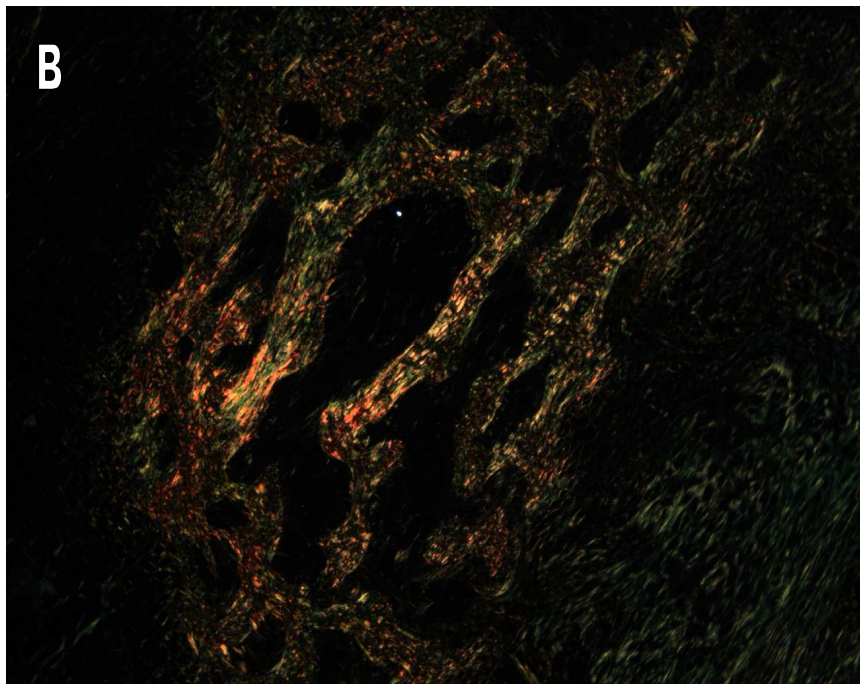
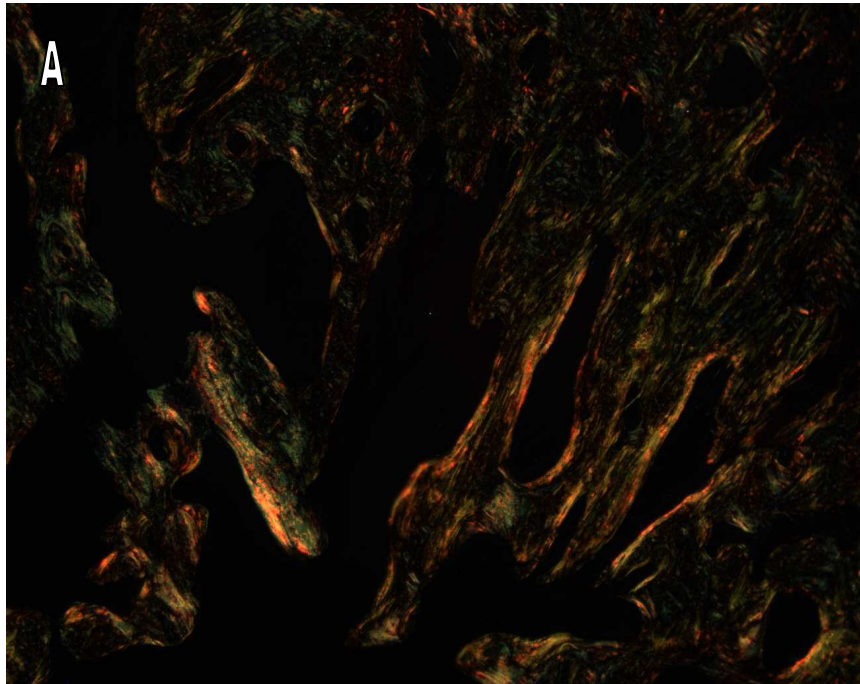


Figura 9 – Técnica histoquímica (Sirius Red – 10X), demonstrando a semelhança do padrão uniforme das fibras colágenas verificados em ambos os grupos estudados, tratado (A) e controle (B).

5. DISCUSSÃO

O uso de material bioativo sintético nos processos de reparação óssea está difundindo-se de forma acelerada no campo da medicina veterinária. Muitos deles são hoje usados na rotina cirúrgica ortopédica, contribuindo com a rápida e adequada resolução dos traumas ósseos, além de baixo custo, fácil obtenção e boa estabilidade. Assim, os estudos desenvolvidos com esses materiais auxiliaram no melhor conhecimento da resposta do tecido ósseo de uma espécie definida, neste caso, desde o ponto de vista radiográfico, histológico e histoquímico.

No estudo, a coleta do osso autógeno foi realizada de forma prática e simples como relatado por Bojrab (1996). Não foram verificadas infecções associadas ao enxerto autógeno utilizado na falha óssea do rádio dos animais, embora Piermattei & Flo (1999) notifiquem que a possibilidade desse evento ocorrer é mínima quando são empregados procedimentos assépticos, contudo a ocorrência de problemas pós-operatórios, como dor local e drenagem de seromas foi comum em 50% dos animais do grupo controle, observação essa já manifestada por Betz (2002), quando informou que a obtenção de auto-enxerto de osso esponjoso da crista ilíaca pode originar complicações. Ainda Youger & Chapman (1989) já tinham verificado que tais complicações ocorrem em cerca de 10% dos casos. Provavelmente neste estudo isto pode ter ocorrido em função de fatores mencionados por Pinto Júnior (1990), Itho et al. (1998) e por Fitch et al. (1997), porém nos casos verificados no estudo o problema foi resolvido após drenagem e continuidade da antibioticoterapia.

Os resultados dos valores atribuídos aos eventos de reparação óssea, na análise radiográfica do primeiro momento, não mostraram diferença estatística significativa entre os grupos, observação esta que sugere o polímero de mamona, utilizado no estudo, contribuir com a osteocondução e não com a osteoindução na formação de tecido ósseo. Tais informações condizem com as relatadas por Ignácio et al. (1997) ao testarem produto à base de mamona em

defeitos de rádio de coelhos durante 2, 4, 8 e 16 semanas, e reforçada ainda por comentários de Maria et al. (2003) que realizaram pesquisas com o produto em 12 cães. Ainda neste momento verificou-se histologicamente que o tecido fibrocartilaginoso desenvolveu-se melhor no grupo controle, resultando numa diferença registrada estatisticamente. Dado esse que nos leva a pensar que o tecido fibrocartilaginoso que se desenvolveu não invadiu de forma regular a biomassa colocada na falha óssea. Essa observação está corroborada por achados histológicos de Ignácio e colaboradores (1997) e ainda por Maria et al. (2003) onde notificam que a poliuretana de mamona é inicialmente envolvida por uma lâmina de osso de organização e maturação progressiva.

No segundo momento foi verificado que a formação do calo ósseo ocorreu em sua maioria, antes no foco de fratura do grupo controle, esses dados nos levam a sugerir que embora o membro estivesse imobilizado, o local de fratura dos animais tratados apresentou graus de movimentação que afetaram mais o foco onde se utilizou a biomassa. Essa observação pode ser reforçada por informações emitidas por Leonel et al. (2003) onde relataram que a condição fundamental de um biomaterial para a estabilização e neoformação tecidual é a presença de porosidade na arquitetura interna, onde o polímero de mamona apresenta poros irregulares. Por outro lado os comentários de Ignácio (1995) relatam que tal desvantagem é ainda controversa. No mesmo momento verificamos ainda, que histologicamente um maior número de amostras do G2 apresentou formação de osso imaturo com evolução para osso maduro, o que resultou em diferenças estatisticamente significativas. Tal avaliação nos leva a acreditar que a substituição do volume do polímero por tecido ósseo ocorre mais lentamente quando comparado com o enxerto autógeno e esse comportamento pode ter sido responsável pela diferença verificada, observação esta consolidada por conclusão manifestada por Jacques et al. (2004) ao estudarem o papel da poliuretana de mamona como substituto do enxerto ósseo autógeno em coelhos. Embora os estudos de Leonel et al. (2003) não tenham objetivado fazer comparações de materiais e, ainda trabalhando com espécie diferente, os mesmos informam que histologicamente

o polímero induz a neoformação tecidual de maneira progressiva, sendo essa pesquisa acompanhada durante quatro meses. Já Calixto et al. (2001) ao avaliarem a biocompatibilidade da resina natural derivada do óleo de mamona em cavidade de extração dental de rato, e ao analisarem a possível interferência do material no tempo de reparo alveolar, verificaram histologicamente atraso na ordem de 13 a 20% no reparo em animais implantados, com menor neoformação óssea. Resultados opostos foram apresentados por Figueiredo et al. (2004) ao fazerem comparações de implantes de osso bovino desmineralizado, hidroxiapatita porosa de coral, poliuretana de mamona e enxerto ósseo autógeno no reparo de defeito ósseo induzidos em fêmur de coelho. Os estudos concluíram que mesmo a biomassa de mamona apresentando uma grande propriedade osteocondutora e menor reação inflamatória, quando comparada ao osso bovino desvitalizado, a invasão de seus poros e preenchimento das cavidades císticas por tecido ósseo foi mais eficaz na reparação tecidual. A diferença dos resultados pode estar relacionada com a espécie avaliada ou o local da fratura.

Na avaliação radiográfica do terceiro momento verificou-se que haviam focos de fraturas com ponte óssea, evento esse que se mostrou mais completo no grupo controle do que no tratado. As fases de diminuição da linha de fratura e aparecimento do calo ósseo também foram mais evidentes neste grupo. Tais achados podem estar relacionados com o comportamento do auto-enxerto ósseo fresco que, de acordo com Goldberg & Stevenson (1987) é muito efetivo na indução da consolidação óssea. Por outro lado o biomaterial utilizado, por ser osteocondutor, teria uma função de arcabouço (BAUER & SMITH, 2002), que contribuiria com a incursão capilar e neoformação óssea em seu interior (GREENWALD et al., 2001). Estas notificações auxiliam na interpretação do resultado obtido no estudo histológico, que avalia a presença de osso maduro e onde mostra que não há diferença estatística significativa entre os grupos. Com respeito a este evento, informações notificadas por Ziliotto et al. (2003) colaboram com a interpretação dos achados deste estudo, quando trabalharam com polímero de mamona em falha óssea induzida tanto

em rádio quanto em ulna de cães e notaram que o polímero funcionou como substituto de cimento ósseo.

Pereira Júnior (2005) em seu estudo histológico, com mamona na forma granular em defeitos ósseos diafisários de rádio de coelhos, observou que o mesmo foi biocompatível e osteointegrável, não tendo a mesma capacidade de regeneração óssea que o auto-enxerto. Nesta pesquisa verificamos que embora ao longo do tempo de estudo, tenha havido uma melhor resposta do auto-enxerto principalmente na avaliação radiográfica, já na histológica essa diferença demonstrou não ser estatística na fase final dos eventos. A diferença dos resultados encontrados pelo autor acima pode estar relacionada com a forma de apresentação do polímero utilizado, espécie e metodologia praticada.

No estudo de Laureano Filho et al. (2007) foram observados defeitos ósseos induzidos em crânios de coelhos utilizando matriz óssea desmineralizada humana, resina poliuretana derivada de óleo de mamona e como controle sangue do animal, após exame histológico os pesquisadores concluíram que a poliuretana foi absorvida mais tardiamente, porém com melhor resultado que a matriz óssea desmineralizada humana. No presente estudo o processo de reabsorção óssea, também se verificou resultados próximos ao grupo controle, A presença de osso maduro aos 90 dias nos grupos (controle e tratado) sugere que o comportamento do material a base de mamona mantenha uma atividade osteocondutiva que contribua com a reparação óssea.

No estudo a presença do enxerto derivado da mamona não foi verificada nas lâminas histológicas. Autores como Ignácio et al. (1997), Calixto et al. (2001), Ignácio et al. (2002) e Maria et al. (2003) comentam que o polímero pode ser envolvido por tecido fibroso, com ou sem proliferação óssea ao seu redor, já Ziliotto et al. (2003) e Pereira Júnior (2005) informam que o polímero não é reabsorvido ou substituído por tecido ósseo, no entanto, os

autores acima citados utilizaram o enxerto de mamona na forma de blocos, pinos pré-moldados ou grânulos. Na pesquisa não se verificaram as informações anteriormente descritas, o que sugere que pode haver ocorrido uma diminuição do volume do implante à medida que se formava o tecido ósseo, observação esta já manifestada por Leonel et al. (2003) e Laureano Filho et al. (2007) quando estudaram o implante na forma de biomassa.

A avaliação histoquímica mostrou que o padrão das fibras colágenas apresentou características de uniformidade, assim como relatado por Croci (1997), parecidas em ambos os grupos, alertando que o polímero de mamona estudado não teve maiores interferências no processo fisiológico de cicatrização óssea, contudo não foram encontrados outros autores que utilizaram a mesma técnica histológica para uma melhor contribuição desta discussão.

O presente estudo mostrou também que o uso de biomassa de polímero de mamona é um material sintético que apresenta biocompatibilidade, osteocondução e contribui para o processo de reparação óssea, observação essa que está de acordo com as notificadas por Ignácio et al. (1997), Maria et al. (2003), Ignácio et al. (2002) e Pereira Júnior (2005).

6. CONCLUSÕES

Nas condições em que o trabalho foi realizado e de acordo com os resultados obtidos, conclui-se que:

1 - O enxerto de polímero de mamona, na forma de biomassa contribuiu com o processo de reparação de fratura, mostrando boa atividade quando comparado ao auto-enxerto esponjoso.

2 – A análise radiográfica mostrou melhor consolidação óssea nas fraturas do grupo de auto-enxerto.

3 - Pela avaliação histológica o polímero de mamona na forma de biomassa é biocompatível, sendo reabsorvido ao longo do processo cicatricial.

4 – No estudo histoquímico o arranjo das fibras colágenas mostrou comportamento parecido em ambos os grupos, o que sugere boa atividade do polímero.

5 – O biomaterial usado pode ser indicado como opção em cirurgias ortopédicas com perda de tecido ósseo, evitando que outros métodos mais invasivos venham a ser realizados no mesmo paciente.

REFERÊNCIAS:

BANKS, W. J. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole. p.137-213, 1992.

BAUER, T. W.; MUSCHLER, G. F. Bone graft materials: An overview of the basic science. **Clin Orthop Relat Res**. 371:10-27, 2000.

BAUER, T. W.; SMITH, S. T. Bioactive Materials in Orthopaedic Surgery: Overview and Regulatory Considerations. **Clin Orthop Relat Res.**, n.395, p.11-22, 2002.

BAYER, C. **Biomecânica – Polímero osteointegrável Bioosteo**. Capturado em 10 mar. 2008. Online. Disponível em <http://www.biomecânica.com.br/bioosteo.htm>.

BETZ, R. R. Limitations of autograft and allograft: new synthetic solutions. **Orthopedics**, 25 (Suppl 5):S561-570, 2002.

BIOOSTEO. Bioosteo. 2008. Disponível em: <<http://www.biomecanica.com.br>>. Acesso em: 10 mar, 2008.

BOJRAB, M. J. **Técnicas Atuais em Cirurgia de Pequenos Animais**. 3ª ed. São Paulo: Roca. p.786-787, 1996.

BUCHOLZ, R.W. Nonallograft osteoconductive bone graft substitutes. **Clin Orthop Relat Res.**, n.395, p.44-52, 2002.

CALIXTO, R. F. E.; TEÓFILO, J. M.; BRENTGANI, L. G.; LAMANO CARVALHO, T. L. Implante de um floculado de resina de mamona em alvéolo dental de rato. **Pesqui Odontol Bras**, v. 15, n. 3, p. 257-262, jul./set. 2001.

CHIERICE, G. O. **Ageuniara – USP desenvolve osso artificial a partir do óleo de mamona**. Capturado em 12 abr. 2003. Online. Disponível em <http://www.uniara.com.br/ageuniara/artigos.asp/Artigo=27>.

COOK, S. D.; RUEGER, D. C. Osteogenic protein-1. **Clin Orthop**. n.324, p.29-38, 1996.

CROCI, A. T. Retardo de consolidação e pseudoartrose. **Acta Ortop Bras**. 5: 26-34, 1997.

DELLMANN, H. D.; BROWN, E. M.; LANZIERI, P. D. **Histologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982.

DENNY, H. R.; BUTTERWORTH, S. J. **Bone grafts**. In: A guide to canine and feline orthopaedic surgery. 4.ed. London: Blackwell. Cap.2, p.18-23, 2000.

DIAS, M. I.; LOURENÇO, P.; RODRIGUES, A.; AZEVEDO, J.; VIEGAS, C.; FERREIRA, A.; CABRITA, A. S. O efeito da quantidade do enxerto de osso esponjoso autólogo utilizado na regeneração óssea num modelo experimental de osteotomia da tíbia. **Acta Med Port**, 20: 37-46, 2007.

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

FITCH, R.; KERWIN, S.; SINIBALDI, K.R.; NEWMAN-GAGE, H. **Compen Contin Educ Pract Vet**. v. 19, n. 5, p. 558-578, 1997.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca. p.848, 2001.

FOX, S. M. Cancellous bone grafting in the dog: An overview. **J Am Anim Hosp Assoc**, Golden, v.20, p.840-848, 1984.

FRANCO, K. L.; BORGES, A. P. B.; VILORIA, M. I. V., et al. Pure synthetic hydroxyapatite: transmitted light microscopy osteointegration aspects. **Arq Bras Med Vet Zootec**. 53:1-7, 2001.

GAUTHIER, O.; GOUIN, F.; AGUADO, E. et al. Biomaterials for bone substitution and bone allografts: compared study in full weight-bearing conditions. **Revue Med Vet**. 148(10): 813-22, 1997.

GOLDBERG, V.; STEVENSON, S. Natural history of autografts and allografts. **Clin Orthop.**, v. 225, p. 7-16, 1987.

GORSE, M. J. Using external skeletal fixation for fractures of the radius and ulna and tibia. **Vet Med**, v.93, p.463-467, 1998.

GONÇALVES, E. A. L.; GUIMARÃES, S. A. C.; GARCIA, R. B. Proteína morfogenética óssea: Terapêutica molecular no processo de reparo tecidual. **Revista Odontol Univ São Paulo**, jul/set. 12(3): 22-9, 1998.

GREENWALD, A.; BODEN, S.D.; GOLDBERG, V.M.; KHAN, Y.; LAURENCIN, C.T.; ROSIER, R.N. Bone-Graft Substitutes: Facts, Fictions, and Applications. **Bone Joint Surg. Am. Vol.**, v.83, suppl., p.98S-103S, 2001.

GUERRA, P. C. Utilização de perfurações na consolidação de fraturas do terço distal do rádio em cães: avaliação radiográfica, densitométrica, tomográfica e histológica. Tese de doutorado. UNESP. Botucatu-SP, 2002.

HOLLINGER, J. O.; BREKKE, J.; GRUSKIN, E. et al. Role of bone substitutes. **Clin Orthop.**, n.324, p.55-65, 1997.

IGNÁCIO, H. **Utilização do cimento derivado da mamona no preenchimento de falhas óssea: estudo experimental em coelhos.** 1995. 90f. Dissertação (Mestrado em Ortopedia e Traumatologia) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

IGNÁCIO, H. et al. Estudos sobre a aplicabilidade médica da poliuretana derivada da mamona. **Resenha Ortop**, v.6, p.10-12, 1996.

IGNÁCIO, H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; CHIERICI, G. Uso da poliuretana derivada do óleo de mamona para preencher defeitos ósseos diafisários segmentares do rádio. **Rev Bras Ortop**. Vol. 32. nº 10. Outubro, 1997.

IGNÁCIO, H. **Avaliação da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães.** 1999. 91f. Tese (Doutorado em ortopedia e traumatologia) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

IGNÁCIO, H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; CHIERICI, G. Utilização da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães. **Rev Bras Ortop**. Vol. 37. nº 5. Maio, 2002.

ITHO, T.; MOCHIZUKI, M.; NISHIMURA, R.; MATSUNAGA, S.; KADOSAWA, T.; KOKUBO, S.; YOKOTA, S.; SASAKI, N. Repair of ulnar segmental defect by recombinant human bone morphogenetic protein-2 in dogs. **J Vet Med Sci.**, v.60, p.451-458, 1998.

JACQUES, J. W.; FAGUNDES, D. J.; FIGUEIREDO, A. S.; INOUE, C. M.; SCAPULATEMPO, R. P.; SASSIOTO, M. C. P. O papel da poliuretana de mamona como substituto do enxerto ósseo autógeno em coelhos. **Rev Col Bras Cir**. Vol. 31 – Nº 4: 236-241, Jul. / Ago. 2004.

JOHNSON, A. L. **Bone grafting.** In: OLMSTEAD, M.L. Small animal orthopedics. St. Louis: Mosby. p.146-151, 1995.

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica.** 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

LAPPIN, M. R. et al. Fractures of the radius and ulna in the dog. **J Am Anim Hosp Assoc**, v.19, nº 5, p.643-650, 1983.

LAUREANO FILHO, J. R.; CASTELO BRANCO, B. L.; ANDRADE, E. S. S.; BARBOSA, J. R. A. Comparação histológica entre o osso desmineralizado e

polímero de mamona sobre a regeneração óssea. **Rev Bras Otorrinolaringol.** 73(2):186-92, 2007.

LEONEL, E.C.F.; MANGILLI, P.D.; RAMALHO, L.T.O.; ANDRADE SOBRINHO, J. A importância da porosidade interna do polímero de mamona durante a neoformação óssea. Estudo em ratos. **Cienc. Odontol. Bras.**, v. 6, n.3, p.19-25, 2003.

LU, L.; CURRIER, B. L.; YASZEMSKI, M. J. Synthetic bone substitutes. **Curr Opin Orthop.**, v.11, p.383–390, 2000.

MARIA, P. P.; PADILHA FILHO, J. G.; CASTRO, M. B. Análise macroscópica e histológica do emprego da poliuretana derivada do óleo de mamona (*Ricinus communis*) aplicada na tíbia de cães em fase de crescimento. **Acta Cir Bras.** 18 (4). Jul-Ago, 2003.

MARKEL, M.; BOGDANSKE, J. Dual-energy X-ray absorptiometry of canine femurs with and without fracture fixation devices. **Am J Vet Res.** Schaumburg. v.55, p.462-466, 1994.

MASSONE, F. **Anestesiologia Veterinária: Farmacologia e Técnicas.** 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 225p, 1999.

McLAIN, D. L.; BROWN, S. G. Fixation of radius and ulna fractures in the immature dog and cat. Review of popular techniques and a report of eight cases using plate fixation. **Vet Surg.** Philadelphia, v.11, p.140-145, oct/dec., 1982.

MERCK. Merck Source – Health Information. **Osseointegration.** 2005. Disponível em: < http://www.mercksource.com/pp/us/cns/cns_home.jsp>. Acesso em: 25 jul. 2005.

MOORE, W.R.; GRAVES, S.E.; BAIN, G.I. Synthetic bone graft substitutes. **Anz J Surg.**, v. 71, p. 354-361, 2001.

PENWICK, R. C.; MOSIER, D. A.; CLARK, D. M. Healing of canine autogenous cancellous bone graft donor sites. **Vet Surg,** Hagerstown, v.20, n.4, p.229-234, 1991.

PEREIRA JÚNIOR, O. C. M. **Comparação entre polímeros de mamona(*Ricinus communis*) e auto-enxerto ósseo esponjoso no tratamento de defeito ósseo segmentar induzido no rádio de coelhos.** 2005. 105f. Dissertação (mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

PEREIRA, M. M.; ORÉFICE, R. L.; MANSUR, H. S.; LOPES, M. T. P.; TURCHETTIMAIA, R. M. M. Preparation and Biocompatibility of Poly (Methyl

Methacrylate) Reinforced with Bioactive Particles. **Mat. Res.**, v.6, n.3, p.311-315, 2003.

PERRY, C. R. Bone repair techniques, bone graft, and bone graft substitutes. **Clin Orthop**, Philadelphia, v.360, p.71-86, 1999.

PHILLIPS, L. G. Cicatrização das feridas. In: TOWNSED JÚNIOR, C. M. **Sabiston tratado de cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. P. 141-153, 2003.

PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L. **Manual de Ortopedia e Tratamento das Fraturas dos Pequenos Animais**. 3ª ed. São Paulo: Manole. p.139, 1999.

PINTO JÚNIOR, H. S. **Utilização de enxertos ósseos homólogos preservados na reparação de fraturas cominutivas de ossos longos de cães**. 1990. 55f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

PROPHET, E. B.; MILLIS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN, L. H. **Laboratory methods in histotechnology**. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1992.

REMEDIOS, A. Bone and bone healing. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**. 29:1029-44, 1999.

RUDD, R. G.; WHITEHAIR, J. G. Fractures of the radius and ulna. **Vet Clin North Am: Small Anim Pract**, v.22, nº 1, p.135-148, 1992.

SANTOS NETO, F. L.; VOLPON, J. B. Experimental nonunion in dogs. **Clin Orthop**. 187: 260-271, 1984.

SCHENA, C. J. The procurement of cancellous bone for grafting in small animal orthopedic surgery: a review of instrumentation, technique, and pathophysiology. **J Am Anim Hosp Assoc**, Golden, v.19, p.695-701, 1983.

SCHATZKER, J.; WADDELL, J.; STOLL, J. E. The effects of motion on the healing of cancellous bone. **Clin Orthop**. 245: 282-287, 1989.

SLATTER, D. H. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. Vol. 2. São Paulo: Manole, p. 2006- 2015, 2000.

SLOCUM, B.; SLOCUM, T. D. **Bone graft harvest: distal femoral condyles**. In: BOJRAB, M. J.; ELLISON, G. W.; SLOCUM, B. Current techniques in small animal surgery. 4.ed. Baltimore: Williams & Wilkins. p.909-910, 1998.

STEVENSON, S. Biology of bone grafts. **Orthop Clin North Am**, 30: 543-552, 1999.

ZILIOOTTO, L.; FANTINATTI, A.P.; DALECK, C.R.; PADILHA FILHO, J.G.; SOUZA, A.P.; DINIZ, P.P.V.P. A limb sparing surgery with the use of a cortical allograft preserved in glicerin: an experimental study in dogs. **Acta Cir. Bras.**, v.18, n.2, p.107-115, 2003.

YAMAMOTO T. T.; KAWAKAMI, M.; SAKUDA, M. Defects of the rat premaxilla as a model of alveolar clefts for testing bone-inductive agents. **J Oral Maxillofac Surg**. Philadelphia, Aug. 51(8): 887-91, 1993.

YASKO, A. W.; LANE, J. M.; FELLINGER, E.J. et al. The healing of segmental bone defects, induced by recombinant human bone morphogenetic protein (rtBMP-2). **J Bone Joint Surg**, 74-A(5): 659-70, 1992.

YOUNGER, E. M.; CHAPMAN, M. W. Morbidity at bone graft donor sites. **J Orthop Trauma**, 3:192-195, 1989.