

UFRRJ

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA**

CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

**EFEITO DO ENXERTO ÓSSEO CÓRTICO-ESPONJOSO NO
REPARO DE FALHA CORTICAL ULNAR DE GALINHAS
DOMÉSTICAS.**

Daniel de Almeida Balthazar

2010



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**EFEITO DO ENXERTO ÓSSEO CÓRTICO-ESPONJOSO NO
REPARO DE FALHA CORTICAL ULNAR DE GALINHAS
DOMÉSTICAS.**

DANIEL DE ALMEIDA BALTHAZAR

Sob a Orientação da Professora
Marta Fernanda Albuquerque da Silva

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária na área de concentração de Ciências Clínicas.

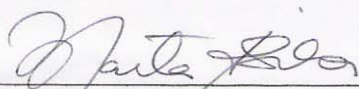
Seropédica, RJ
Junho de 2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

DANIEL DE ALMEIDA BALTHAZAR

Dissertação submetida com requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, na área de Concentração em Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 22/06/2010.



Marta Fernanda Albuquerque da Silva. PhD, USP
(Orientadora)



André Lacerda de Abreu Oliveira. PhD, UFRJ



Marilene de Farias Brito. PhD, UFRRJ

636.508960
798
B197e
T

Balthazar, Daniel de Almeida, 1978-
Efeito do enxerto ósseo córtico-
esponjoso no reparo de falha
cortical ulnar de galinhas
domésticas / Daniel de Almeida
Balthazar - 2010.
57 f.: il.

Orientador: Marta Fernanda
Albuquerque da Silva.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária.

Bibliografia: f. 50-57.

1. Galinha - Teses. 2. Ave
doméstica - Teses. 3. Fraturas -
Teses. 4. Osteogênese imperfeita -
Teses. 5. Transplante ósseo - Teses.
I. Silva, Marta Fernanda Albuquerque
da, 1962-. II. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Curso de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária. III. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais pelo direcionamento e pelas oportunidades oferecidas, à minha esposa, pelo carinho, amizade e dedicação, e especialmente para aquele ainda nem conheço, entretanto me motiva a crescer cada vez mais, meu filho querido.

AGRADECIMENTOS

À Deus não só pela força de lutar e completar mais esta etapa de minha vida, como também por colocar em meu caminho pessoas que me apoiaram e me ajudaram durante todo este percurso.

Aos meus dois grandes amores, minha esposa Tathiana e nosso filho, pessoas muito especiais, as quais agradeço pela força, compreensão, alegria e amor.

Ao meu grande amigo e profissional Douglas Castro, pessoa fundamental em todos os momentos, sem ele simplesmente nada disso aconteceria.

O muitíssimo obrigado ao professor Dr. Paulo Oldemar Scherer que inicialmente acreditou em meu sonho e muito me ajudou nos momentos iniciais.

À professora e orientadora Dra. Marta Fernanda, pela qual tenho profundo respeito e admiração, agradeço pela oportunidade, dedicação e amizade.

Aos amigos e colaboradores Sara Maria de Carvalho e Suzano, Jorge Castro, Rodrigo Cruz, Leonardo Castro, Loide Machado e Dr. Evandro de Toledo Pizza.

Aos meus colegas de mestrado pelo companheirismo e aos professores pelos conhecimentos.

Aos amigos e profissionais da Fundação RIOZOO, especialmente ao meu mestre e amigo Dr. Luiz Paulo Fedullo, pessoa fundamental na escolha de minha pesquisa. Aos amigos Alex Lucas Spadetti e Fernando Troccoli pela ajuda e compreensão.

RESUMO

BALTHAZAR, D. A. **Efeito do enxerto ósseo córtico-esponjoso no reparo de falha cortical ulnar de Galinhas domésticas**. 2010. 57 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

As fraturas em aves representam um desafio para os cirurgiões, pois suas características ósseas peculiares associadas ao tipo de trauma a que geralmente essas espécies são expostas determinam fraturas cominutivas ou até mesmo a perda de segmentos ósseos. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do enxerto ósseo córtico-esponjoso na osteogênese em falha cortical ulnar de galinhas domésticas (*Gallus domesticus*), através do acompanhamento clínico, radiológico e histopatológico da reparação óssea. Foram utilizadas 18 galinhas, fêmeas, com idade aproximada de 70 semanas, pesando aproximadamente dois quilos e meio. Para efeitos de redução no número de animais utilizados, os mesmos foram submetidos ao processo cirúrgico em ambas as asas, cada uma incluída no grupo Controle (Grupo I) ou tratado (Grupo II), e subdivididos aleatoriamente em quatro sub-grupos de acordo com o período de observação. Após jejum hídrico e alimentar de 6 horas foi aplicada pré-anestesia e posteriormente realizada indução anestésica com máscara, seguindo-se a intubação e manutenção em circuito sem reinalação. Após atingirem o plano anestésico adequado, a face lateral da ulna direita foi acessada cirurgicamente, local onde criou-se uma falha cortical de aproximadamente 3,3 mm de largura e 1,6 mm de profundidade. O mesmo procedimento foi realizado na asa esquerda e, após acesso cirúrgico à carena do esterno, foram retirados dois fragmentos ósseos, os quais foram imediatamente seccionados em pedaços com aproximadamente 3mm e implantados na falha óssea já criada na ulna esquerda. Avaliação clínica foi diária até o 10º dia pós-operatório, passando então a semanal até o final do período de observação de cada grupo (14, 35, 60 e 90 dias), quando os animais foram abatidos com tiopental sódico e foram coletados fragmentos das ulnas direita e esquerda para realização dos exames histopatológico e radiográfico *post-mortem* das lesões. A única alteração clínica observada foi hematoma com resolução ao 5º dia. Comparando-se os grupos I e II nos diferentes tempos, foi possível observar que houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) nos parâmetros radiológicos e histopatológicos de proliferação entre os grupos controle e tratado aos 35 e 90 dias de pós-cirúrgico. Entretanto, nos momentos 14 e 60 dias não foram observadas diferenças estatísticas significantes. Quando foram comparados os 18 animais dos grupos Controle e Tratado sem levar-se em conta o tempo de observação, foi notada diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os dois grupos. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o processo evolutivo de incorporação do enxerto ósseo córtico-esponjoso mostrou-se bastante semelhante ao relatado em pequenos animais, além de ter demonstrado um potencial osteogênico satisfatório, mesmo sendo observada a necessidade de um tempo maior para sofrer remodelação óssea quando colocado sobre falhas ósseas estáveis que formam pequenas lacunas.

Palavras-chave: galinha, falha óssea, enxerto, osteogênese.

ABSTRACT

BALTHAZAR, D. A. Effects of cortical-cancellous bone graft in repair of failed ulnar cortex of domestic chickens. 2010. 57 p. Dissertation (Master of Science in Veterinary Medicine). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

Fractures in birds represent a challenge for surgeons because bone peculiar characteristics associated with the type of trauma which these species are exposed, in many cases determine the type comminuted fractures or even loss of bone segments. The aim of this study was to evaluate the effect of cortico-cancellous bone grafting in osteogenesis in cortical ulnar failure of domestic chickens (*Gallus domesticus*) by the clinical, radiological and histopathological study of bone healing. Eighteen female chickens, weighting two and half kilograms with approximately 70 weeks were used. In order to reduce the numbers of animals the both wings were used. For the purpose of reducing the number of animals used, they were subjected to surgical process on both wings, each included in the Control group (Group I) or treated (Group II), and randomly divided into four sub-groups according to the observation period. After fasting from food and water six hours was applied pre-anesthesia and subsequently performed with mask induction followed by intubation and maintenance circuit rebreathing. After reaching the proper anesthetic plane, the side of right ulna was surgically accessed, where it was created a failure of cortical approximately 3.3 mm in width and 1.6 mm in depth. The same procedure was performed in the left wing and after surgical access to the keel of the sternum were removed two bone fragments, which were immediately cut into pieces of approximately 3mm and implanted in bone defects already created in the left ulna. Clinical evaluation was done daily until the 10th postoperative day, then going to weekly until the end of the observation period of each group (14, 35, 60 and 90 days) when the animals were killed with sodium pentobarbital and fragments were collected from right and left ulnae achievement of histopathological and radiographic postmortem injuries. The only abnormality observed was hematoma, with resolution to 5 days. Comparing groups I and II at different times, it was observed that there was a statistically significant difference ($p < 0.05$) in the radiological and histological parameters of proliferation between control and treated groups at 35 and 90 days after surgery. However, at times 14 and 60 days there were no significant differences. Compared to the 18 animals of the treated and control groups without taking into account the time of observation, a statistically significant difference was noted ($p < 0.05$) between the two groups. Based on these results, we can conclude that the evolutionary process of incorporation of cortico-cancellous bone graft was found to be quite similar to that reported in small animals, and has demonstrated a satisfactory osteogenic potential, even revealing the need for a time to suffer greater bone remodeling when placed on bone defects stable form small gaps.

Keywords: Chickens, bone defects, graft, osteogenises.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Esquema demonstrando a vista lateral do osso do esterno, destacando a porção central da carena do esterno (seta), local recomendado por Bennett (1997) para colheita de tecido ósseo cortico-esponjoso (Fonte: Bennet, 1997).....19
- Figura 2: Vista lateral da asa esquerda de galinha doméstica, demonstrando o local da incisão de pele (linha vermelha), estendendo-se 2cm a partir do ponto central do antebraço até as proximidades da articulação úmero-redio-ulnar.....28
- Figura 3: Rugina de Farabeuf reta (seta branca) 14 cm inserida entre a ulna e o músculo flexor ulnar do carpo de galinha doméstica, a qual se encontra rotacionada lateralmente expondo a superfície ventral proximal da ulna (seta azul).....28
- Figura 4: Broca fresa 1/8'' (seta branca), com 3,2 mm de diâmetro e corte lateral, utilizada para confecção da falha óssea na velocidade de 5.000 rotações por minuto.....29
- Figura 5: Falha óssea (seta branca) produzida na face lateral da ulna de galinha doméstica, apresentando aproximadamente 3,3 mm de largura e 1,6 mm de profundidade.....30
- Figura 6: Carena do esterno de galinha doméstica exposta após incisão de pele e afastamento da musculatura peitoral em ambos os lados. Notar a presença de tecido fibrocartilaginoso (seta branca) revestindo a crista da carena.....31
- Figura 7: Carena do esterno de galinha doméstica após exerése do tecido fibrocartilaginoso que reveste sua crista, expondo tecido ósseo cortico-esponjoso. Notar a presença de osso compacto (seta branca) e osso esponjoso (seta verde).....31
- Figura 8: Tecido ósseo (seta branca) seccionado sobre cabo de instrumental metálico com lâmina de bisturi número 24 em fragmentos com aproximadamente 3mm.....32
- Figura 9: Foto meramente ilustrativa demonstrando a contenção física de um exemplar de galinha doméstica, realizada com ambas as mãos em torno de suas asas, encontrando-se estas posicionadas anatomicamente próximas ao corpo do animal.....32
- Figura 10 e 11: (A) Radiografia lateral da região do antebraço direito de galinha doméstica demonstrando a falha óssea criada na porção ventral da ulna (seta). (B) Radiografia palmodorsal da região do antebraço esquerdo demonstrando a falha óssea criada na porção lateral da ulna preenchida com fragmentos de enxerto ósseo cortico-esponjoso (seta).....37
- Figura 12: Fotomicroscopia evidenciando fragmentos de enxerto ósseo (E) distribuídos próximos a falha cortical ulnar de galinha doméstica, envoltos por tecido fibroso desorganizado (F), nos animais do sub-grupo IIa (14 dias) (Hematoxilina-eosina 40X).....38

Figura 13: Fotomicroscopia evidenciando tecido fibroso desorganizado (F) e fragmentos de enxerto ósseo (E) apresentando vasos sanguíneos neoformados entre as trabéculas ósseas (Setas) em falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica do sub-grupo IIa (14 dias) (Hematoxilina-eosina 100X).....	39
Figura 14: Fotomicroscopia evidenciando tecido ósseo neoformado desorganizado na falha óssea (seta) ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica do sub-grupo IIc (60 dias), estendendo-se a partir da cortical (C). Notar a presença de extenso calo externo (CE) (Hematoxilina-eosina 40x).....	40
Figura 15: Fotomicroscopia evidenciando tecido ósseo neoformado apresentando organização moderada na falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica (seta) do sub-grupo IIc (60 dias), estendendo-se a partir da cortical (C). Notar a presença de extenso calo externo (CE) (Hematoxilina-eosina 40x).....	41
Figura 16: Fotomicroscopia evidenciando tecido ósseo neoformado (seta) apresentando remodelação avançada na falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica do sub-grupo Id (90 dias) formando uma ponte entre as duas corticais (C). Notar a ausência de calo externo (Hematoxilina-eosina 40x).....	41
Figura 17: Fotomicroscopia evidenciando ossificação da medular (setas) em falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica do sub-grupo IIc (60 dias) (Hematoxilina-eosina 40X).....	42
Figura 18: Fotomicroscopia evidenciando ossificação da medular (setas) em falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica do sub-grupo IIc (60 dias) (Hematoxilina-eosina 100X).....	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Subdivisões dos grupos controle (grupo I) e tratado (GrupoII) de acordo com o período de observação do pós-cirúrgico em dias.....	25
Quadro 2: Escala semiquantitativa para avaliação do grau de proliferação tecidual nas proximidades da falha óssea, com visibilização radiográfica.....	33
Quadro 3: Escala semiquantitativa para avaliação da reação inicial do perióstio e maturação do tecido ósseo neoformado que preenchia a área entre as duas corticais (falha óssea).....	34
Quadro 4: Escala semiquantitativa para avaliação da quantidade total de tecido ósseo neoformado.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados expressos em escores do grau de proliferação tecidual nas proximidades da falha ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica ao exame radiográfico(PT); reação inicial do periósteo e a maturação do tecido ósseo neoformado que preenchia a área entre as duas corticais (FO); e a quantidade total de tecido ósseo neoformado (TN), soma da pontuação de cada animal (Σ), a média desta soma (\bar{x}) e o desvio padrão (SD).....43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 Osteologia.....	3
2.2 Osteologia das Aves.....	6
2.3 Reparação Óssea.....	7
2.4 Ortopedia em Aves.....	12
2.5 Enxerto Ósseo.....	13
2.5.1 Histórico.....	13
2.5.2 Classificação dos Enxertos.....	14
2.5.3 Propriedades do Enxerto ósseo.....	15
2.5.4 Enxerto Ósseo Cortical.....	15
2.5.5 Enxerto Ósseo Esponjoso.....	17
2.5.6 Colheita e Manipulação do Enxerto.....	18
2.6 Anestesia e Cuidados Pré e Pós-cirúrgicos.....	20
2.7 Antibioticoterapia.....	21
2.8 Avaliação do Reparo Ósseo.....	22
3 MATERIAL E MÉTODO.....	24
3.1 Animais.....	24
3.2. Quarentena e adaptação dos animais.....	24
3.3 Grupos experimentais.....	25
3.4. Preparação pré-operatória.....	25
3.5 Anestesia.....	26
3.6 Protocolo experimental.....	26
3.7 Procedimentos pós-operatórios	30
3.8 Avaliações.....	33
4 RESULTADOS.....	36
5 DISCUSSÃO.....	43
6 CONCLUSÕES.....	50
7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	51

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a pesquisa e o atendimento médico a espécies silvestres cresceram muito devido ao interesse na preservação e na utilização como animais de companhia. Assim, vários estudos têm sido realizados para suprir necessidades encontradas no atendimento a estes, dentre eles as aves (DALMOLIN et al., 2007).

Na clínica aviária, uma grande proporção dos problemas tem resolução cirúrgica e dentre as cirurgias, as fraturas de ossos longos estão entre as mais comuns (LEOTTE et al., 2004). Em decorrência de uma anatomia diferenciada e de uma função muito especializada, as fraturas nos ossos longos das asas tornam-se ainda mais desafiadoras, devendo promover o correto alinhamento dos fragmentos ósseos, mantendo a biomecânica normal, além de proporcionar uma rígida estabilização da fratura (YAMAZOE et al., 1994).

As falhas ósseas constituem grande desafio ao cirurgião ortopédico e são comuns na cirurgia ortopédica aviária, devido às características ósseas peculiares deste táxon, associadas ao tipo de trauma a que geralmente as aves são expostas (BOLSON et al., 2005). Os ossos distais dos membros torácicos e pélvicos das aves são recobertos por uma pequena quantidade de tecido mole, resultando em fraturas abertas e cominutivas, com a presença de várias esquirolas ósseas e até mesmo a perda de algumas delas (BENNET, 1997).

Uma das principais opções para preenchimento de falhas ósseas provocadas por fraturas cominutivas de ossos longos, é a substituição de um segmento ou o preenchimento de falha utilizando-se enxerto ou implante, funcionando estes como adjuvantes no tratamento (HENRY; WADSWORTH, 1981; SANTOS; RAHAL, 2004).

O enxerto de osso esponjoso autólogo apresenta vantagens sobre outros tipos de enxertos ou implantes, por apresentar, além de propriedades osteocondutoras, elevado potencial osteogênico pelo transplante de células viáveis da linha osteoblástica; propriedades osteoindutivas pela promoção de quimiotaxia, mitose e diferenciação de células mesenquimatosas pluripotenciais (CMP) em células das linhas condrogênica e osteogênica. Este tipo de enxerto ósseo possui também as vantagens de histocompatibilidade e ausência de risco de transmissão de doenças infecto-contagiosas (DIAS et al., 2007). A ausência de propriedades mecânicas é compensada pela grande capacidade osteogênica responsável por rápida neoformação de tecido ósseo no local de fratura, o que irá contribuir para rápida estabilização (STEVENSON, 1998).

Estudos ortopédicos com aves vêm sendo realizados no intuito de encontrar uma maneira eficiente de proporcionar reparação óssea. Resultados satisfatórios, mas muitas vezes contraditórios já foram encontrados, demonstrando a necessidade de mais pesquisas na área (ALIEVI, 2000). Apesar de haver indicação na literatura clássica para o uso de enxertos esponjosos em aves, não há relatos de avaliações científicas da reparação óssea após sua aplicação.

Portanto, o presente trabalho se justifica por fornecer informações sobre um método de tratamento que pode dar estímulo adicional à reparação óssea, processo essencial na resolução de uma afecção cada vez mais desafiadora na medicina aviária, caracterizando-se como técnica de baixo custo e boa aplicabilidade.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do enxerto ósseo córtico-esponjoso na osteogênese em falha cortical ulnar de Galinhas domésticas (*Gallus domesticus*), através do acompanhamento clínico, radiológico e histopatológico da cicatrização óssea.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Osteologia

O esqueleto é o tecido conjuntivo primário de sustentação dos vertebrados, sendo constituído de ossos de formas e tamanhos diferentes. Além de suas funções esqueléticas de suporte, proteção e locomoção, o osso constitui um importante reservatório de minerais, principalmente o cálcio e o fósforo (WASSERMAN; KALLFELZ; LUST, 1996; WHITSON, 2001). Está sob controle de fatores sistêmicos, como os hormônios, e fatores locais, como os fatores de crescimento e citocinas (KATCHBURIAN; ARANA, 2004).

Sua composição difere dos outros tipos de tecidos mesenquimais, devido ao seu elevado conteúdo mineral, o qual é responsável pela dureza e rigidez (WASSERMAN; KALLFELZ; LUST, 1996; BOSKEY, 1998).

Os componentes da matriz óssea constituem a maior parte da massa tecidual. A matriz extracelular ocupa entre 92 e 95% do volume tecidual, sendo formada por vários componentes orgânicos e inorgânicos. A parte inorgânica representa cerca de 67% do peso do osso e é formado predominantemente por cristais de hidroxiapatita, que se arranjam ao longo das fibras colágenas e são envolvidos por substância fundamental amorfa (BANKS, 1991; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

A matriz orgânica, também denominada osteóide, constitui cerca de 33% do peso de uma amostra de tecido ósseo. É formada predominantemente por fibras colágenas do tipo I, que representam 95% de sua composição, e por uma pequena fração de substância fundamental amorfa, que contém agregados de proteoglicanos além de outras proteínas não colagenosas (BANKS, 1991; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995, TULLY, 2002).

A associação de hidroxiapatita com fibras colágenas é responsável pela dureza e resistência características do tecido ósseo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995), sendo que suas propriedades tensoras estão diretamente relacionadas às propriedades tensoras das fibras colágenas que o constituem, e as propriedades compressivas estão relacionadas ao conteúdo mineral (BANKS, 1991).

A classificação baseada no critério histológico admite apenas duas variantes de tecido ósseo: o imaturo ou primário e o maduro, secundário ou lamelar. Os dois possuem as mesmas células e os mesmos componentes na matriz óssea, porém, enquanto no tecido ósseo primário as fibras colágenas se dispõem irregularmente, sem orientação definida, no tecido ósseo secundário ou lamelar, essas fibras se organizam em lamelas que adquirem uma distribuição

muito peculiar (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995). Vale ressaltar que ambos podem estar organizados em diferentes configurações: o osso compacto e o esponjoso (BANKS, 1991).

O osso compacto é formado por diversas unidades funcionais denominadas Osteons ou sistema de Havers, que consiste em um canal central, denominado canal de Havers, circundado por 4 a 20 camadas ósseas concêntricas, as lâminas. As células ósseas estão contidas dentro de cavidades, denominadas de lacunas. Os vasos sanguíneos se encontram presentes no interior dos canais de Havers e comunicam-se com a superfície externa e com o canal medular, através de canalículos perpendiculares ao eixo maior dos ossos denominados canais de Volkmann (WASSERMAN; KALLFELZ; LUST, 1996).

O osso esponjoso é constituído por uma rede entrelaçada de finas espículas ósseas denominadas trabéculas, que apesar de apresentarem lâminas concêntricas juntamente com lacunas e células ósseas, o sistema de Havers está ausente (BANKS, 1991).

Nos ossos longos, as extremidades ou epífises são formadas por osso esponjoso com uma delgada camada superficial compacta, enquanto a diáfise é formada quase que em sua totalidade por osso compacto, existindo apenas uma pequena quantidade de osso esponjoso em sua porção mais profunda, delimitando o canal medular. O canal medular dos ossos longos e as cavidades do osso esponjoso são preenchidos pela medula óssea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

O tecido medular é uma forma hiper celular e altamente vascularizada de tecido mesenquimal, que encontra-se dentro da cavidade medular, como um tecido interósseo em todos os ossos longos. Durante o desenvolvimento e o crescimento, esses espaços são preenchidos por medula óssea vermelha, enquanto na vida adulta este tecido fica confinado a um número restrito de locais, como o esterno, e os espaços remanescentes terão sido substituídos por medula óssea amarela (BANKS, 1991).

Nos processos de formação, reabsorção, manutenção e remodelação óssea, participam quatro tipos celulares distintos que derivam de duas linhagens: uma relacionada à formação e manutenção: osteoblastos, células de revestimento ósseo e osteócitos, e outra à reabsorção: osteoclastos (ANDIA; CERRI; SPOLIDORIO, 2006).

Os osteoblastos são células mononucleadas, de origem mesenquimal, que se apresentam como células polarizadas, com núcleo esférico e citoplasma basófilo. São cubóides ou ligeiramente alongadas e formam uma camada celular contínua sobre a superfície óssea que está sendo formada, lembrando o arranjo de um epitélio simples. Quando ativas, possuem um citoplasma rico em organelas de síntese e secreção, como retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi desenvolvidos, grânulos de secreção,

mitocôndrias, vesículas de transporte, vesículas endossômicas, lisossoma, além das proteínas do citoesqueleto (KATCHBURIAN; ARANA, 2004).

A função básica do osteoblasto é a síntese e secreção de componentes da matriz orgânica óssea e, além disso, a participação na mineralização da matriz orgânica. A matriz óssea recém formada, adjacente aos osteoblastos e que ainda não foi calcificada, recebe o nome de osteóide. (BANKS, 1991; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995; WASSERMAN; KALLFELZ; LUST, 1996) Osteoblastos e pré-osteoblastos exibem níveis elevados da enzima fosfatase alcalina na superfície de suas membranas citoplasmáticas, a qual, quando liberada, contribui para o início da mineralização e o progressivo crescimento dos cristais de hidroxiapatita (KATCHBURIAN; ARANA, 2004).

As células de revestimento ósseo representam os osteoblastos que recobrem as superfícies ósseas quiescentes; assim, estas células exibem escassas organelas de síntese e secreção de proteínas e formam uma camada contínua de células interconectadas capaz de manter a homeostase, regulando a concentração plasmática de cálcio por mecanismos parcialmente independentes dos relacionados ao sistema de remodelação óssea. A transição do osteoblasto para células de revestimento ósseo envolve mudanças morfológicas e funcionais graduais que culminam com a diminuição da secreção de proteínas. Estas células de revestimento ósseo têm um importante papel na manutenção e homeostase da matriz óssea e influência no metabolismo de cálcio e fosfato e troca de substâncias. Além disso, acredita-se que sejam responsáveis pela produção de moléculas que ativam a complexa cascata molecular que culmina na remodelação óssea. (MILLER; JEE, 1987; MUNDY, 1991 apud ANDIA; CERRI; SPOLIDORIO, 2006).

Dentro de lacunas na matriz mineralizada encontram-se os osteócitos, células que se originam diretamente dos osteoblastos e mostram uma diminuição gradativa da quantidade de organelas de síntese e de secreção, caracterizando pobre atividade metabólica, porém indispensável para a manutenção da homeostase óssea. Os osteócitos são o tipo celular mais abundante no tecido ósseo, em uma proporção de 10 osteócitos para cada osteoblasto. Comunicam-se com outros osteócitos e células da superfície óssea através de processos citoplasmáticos e junções íntimas (*gap junctions*). São células achatadas ou arredondadas, com citoplasma levemente basófilo ou acidófilo, que dependendo dos estímulos extracelulares, têm função tanto de formar tecido ósseo, como reabsorver a superfície óssea do interior de sua lacuna, em um processo denominado osteólise osteocítica (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

Os osteoclastos são células de reabsorção óssea, grandes, móveis e contendo de 6 a 50 ou mais núcleos, formados a partir da junção de células mononucleadas da linhagem hematopoiética. No local onde se fixam à superfície óssea, apresentam projeções digitiformes, denominadas borda pregueda. Adjacente a esta região, situa-se a zona clara, local destituído de organelas proeminentes. Em osteoclastos ativos, numerosos vacúolos estão presentes no citoplasma, sendo estes lisossomas primários e secundários, intimamente ligados a função de reabsorção óssea. Essas células possuem os mecanismos necessários para dissolução dos minerais ósseos e para digestão da matriz orgânica. Frequentemente, nas áreas de reabsorção óssea, encontram-se dilatações dos osteoclastos, colocadas em depressões escavadas por ações enzimáticas na matriz, denominadas Lacunas de *Howship* (BANKS, 1991).

Apesar da função principal do osteoclasto ser a desmineralização e a degradação da matriz óssea, há evidências que reforçam a idéia de que os osteoclastos são capazes de internalizar e digerir células e/ou restos celulares. Assim, os osteoclastos podem fagocitar osteócitos liberados durante a reabsorção óssea. (ELMARDI; KATCHBURIAN; KATCHBURIAN, 1990 apud ANDIA; CERRI; SPOLIDORIO, 2006).

Exceto nas superfícies articulares, onde recebe uma cobertura de tecido cartilaginoso, o osso é recoberto externamente por uma camada densa de tecido conjuntivo, o periósteo, que se prende à sua superfície através de feixes de colágeno denominados *fibras de Sharpey* e por pequenos vasos sanguíneos. Consiste em uma lâmina de tecido conjuntivo denso externamente e uma osteogênica mais interna (GETTY, 1986). A camada celular é formada por células mesenquimatosas, células osteoprogenitoras, osteoblastos e osteoclastos. No adulto, o envoltório é responsável pela manutenção da superfície óssea a ele associada, tendo importante papel na remodelação óssea e no reparo de fraturas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

A cavidade medular dos ossos longos, as cavidades dos canais de Havers dos ossos compactos e as trabéculas dos ossos esponjosos são recobertas por uma delgada camada de tecido conjuntivo, o endósteo. A camada celular do endósteo é formada por células idênticas às encontradas no periósteo, entretanto é formado por tecido conjuntivo frouxo, em cuja periferia estão localizadas as células típicas do osso (BANKS, 1991).

2.2 Osteologia das aves

Atualmente, existem duas Subclasses de aves, as quais foram classificadas de acordo com a estrutura óssea: os ratitas, que incluem as aves não voadoras; e os carinatas, aves que

possuem um processo ósseo no esterno, denominado carena, local de origem da musculatura peitoral, principal grupo muscular responsável pelo vôo (O'MALLEY, 2005).

A leveza e a resistência são os principais aspectos exibidos pela maior parte do esqueleto das aves (FEDUCCIA, 1986). Histologicamente são semelhantes aos ossos dos mamíferos, entretanto anatomicamente possuem um córtex fino e denso, com uma medular preenchida por numerosas trabéculas ósseas que aumentam a sua resistência. A cortical é semelhante em ambos os sexos, porém a cavidade medular é muito lábil nas fêmeas, funcionando como um importante sítio de reserva de cálcio. Antes da postura, o cálcio oriundo do trato digestório é captado e depositado nas trabéculas da cavidade medular, fenômeno que pode aumentar em 20% o peso do esqueleto (O'MALLEY, 2005).

Diversas adaptações foram exigidas para que estes animais adquirissem capacidade de vôo, dentre elas a transformação do membro anterior em asas. Estas são formadas por uma estrutura esquelética composta pelo úmero, rádio, ulna, ossos carpais, carpometacarpos e três dígitos (O'MALLEY, 2005). O rádio e a ulna constituem os ossos do antebraço. A ulna é consideravelmente mais calibrosa do que o rádio, mas ambos possuem aproximadamente o mesmo comprimento. (FEDUCCIA, 1986).

Três principais músculos circundam a ulna. Na face medial, o músculo ectepicondiloulnar, com origem no epicôndilo lateral do úmero, e inserção nas faces cranial e craniodorsal do corpo da ulna; ainda na face medial, o extensor ulnar do metacarpo, que tem origem no epicôndilo lateral do úmero e a sua margem caudal de seu ventre se prende fortemente à ulna em sua porção proximal e na base das penas secundárias ao longo da maior parte da extensão do antebraço. A face ventro-lateral é recoberta pelo músculo flexor ulnar do carpo, e dorsalmente encontra-se livre de cobertura muscular. (BERG, 1986)

Martin e Ritchie (1994) citam que, quando há necessidade de realização de procedimentos cirúrgicos envolvendo a ulna, o melhor local para acessá-la cirurgicamente é a face dorsolateral do antebraço, próximo ao local de inserção das penas secundárias, gerando danos mínimos aos tecidos moles adjacentes.

2.3 Reparação óssea

A reparação óssea corresponde ao processo biológico que após uma destruição óssea, restaura a continuidade tecidual necessária para o restabelecimento da função (FOSSUM et al., 2005).

Brighton (apud ULBRICH, 2003) afirmou que a reparação de uma fratura pode, na verdade, não ser absolutamente um processo de consolidação, mas um processo de regeneração óssea. Na regeneração, o tecido lesado se auto substitui, não havendo formação de cicatriz. Sendo assim, após o fim dos processos reparativos de uma fratura óssea, forma-se um novo osso no local original da fratura, não havendo mais evidências da lesão anterior (FEINBERG; STEINBERG; HELMAN, 1991 apud ULBRICH, 2003).

Esta regeneração óssea irá ser influenciada por diversos fatores, sejam eles externos ao organismo, sejam sistêmicos ou mesmo fatores intrínsecos ao osso fraturado. Uma dieta balanceada é um dos componentes essenciais para uma boa regeneração óssea. Todos os nutrientes essenciais, algumas vitaminas e minerais são fundamentais para síntese e manutenção adequada da matriz orgânica e inorgânica do osso. Fatores ligados ao próprio animal como a idade, são fatores importantes. Animais mais velhos tendem a possuir atividade osteogênica inferior à dos jovens (FOSSUM et al., 2005).

Intrinsecamente, a regeneração das fraturas irá variar dependendo de fatores biológicos e mecânicos que influenciam na sequência de eventos celulares que irão ocorrer. Todos os processos fisiológicos que ocorrem nos ossos, compreendendo os processos de reparo de fraturas, dependem do suprimento sanguíneo adequado e de uma boa estabilidade (BANKS 1991; FOSSUM et al., 2005).

A circulação normal em ossos longos consiste de um suprimento aferente da artéria nutridora principal, das artérias metafisárias proximal e distal e das artérias periosteais que penetram no osso em áreas de forte ligação fascial. (FOSSUM et al., 2005)

O processo de regeneração de fraturas é uma sequência de eventos celulares que vai desde a injúria até a remodelação bem sucedida do local lesado, iniciando-se a partir de importantes reações biológicas, que são desencadeadas pela própria lesão dos tecidos (BANKS, 1991, JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

Segundo Banks (1991), todo o evento pode ser dividido em estágios, entretanto, vale ressaltar que os mesmos se relacionam, e são caracterizados com base na atividade aparentemente predominante. Os estágios de regeneração das fraturas são:

- Estágio de impacto: momento em que uma quantidade suficiente de energia é absorvida pelo osso resultando em fratura. A direção, a magnitude e a taxa de carga sobre o osso interagem com numerosas propriedades biológicas para resultar em diversos tipos de fraturas. Estas podem ser classificadas de acordo com: localização, direção e número de linhas de fratura; se podem ser reconstruídas para proporcionar suporte de peso; e se ficam expostas ao ambiente (FOSSUM et al., 2005).

- Estágio de indução: a divisão deste estágio como uma entidade separada é puramente didática, visto que os seus eventos ocorrem durante todo o processo de regeneração. As alterações vasculares, a hipóxia tecidual e o conseqüente aumento das concentrações locais de hidrogênio provavelmente são estimuladores do início das diferenciações celulares. (BANKS, 1991)

- Estágio inflamatório: este estágio se inicia logo após a injúria e caracteriza-se pela ruptura da vascularização, pela hemorragia que ela provoca e pela formação do hematoma (HULSE; HYMAN, 1998). Tem duração clínica de um a três dias, e é evidenciado por dor, tumefação e calor. A circulação medular é interrompida na maioria das fraturas de ossos longos, sendo assim, no início, os componentes existentes na vasculatura normal aumentam para suprir a área lesada, visto que a hipóxia e a acidose são características significativas do microambiente. A necrose resultante é o estímulo suficiente para que células inflamatórias migrem para o local da fratura. O hematoma parece acionar moléculas que possuem a capacidade de iniciar as cascatas inflamatórias de respostas celulares críticas para a regeneração da fratura (BANKS, 1991).

As células inflamatórias atraídas para o sítio da fratura secretam mediadores químicos, presentes nos três primeiros dias pós-lesão, sendo importantes na regulação dos eventos iniciais. Moléculas como o fator de crescimento transformador beta e o fator de crescimento derivado de plaquetas, constituem reguladores importantes de proliferação e diferenciação celulares. Estas e outras moléculas podem estar envolvidas na estimulação de quimiotaxia e angiogênese. Esse estágio de desenvolvimento persiste até o aparecimento de elementos cartilagosos e é essencial para o processo de regeneração óssea. Se não houver inflamação não haverá regeneração, enquanto processos inflamatórios exacerbados, característicos de regiões de fraturas infeccionadas (osteomielite), podem retardar ou mesmo impedir o processo de regeneração (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

Estágio de reparação: o trajeto final da formação óssea, seja endocondral (tecido ósseo formado sobre um precursor cartilaginoso), intramembranoso (tecido ósseo formado sem um precursor cartilaginoso, ou por união óssea direta (tecido ósseo formado sem evidência de calo), irá depender do ambiente mecânico da fratura (BANKS, 1991).

A cicatrização óssea indireta ocorre em fraturas com ambiente mecânico instável, ocorrendo formação óssea intramembranosa precoce sob o periósteo, a certa distância do local da fratura. Esta camada proliferativa de células estabelecerá pontes na fenda da fratura, formando uma camada celular espessa e periférica ao hematoma em regressão. Acredita-se que as células osteogênicas desta região proliferem mais rapidamente que os seus vasos

periosteos associados e se diferenciam em condroblastos. Portanto, o calo externo consiste perifericamente em osso neoformado e em cartilagem adjacente à fenda da fratura. Posteriormente, os condrócitos da transição entre o osso e a cartilagem se hipertrofiam e a matriz a eles associada se mineraliza e esses eventos continuam até a massa cartilaginosa ser substituída por tecido ósseo primário (BANKS, 1991). Esse calo em desenvolvimento é responsável pela estabilização precoce da fratura e resulta em relativa união clínica, ponto em que o osso está apto a assumir as forças sustentadoras de peso normais sem a dependência do aparelho de fixação (PIERMATEI; FLO, 1999).

Simultaneamente aos eventos descritos no periosteos, tem-se início a formação do calo endosteal, formado pela proliferação tecidual a partir dos envoltórios endosteos. Este é de fato responsável pelo reparo da fratura (BANKS, 1991).

As células em proliferação do endosteos cortical e trabecular invadem o hematoma em regressão, formando o tecido ósseo que se deposita sobre a superfície interna do osso, em um dos lados da fratura. O tecido forma pontes sobre a fenda e se continua com o osso do outro lado da fratura, demonstrando assim que o osso se forma diretamente, sem intermediário cartilaginoso. Sendo assim, nota-se que a função primária do calo externo e a estabilização da fratura e a reparação de fato do local da fratura é realizado pelo calo interno (BANKS, 1991).

- Estágio de remodelação: com a volta gradual dos ossos às suas atividades normais e forças a que estão sujeitos, a remodelação do calo ósseo irá se iniciar. Assim é que pouco a pouco o tecido ósseo primário do calo vai sendo absorvido e substituído por osso lamelar, até que a estrutura que o osso apresentava antes da fratura seja totalmente refeita (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

Já a consolidação em áreas de contato, de altas forças de compressão e em lacunas pequenas e muito estáveis é descrita como união óssea direta. Esse tipo de união transpassa a maioria dos passos citados indo diretamente ao remodelamento ósseo, havendo presença de calos intercorticais e pequena quantidade de calos medulares em ponte não visíveis radiograficamente. Assim, a quantidade de calo ósseo presente é inversamente proporcional ao grau de estabilidade no local da fratura. (PIERMATEI; FLO, 1999).

Conforme Bennett e Kuzma (1992), a cicatrização óssea não é bem compreendida nas aves e segundo Martin e Ritchie (1994) estudos controlados avaliando o processo de cicatrização óssea em aves são bastante escassos.

Em aves, o principal calo ósseo é intramedular quando a cicatrização óssea ocorre por primeira intenção, e este provê um suporte rápido e rígido, em fratura bem alinhada e estável, o que dificulta a classificação radiográfica das fraturas. Entretanto, a maior parte delas

cicatrização por segunda intenção, assim como demonstrado no trabalho de Teixeira et al. (2004) no qual, mesmo nos casos em que a fratura consolidou sem complicações, havia formação de calo externo, em sua maioria discreto ou moderado, indicando consolidação óssea secundária, característica de imobilização não rígida.

Nesta espécie, assim como em outras, o calo endosteal também é o principal responsável por maior e melhor suporte para cicatrização da fratura (FERRAZ et al. 2008), principalmente em ossos pneumáticos (BENNETT, 2002). Portanto, imobilizações pouco estáveis e técnicas de estabilização que interfiram na formação do calo ósseo endosteal, como é o caso do pino intramedular e do cimento ósseo intramedular, provocam retardo na cicatrização nas aves (TULLY, 2002).

Em um estudo de reparação óssea em pombos domésticos (*Columba livia*), West et al. (1996) relataram a formação de calo cartilaginoso após 15 dias da fratura. Williams et al. (1987); Alievi (2002) verificaram que, devido a esse calo, os sinais radiográficos de consolidação óssea apareceram mais tarde que os sinais clínicos. Salienta-se que a cicatrização óssea e a formação do calo podem ser observadas em radiografias 3-6 semanas após a osteossíntese.

Dalmolin et al. (2007), em estudo da osteossíntese de úmero em pombos com uso de fixador externo, observaram que aos 15 dias de pós-operatório, o exame radiográfico não demonstrava a presença de calo ósseo formado ou ausência de linha de fratura, mas, ao exame clínico, observava-se a presença de calo externo palpável, além de todos os animais apresentarem uso funcional do membro operado. No exame histológico realizado na mesma data, foi observada a formação de um calo constituído por cartilagem hialina, como observado por LEOTTE (2003), também utilizando fixador esquelético externo. Esse calo proporcionou união e estabilização dos fragmentos, mas manteve a linha de fratura radiograficamente visível, concordando com a afirmativa de Williams et al. (1987) e Alievi (2002).

Conti et al. (2005) utilizaram fixador externo do tipo I na osteossíntese de tibiotarso de galinhas (*Gallus gallus*) e observaram um tempo médio para identificação radiológica da cicatrização de 40 dias \pm 11,8 dias. Entretanto, corroborando os resultados de West et al. (1996) e Leotte et al. (2004), clinicamente, observou-se o restabelecimento da plena capacidade do uso do membro, assim como uma rígida estabilização, antes mesmo dos sinais radiográficos.

Alievi et al. 2001 observaram em avaliação histológica durante a cicatrização óssea de fraturas de tibiotarsos de pombos domésticos, que aos 15 dias havia a formação de calo ósseo constituído por cartilagem hialina, trabéculas ósseas trançadas e uma espessa camada do

periósteo. Aos 30 dias, havia menor quantidade de cartilagem hialina e a presença de maior quantidade de trabéculas ósseas trançadas. Aos 45, 60 e 90 dias, não foi observada a presença de cartilagem hialina, havendo reabsorção parcial do calo ósseo, caracterizando a fase de remodelamento ósseo.

Vale ressaltar que, independente da técnica utilizada, busca-se como objetivo o uso controlado do membro fraturado durante o período de convalescença, pois pequenos movimentos minimizam a atrofia por desuso com uma maior rapidez ao retorno normal da função (LEVITT, 1989). Para Bennett e Kuzma (1992), o uso prolongado da imobilização em aves pode levar à “doença da fratura”, sendo essa uma das principais causas de fracasso em ortopedia aviária quando o uso do membro é necessário.

2.4 Ortopedia em aves

Dentre as várias doenças que acometem as aves, estão os cistos de penas, as neoplasias cutâneas, a retenção de ovos e as unhas alongadas. Porém, as fraturas de ossos longos das asas e dos membros pélvicos estão entre as mais frequentes (WILLIAMS et al., 1987).

Muitas aves domésticas, particularmente aquelas das ordens Galliformes e Anseriformes, tornaram-se terrestres através da domesticação, mas ainda possuem um esqueleto que está basicamente adaptado ao vôo. A resistência e a leveza são os principais aspectos exigidos pela maior parte do esqueleto das aves (FEDUCCIA, 1986; TEIXEIRA, 2004; O’MALLEY, 2005), que é formado por ossos leves, de cortical fina e densa, providos de medula óssea ou ocos, com comunicação ou não entre si e com sacos aéreos, e consequentemente com o sistema respiratório (BOLSON et al., 2008).

Os ossos distais dos membros torácicos e pélvicos das aves são recobertos por uma pequena quantidade de tecido mole, que junto com as características descritas anteriormente resultam em fraturas abertas e cominutivas quando sujeitos ao trauma, com a presença de várias esquirolas ósseas e até mesmo a perda de algumas delas (BENNET, 1997). As falhas ósseas constituem grande desafio ao cirurgião ortopédico e são comuns na cirurgia ortopédica aviária, devido às características ósseas peculiares deste táxon, associadas ao tipo de trauma a que geralmente as aves são expostas (BOLSON, 2005a). Uma das principais opções para o tratamento dessas alterações é a substituição de um segmento ou o preenchimento de falha óssea utilizando-se enxerto ou implante (HENRY; WADSWORTH, 1981).

2.5 Enxerto ósseo

2.5.1 Histórico

A aplicação adequada de um enxerto ósseo é, com frequência, o fator crítico que separa o reparo bem sucedido de uma fratura da não-união, ou até mesmo a possibilidade de preservação do membro da amputação (STEVENSON, 1998)

O enxerto ósseo é o tecido ósseo sem vascularização, transplantado para outra região com a finalidade de preencher falhas ósseas criadas por fraturas cominutivas de ossos longos, neoplasias ósseas, não-uniões ou uniões viciosas de fraturas, funcionando estes como adjuvantes no tratamento (HENRY; WADSWORTH, 1981; SANTOS; RAHAL, 2004). O termo “enxerto” implica a transferência de tecido vivo, enquanto “implante” refere-se ao material sem vitalidade aplicado ao corpo. Os implantes, além de osso morto, como por exemplo, osso cortical congelado ou liofilizado, também podem ser constituídos de materiais não-biológicos, como metal ou cerâmica (STEVENSON, 1998).

O uso de aloenxertos vem da antiguidade e sua origem se reveste das características de lenda. Os patronos desses transplantes são os célebres gêmeos Cosme e Damião, nascidos no século III d.C. na Sicília. Cosme, clínico, e Damião, cirurgião, teriam realizado muitas curas e práticas médicas não usuais ao longo dos anos, desagradando o imperador romano Diocleciano, que acabou por sentenciá-los à morte no ano de 287 d.C. No século V, Cosme e Damião teriam patrocinado um milagre na basílica de Roma: o administrador de uma igreja sofria muito devido a um tumor na perna e, exausto, adormeceu durante suas orações. São Cosme e São Damião apareceram-lhe em sonho, removeram o membro doente e o substituíram pelo de um homem que morrera naquele mesmo dia e o administrador acordou totalmente curado (MANKIN et al., 1983 apud ALIEVI, 2006).

A primeira descrição de enxertia óssea data de 1668, quando Van Meeken, um cirurgião holandês, realizou um transplante bem sucedido de fragmentos do crânio de um cão para o crânio de um ser humano. O cirurgião foi forçado a retirar o transplante para evitar a excomunhão pela Igreja. Com o passar do tempo, o enxerto ósseo começou a ser mais usado em função do sucesso clínico do procedimento, muito embora houvesse discussão e opiniões contrárias quanto ao aspecto biológico e reparacional dos enxertos (WEIGEL, 1996; DIAS et al., 2007).

A base científica do transplante ósseo foi estabelecida na metade do século IX com observações sobre as propriedades osteogênicas do osso e periósteo, assim como a influência benéfica do frio na preservação dessas características (FEOFILOFF; JESUS-GARCIA, 1996).

Atualmente, enxertos ou implantes ósseos são amplamente utilizados na medicina humana e de acordo com a Academia Americana de Cirurgiões Ortopédicos, em cerca de 500.000 cirurgias realizadas no ano de 2002, foi utilizado algum tipo de enxerto ósseo, sendo este o tecido mais comumente transplantado (MAXERAS et al., 2002).

Alievi (2006) cita que Wadsworth e Henry, em 1976, foram os primeiros a relatarem a utilização de aloenxerto ósseo cortical na Medicina Veterinária. Os autores realizaram o procedimento em dois felinos, sendo o primeiro caso experimental, no qual foi utilizado enxerto fresco; e o segundo envolveu um felino portador de fratura cominutiva de fêmur, que recebeu enxerto congelado. Ambas as intervenções foram bem-sucedidas, com incorporação completa do enxerto.

A utilização de enxerto ósseo é atualmente um procedimento bem sedimentado na cirurgia ortopédica veterinária, sendo considerado o método de eleição na reposição de falhas ósseas e ressecções amplas (GIOSO, 2002).

2.5.2 Classificação dos enxertos

Os enxertos ósseos são classificados segundo o tipo de osso do qual derivam a sua composição. O osso esponjoso é rico em trabéculas e se encontra na região metafisária dos ossos longos e ossos de origem membranosa, como o íleo. O osso cortical é mais usado para promover estabilidade ao foco da fratura, sendo um osso compacto e denso, com a finalidade de reconstrução e estabilidade mecânica (SANTOS; RAHAL, 2004).

Diversos métodos e termos têm sido aplicados para descrever diferentes tipos e usos dos enxertos (WEIGEL, 1996). O enxerto deslocado de um ponto ao outro em um mesmo indivíduo é um auto-enxerto, descrito pelos adjetivos autólogo, autógeno ou autóctone. Um aloenxerto, também denominado alogênico, é a transferência de tecidos entre dois indivíduos geneticamente diferentes, porém da mesma espécie. E o xenoenxerto é o tecido animal de uma espécie implantado em um membro de uma espécie distinta (STEVENSON, 1998).

2.5.3 Propriedades do enxerto ósseo

Durante o processo de formação do novo tecido ósseo pode-se observar três propriedades básicas do enxerto: a osteogênese, a osteoindução e a osteocondução (Ibid).

A osteogênese consiste na capacidade de elementos celulares que sobreviveram ao transplante, produzirem tecido ósseo ativamente, tendo início por volta de cinco dias após a transferência. O enxerto esponjoso tem grande potencial osteogênico por conter células quiescentes, células mesenquimais indiferenciadas e osteoblastos ativos. Estima-se que apenas 10% das células deste tipo de enxerto sobrevivam à transferência (PIERMATTEI; FLO, 1999). Sendo assim, Weigel (1996) sugere que as principais fontes de células para esta fase são as células osteogênicas e osteoprogenitoras do próprio hospedeiro.

O recrutamento e diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos é conhecido como osteoindução. A diferenciação é modulada por vários fatores, tais como a proteína morfogenética óssea, o fator de crescimento transformante beta, as citocinas, o fator de necrose tumoral e as prostaglandinas E2. Além disso, faz-se necessário um ambiente favorável e um estímulo indutivo, como um fragmento ósseo ou célula osteogênica (MARTINEZ; WALKER, 1999).

A osteocondução é um processo tridimensional de crescimento de capilares, tecido perivascular e células mesenquimais do leito recipiente para dentro da estrutura enxerto. A propriedade osteocondutiva de um enxerto ou de um implante depende significativamente de sua arquitetura; a osteocondução é mais rápida em tecido esponjoso do que em cortical devido à maior porosidade do primeiro. A importância do ambiente químico do enxerto e sua influência na osteocondução são pouco entendidas (Ibid).

2.5.4 Enxerto ósseo cortical

Dentre as propriedades dos enxertos corticais destacam-se a sustentação mecânica e a osteocondução, visto que de forma geral são acelulares e estimulam pouca resposta osteogênica (FOSSUM et al., 2005)

Na coleta de aloenxerto cortical são feitas abordagens cirúrgicas para as diáfises ósseas, que são retiradas com auxílio de serra, e os canais medulares são limpos e lavados com solução salina. Imediatamente, os ossos são transplantados para o local da fratura ou armazenados para uso futuro (Ibid).

Existem vários métodos de conservação de implantes corticais que visam preservar a integridade física do implante e da proteína osteoindutora, reduzir sua imunogenicidade, e preservar sua esterilidade (DEL CARLO et al., 1999). Uma grande vantagem dessa alternativa é a formação de banco de ossos, o que elimina a dificuldade de se encontrar um doador disponível e apropriado para o fornecimento emergencial de aloimplantes, além de um único doador fornecer vários segmentos ósseos (KERWIN et al., 1991 apud ALIEVI et al., 2007).

Del Carlo et al. (1999), em um experimento utilizando 36 cães, compararam seis métodos de conservação de aloenxertos ósseos. A glicerina 98% não foi efetiva na esterilização do osso e alterou suas propriedades biomecânicas. A refrigeração a 4°C e a imersão em solução contendo timerosal 1:1000 não mantiveram o osso sem contaminantes e os enxertos falharam. O osso conservado sob congelamento em solução fisiológica e antibiótico permaneceu estéril, sua integridade física foi preservada e não falhou na enxertia. Amendola et al. (2003) concluíram que o mel é uma substância adequada como conservante de ossos para serem utilizados como implantes corticais, pois mantém o material livre de agentes patogênicos e não mostra sinais compatíveis com rejeição, além de preservar a rigidez óssea.

Enxertos ósseos corticais são biodegradáveis e têm sido usados no tratamento de fraturas em aves, porém com resultados controversos (GAIGA, 2002). Maccoy e Haschevk (1988) realizaram osteossíntese de úmero em pombos com aloenxertos e xenoenxertos esterilizados com óxido de etileno e mantidos à temperatura ambiente. Os enxertos foram associados com uma alta incidência de deiscência da sutura, formação de sequestro ósseo e reação a corpo estranho, indicando alto índice de rejeição tanto ao aloenxerto quanto ao xenoenxerto pelo receptor. Já Wander et al. (2000), utilizando pinos confeccionados de xenoenxertos ósseos corticais estocados a -70°C, não observaram sinais de rejeição ao xenoenxerto e sim, de incorporação do enxerto ao calo ósseo. Porém, apesar do uso de imobilização externa, em 20% dos animais, ocorreram fraturas do xenoenxerto na primeira semana de pós-operatório.

A melhor opção para tratar as falhas ósseas é o enxerto autólogo, uma vez que acelera a reparação óssea. No entanto, há o inconveniente de aumentar a morbidade, a dor, os tempos anestésico e cirúrgico e de lesar estruturas normais, além de poder não fornecer volume suficiente para reparar grandes falhas ósseas (ALIEVI et al., 2007).

2.5.5 Enxerto ósseo esponjoso

A utilização do enxerto ósseo esponjoso autólogo iniciou-se pela necessidade da resolução de defeitos nos ossos da face e do crânio. Atualmente o enxerto de osso esponjoso tem sido utilizado na assistência à cicatrização do tecido ósseo em situações onde as condições ideais não são possíveis de obter (DIAS et al., 2007).

O enxerto de osso esponjoso autólogo, se corretamente manipulado, possui elevado potencial osteogênico pelo transplante de células viáveis da linha osteoblástica; propriedades osteoindutivas pela promoção de quimiotaxia, mitose e diferenciação de células mesenquimatosas pluripotenciais (CMP) em células das linhas condrogênica e osteogênica; e propriedades osteocondutoras ao conferir estrutura tridimensional que possibilita o crescimento passivo de tecido ósseo por extensão de capilares sanguíneos, tecido perivascular e CMP do local receptor para a matriz transplantada. Este tipo de enxerto ósseo possui também as vantagens de histocompatibilidade e ausência de risco de transmissão de doenças infecto-contagiosas (DIAS et al., 2007).

A ausência de propriedades mecânicas é compensada pela grande capacidade osteogênica responsável por rápida neoformação de tecido ósseo no local de fratura, o que irá contribuir para rápida estabilização (STEVENSON, 1998). As propriedades osteogênicas deste tipo de enxerto ósseo são oriundas da extensa área de superfície coberta por células de revestimento do tecido ósseo transplantado em associação com células da medula óssea, assim como da sua arquitetura característica, formada por tecido ósseo trabecular, que irá permitir uma rápida revascularização (DIAS et al., 2007).

Stevenson (1999) dividiu a incorporação do auto-enxerto de osso esponjoso no local receptor em cinco estágios sucessivos. Na fase inicial muitas das células transplantadas morrem devido à isquemia ou sofrem apoptose, especialmente os osteócitos situados nas lacunas no interior das trabéculas ósseas. Entretanto, se o enxerto for corretamente manipulado, poderão sobreviver à transferência para o local receptor as células com maior resistência à isquemia: as CMP presentes na medula óssea e as células progenitoras das células endoteliais, além de alguns dos osteoblastos situados à superfície das trabéculas ósseas. Numa segunda fase, cerca de cinco dias após o transplante, ocorre a inflamação, migração e proliferação de CMP e a reorganização gradual do hematoma em tecido conjuntivo fibroso. Numa terceira fase, por volta dos 10 dias, há progressiva revascularização do enxerto, o qual sofre infiltração de vasos sanguíneos, completando-se esta etapa nos primeiros 20 dias após a cirurgia. A atividade osteogênica inicia-se por volta do quinto dia

após implantação e apresenta atividade máxima à oitava semana após o transplante. Por ação osteoclástica, na quarta fase, ocorre reabsorção das trabéculas ósseas implantadas, simultaneamente à deposição de osteóide sintetizado pelos osteoblastos da zona receptora, e há formação de tecido ósseo não lamelar sobre as trabéculas ósseas em necrose. Na quinta fase ocorre o processo de remodelação óssea, em que o tecido ósseo não lamelar recém formado e as trabéculas ósseas em necrose por ele envolvidas são gradualmente reabsorvidos por osteoclastos e substituídos por tecido ósseo lamelar, constituído por sistemas de Havers. As duas últimas fases descritas poderão ter uma duração de vários meses.

2.5.6 Colheita e manipulação do enxerto

Deve-se seguir certos princípios da manipulação dos enxertos, para que fique assegurada a ótima osteogênese e incorporação no local receptor, e mínima morbidade no local doador. (WEIGEL, 1996; STEVENSON, 1998).

Para a colheita do enxerto, o cirurgião deve ser bastante cuidadoso com relação à assepsia (SCHENA, 1983 apud SANTOS; RAHAL, 2004). Além disso, deve evitar trauma aos tecidos e o uso de serras oscilatórias, que induzem aumento de temperatura no osso adjacente, resultando em morte celular e retardo na osteogênese (STEVENSON, 1998)

Em cães, o enxerto esponjoso pode ser colhido da metafise de qualquer osso longo, mas, pela facilidade técnica e volume, tem sido removido na porção craniodorsal da asa ilíaca, úmero proximal, tibia proximal e fêmur distal (PIERMATTEI; FLO, 1997). Segundo Denny e Butterworth (2000), em gatos a colheita de enxerto do úmero proximal, fêmur ou tibia pode ser frustrante, por serem obtidas pequenas quantidades, até mesmo nos adultos. A asa do ílio consiste no local mais satisfatório.

Nas aves de grande porte, o osso esponjoso para enxertia pode ser colhido da epífise proximal da ulna ou tibiotarso. Vale ressaltar que o úmero, ossos pélvicos e fêmur devem ser evitados como fontes de colheita de osso esponjoso em aves que voam, pois são ossos pneumáticos. O uso de enxerto córtico-esponjoso é frequente nas aves, tendo como principais sítios de colheita, as costelas e a carena do esterno. As duas últimas costelas são facilmente acessadas para colheita, entretanto o esterno fornece uma grande quantidade de osso córtico-esponjoso. Para acessá-lo devemos afastar os músculos peitorais em ambos os lados da carena, e a porção central da quilha pode ser retirada, formando uma janela que dará um aspecto de alça (Figura 1). Uma vez colhido, estes podem ser divididos através da medula e serem colocados inteiros sobre a fratura, ou podem ser cortados com o uso de instrumentais

ortopédicos em fragmentos menores para serem usados dentro de falhas ou ao redor de fraturas (BENNETT, 1997)

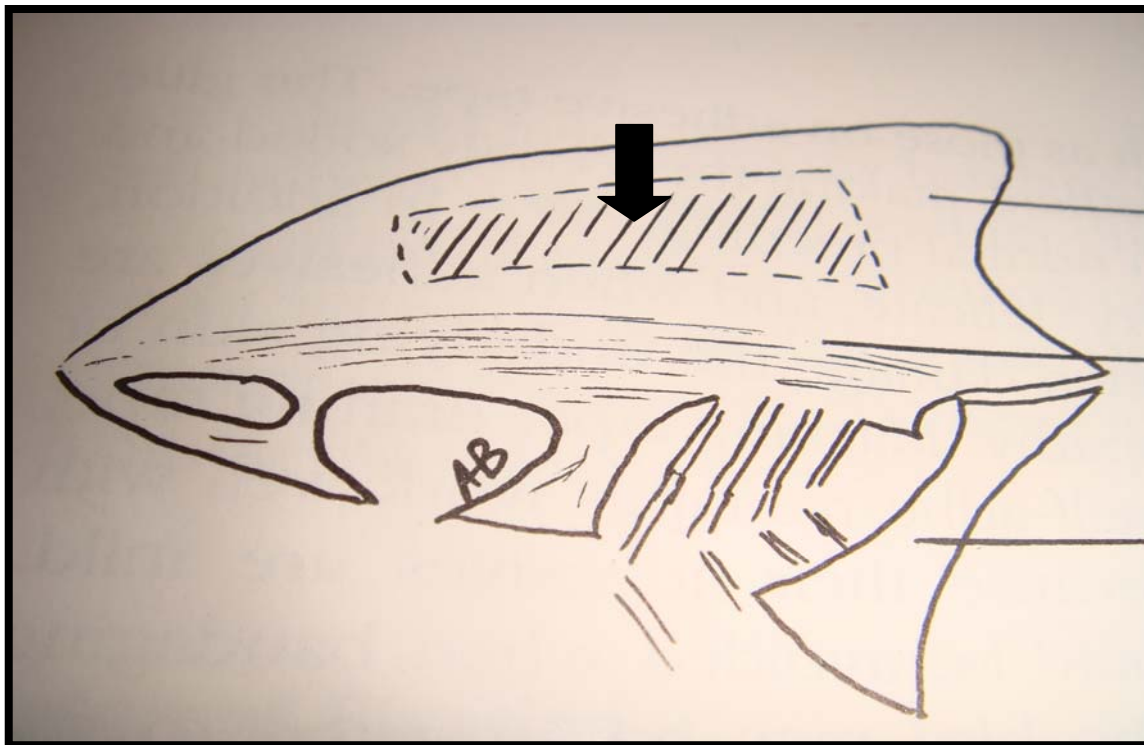


Figura 1: Esquema demonstrando a vista lateral do osso do esterno, destacando a porção central da carena do esterno (seta), local recomendado por Bennett (1997) para colheita de tecido ósseo córtico-esponjoso (Fonte: Bennet, 1997).

Após a colheita, o enxerto esponjoso autólogo deve ser aplicado o mais rapidamente possível. No entanto, se for necessária a estocagem até o momento da transferência para a área receptora, o enxerto pode ser mantido envolto em compressa de gaze umedecida com sangue ou colocado em uma cuba que deve ser coberta com gaze umedecida em solução salina 0,9% ou Ringer (PIERMATTEI; FLO, 1997). Neste último caso, o enxerto pode ser mantido até 3 a 4 horas (STEVENSON, 1999). A exposição ao ar por 30 minutos ou mais diminui a viabilidade celular, e a elevação da temperatura acima de 42°C, devido à luminosidade da sala cirúrgica, induz à morte celular (FOX, 1984 apud SANTOS; RAHAL, 2004). Sangue pode ser misturado ao enxerto colocado na cuba, uma vez que evita secagem e, após a coagulação, forma um composto moldável de fácil manipulação (JOHNSON, 1995 apud SANTOS; RAHAL, 2004). Um fato importante é que o enxerto não deve ser imerso em soluções isotônicas ou tratado com antibióticos (bacitracina, neomicina e kanamicina), por serem tóxicos para as células (PIERMATTEI; FLO, 1997).

O tamanho da partícula óssea tem importância na vascularização e sobrevivência das células do enxerto (WEGEL, 1993). Há evidências de que fragmentos menores que 0,7 mm não estimulam a osteogênese adequadamente e, se muito reduzidos, além de não formarem osso, induzem à resposta de granuloma por corpo estranho (FOX, 1984 apud SANTOS, RAHAL, 2004).

Antes da aplicação do enxerto, o local receptor deve ser lavado amplamente com salina isotônica para remover restos necróticos, fragmentos teciduais e coágulos sanguíneos, para facilitar a revascularização do enxerto e reduzir a incidência de infecção (PIERMATTEI; FLO, 1997).

Segundo Einhorn (1995), há um aumento da sobrevivência de células do enxerto quando são aplicadas em fraturas estáveis. Isso ocorre devido à rápida revascularização, permitindo um bom contato entre o leito receptor e o enxerto.

Para avaliarem se o enxerto esponjoso autólogo deve ser comprimido quando aplicado, MARTINEZ et al. (1992) produziram um defeito no córtex caudal da porção proximal da ulna, em cinco cães adultos. Enxerto esponjoso foi colhido do tubérculo maior do úmero e aplicado no local recipiente, com ou sem compressão. Não foram detectadas diferenças na capacidade osteogênica entre os enxertos, tanto por análises histomorfométricas quanto pela densitometria óptica.

2.6 Anestesia e cuidados pré e pós-cirúrgicos

Nos últimos anos, a aplicação da anestesia em aves vem ganhando importância clínica. Procedimentos anestésicos em espécies aviárias são diferentes daqueles realizados em mamíferos, principalmente pelas diferenças anatômicas e fisiológicas encontradas (UZUN et al., 2003).

Os anestésicos injetáveis geralmente são utilizados para anestesia de procedimentos curtos como exame radiológico, reparação de ferida e laparoscopia. A anestesia inalatória é preferida aos anestésicos injetáveis, sendo a técnica de escolha para procedimentos extensos (GUIMARÃES; MORAES, 2000). Goelz, Hahz e Kelley (1990) comentaram que a anestesia inalatória com halotano em oxigênio tem sido utilizada em várias espécies de aves, porém causa alta incidência de arritmias e várias mortes.

O isoflurano promove plano anestésico mais estável, tornando-se o anestésico de escolha na medicina aviária. A concentração indicada para indução varia entre 2 e 3% e entre aproximadamente 1 e 2% para manutenção. Tanto o período de indução quanto o de

recuperação são inferiores, podendo demorar até 10 minutos para estação (GUIMARÃES; MORAES, 2000).

A analgesia em aves tem sido negligenciada por ignorância ou por falta de experiência em diagnosticar a dor. Esses animais expressam dor através de sinais como a depressão, anorexia, claudicação e vocalização à palpação (HEARD, 1997).

Estudos sugerem que a nocicepção em aves é mediada por vias neurais e neurotransmissores similares aos de mamíferos, o que confirma que essa classe animal é capaz de perceber a dor (GUIMARÃES et al, 2007).

Estudos identificaram maior porcentagem de receptores *kappa* em relação aos *mu* no cérebro de pombos domésticos. Esses dados foram extrapolados para as outras espécies de aves sugerindo que os fármacos agonistas dos receptores *mu*, como a morfina, seriam menos eficientes do que os agonistas dos receptores *kappa*, como o butorfanol, na produção de analgesia (IBID)

A maioria das cirurgias ortopédicas são consideradas moderadas a intensamente dolorosas, sendo assim, os mesmos cuidados preconizados em mamíferos devem ser observados (HEARD, 1997)

Drogas antiinflamatórias não-esteróides (AINES) também são indicadas para o controle da dor no pós-operatório em pacientes ortopédicos. Podem ser utilizados sozinhos ou em combinação com os opióides. Em cães, Pibarot et al. (1997), afirmam que o cetoprofeno é mais efetivo que a oximorfina e o butorfanol no controle da dor pós-operatória. Em patos de Mallard (*Anas platyrhynchos*), o cetoprofeno na dose de 5mg.kg^{-1} promoveu uma redução dos níveis de tromboxano por aproximadamente 12 horas (HAWKINS; PASCOE, 2007).

Os AINES diminuem a inflamação por bloquearem a enzima responsável pela transformação do ácido aracdônico em uma série de substâncias que desencadeiam o processo inflamatório, como o tromboxano. Esse mecanismo explica por que esses agentes causam analgesia em processos que cursam com a inflamação (FANTONI; MASTROCINQUE, 2002).

2.7 Antibioticoterapia

Embora a osteomielite seja um problema relativamente comum em mamíferos é rara em aves. Westfall e Egger (1979) relatam que este fenômeno pode ter relação com às altas temperaturas corporais destes animais. Entretanto, afirmam que mesmo assim, a profilaxia com uso de antibióticos deve ser realizada.

A escolha de um antibiótico não deve ser baseada em tendências preconcebidas e tradição, mas sim na flora bacteriana identificada ou esperada no tecido alvo. Uma antibioticoterapia pode ter natureza profilática ou curativa, sendo que a profilática só deve ser usada quando indicada pela probabilidade de uma infecção ou quando a infecção seria catastrófica (AIELLOR, 2001).

Em animais domésticos, Aiellor (2001), cita que a associação de cefalosporinas de 2ª ou 3ª geração e aminoglicosídeos podem ser utilizados inicialmente, sendo que a associação pode ser alterada em caso de resistências observadas após resultado de antibiograma. Levitt (1989) citou como antibiótico mais utilizado nas cirurgias de aves a cefalosporina, e isto se deve ao seu amplo espectro, rápida concentração e boa penetração tecidual. Já Alevi(2000), Gaiga (2002) e Leotte (2003) utilizaram enrofloxacin na dose de 10-15 mg.kg⁻¹, obtendo bons resultados.

Simionato, Ramos e Coutinho (2003) em estudo realizado com cães, isolaram bactérias aeróbicas de processos infecciosos ósseos e testaram a sensibilidade das mesmas a alguns antimicrobianos, revelando os seguintes resultados: (1) em relação às bactérias Gram positivas, o antibacteriano mais efetivo foi a amoxicilina associada ao ácido clavulânico, sendo recomendada para uso em aves por Viana (2007) na dose de 50 a 100 mg/kg, pela via oral, em intervalos de 12 a 24 horas, entretanto, Tully (2009), recomenda doses de 125 mg/kg, pela mesma via de administração, em intervalos de 6 horas; (2) as bactérias do gênero *Staphylococcus* demonstraram alta sensibilidade à cefalexina, cloranfenicol e enrofloxacin, enquanto as do gênero *Streptococcus* demonstraram altos índices de sensibilidade a vários antibacterianos (azitromicina, cefalexina, cloranfenicol, eritromicina, gentamicina, lincomicina e rifampicina); (3) o cloranfenicol, a enrofloxacin, e a gentamicina mostraram-se efetivos *in vitro* contra as enterobactérias; (4) e as duas cepas de *Pseudomonas* spp mostraram sensibilidade somente à gentamicina (SIMIONATO; RAMOS; COUTINHO, 2003).

2.8 Avaliação do reparo ósseo

A radiologia é a técnica clássica na avaliação da consolidação óssea (AIELLOR, 2001), a qual utiliza como princípio a densidade dos tecidos que atenuam os raios X após atravessarem uma estrutura óssea ou tecidos moles adjacentes. Esta densidade, quando criteriosamente determinada, pode elucidar o diagnóstico de enfermidades locais ou sistêmicas, assim como avaliar o processo de reparação óssea. Como vantagem, cita-se

principalmente a redução de custos quando comparados a outros métodos (PEREIRA; SOUZA; WESTPHALEN, 2004).

Radiografias sequenciais permitem acompanhar e avaliar o processo de regeneração, no qual o desenvolvimento de calo periosteal indica que está ocorrendo formação óssea indireta, por segunda intenção, enquanto o preenchimento das linhas de fraturas por tecido ósseo indicam uma estabilidade óssea com cicatrização direta, por primeira intenção (FOSSUM et al., 2005).

Há relatos de que o processo de conservação em formalina seja capaz de alterar a densidade radiográfica do tecido ósseo, já que a mesma se degrada, com a ação da luz, em ácido fórmico e água, o que pode causar desmineralização do osso. Sugere-se que o tamponamento da formalina, que apresenta pH ácido (entre 3,0 e 4,6), poderia evitar ou minimizar a ação desmineralizante, entretanto não foram observadas diferenças no nível de densidade radiográfica e descalcificação entre grupos de fragmentos ósseos conservados em formalina simples ou tamponada (FONSECA, 2007).

A avaliação histológica da reparação tecidual fornece informações básicas e fundamentais para a compreensão da evolução do processo, em suas diferentes fases, permitindo evidenciar o efeito de diferentes influências e tratamentos. Tem como desvantagem ser uma técnica invasiva, que necessita da coleta do tecido para análise e, portanto, não favorece a avaliação da evolução do processo em um mesmo animal, o que demanda um número maior de espécimes; entretanto, ainda não encontra substituto no estudo da cicatrização e é amplamente utilizada em tecidos moles (BATISTA et al., 2008; COELHO et al., 2010) e osso (TISEO et al., 2006; TODISCO, 2010).

O uso de escores é recomendado quando se utiliza parâmetros histológicos, sendo considerado um método interessante de avaliação. Uma escala numérica é atribuída a cada parâmetro de forma que, quanto maior o escore, melhor o processo (BATISTA et al., 2008).

4 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

O presente estudo foi submetido à Comissão de Ética do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Castelo Branco- Rio de Janeiro, RJ, sob o processo n° 013/08, denotando o parecer favorável.

Foram utilizadas 18 galinhas domésticas (*Gallus domesticus*), fêmeas, com idade aproximada de 70 semanas, pesando aproximadamente dois quilos e meio, oriundas do plantel de descarte da Escola Wenceslau Belo, Penha – Rio de Janeiro.

3.2. Quarentena e adaptação dos animais

Foi estabelecido o tempo mínimo de 15 dias para observação e adaptação dos animais nas instalações da Fundação Jardim Zoológico da Cidade do Rio de Janeiro, onde foram abrigados em gaiolas individuais de arame galvanizado, medindo 0,8m de comprimento, 0,4m de altura e 0,4m de largura. As mesmas permaneceram suspensas em um galpão de paredes teladas, iluminação natural e coberto com telhas de fibro-cimento. O fundo das gaiolas, comedouros e bebedouros foram higienizados diariamente com água e escova, e uma vez por semana foram colocados de molho em solução de hipoclorito de sódio a 1% durante 15 minutos para desinfecção.

Foi realizada avaliação criteriosa visando a identificação de sinais clínicos de enfermidades infecciosas, nutricionais ou metabólicas. Foram coletadas amostras contendo três mililitros de sangue da veia jugular direita, as quais foram acondicionadas em tubos a vácuo com paredes revestidas com heparina sódica. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Fundação Jardim Zoológico da Cidade do Rio de Janeiro para avaliação hematológica (hemograma e pesquisa de hematozoários) e bioquímica (aspartato aminotransferase - AST, Creatino quinase - CK, Lactato desidrogenase - LDH, ácido úrico e fosfato). Os animais que apresentassem sinais de enfermidades não foram incluídos no experimento.

Os animais foram identificados com anilhas numeradas nos pés, submetidos ao protocolo de tratamento antiparasitário com Febendazole¹, 30 mg. Kg⁻¹ VO e receberam aplicação tópica de produto ectoparasiticida à base de Propoxur a 1%².

¹ Panacur®, Intervet, São Paulo, Brasil

² Bolfo®, Bayer, Belford Roxo, Brasil

A alimentação foi exclusivamente ração para galinhas em fase de postura³, sendo fornecida uma quantidade de 10% do peso vivo por dia, para cada animal, e água *ad libitum*.

3.3 Grupos experimentais

Para efeitos de redução no número de animais utilizados e supressão das variações individuais, os mesmos foram submetidos ao processo cirúrgico em ambas as asas. A asa direita foi utilizada como controle (Grupo I), na qual foi criada falha óssea na face lateral da ulna; na asa esquerda o mesmo procedimento foi realizado e a falha foi preenchida com enxerto ósseo córtico-esponjoso retirado da carena do esterno (Grupo II).

Os grupos controle (Grupo I) e tratado (GrupoII) foram subdivididos aleatoriamente em quatro grupos cada, de acordo com o período de observação (Quadro 1)

Quadro 1: Subdivisões dos grupos controle (grupo I) e tratado (GrupoII) de acordo com o período de observação do pós-cirúrgico em dias.

Período de avaliação	Grupo I (Controle)	Grupo II (Tratado)
14 dias de pós cirúrgico	Sub-grupo Ia 4 animais	Sub-grupo IIa 4 animais
35 dias de pós cirúrgico	Sub-grupo Ib 4 animais	Sub-grupo IIb 4 animais
60 dias de pós cirúrgico	Sub-grupo Ic 4 animais	Sub-grupo IIc 4 animais
90 dias de pós cirúrgico	Sub-grupo Id 6 animais	Sub-grupo IId 6 animais

3.4. Preparação pré-operatória

Os procedimentos anestésicos e cirúrgicos foram realizados no Hospital Veterinário da Fundação Jardim Zoológico da Cidade do Rio de Janeiro, localizado no bairro de São Cristovão, na cidade do Rio de Janeiro.

Antes da administração de qualquer fármaco anestésico, os animais foram submetidos a jejum hídrico e alimentar de 6 horas. Minutos antes do procedimento foi realizado, quando necessário, o arrancamento manual de algumas penas na face lateral direita do pescoço para colocação de cateter número 24 na veia jugular direita, o qual foi fixado com esparadrapo, permitindo assim um acesso venoso pérvio para administração de solução de cloreto de sódio 0,9% na dose de 5 ml/kg/h e possíveis drogas de emergência.

³ Extraovo 16®, Guabi, Campinas, Brasil

3.5 Anestesia

Após adequada contenção física, os animais receberam como medicação pré-anestésica uma dose de 2mg.kg^{-1} de Butorfanol⁴, associado a 20mg.kg^{-1} de Cetamina⁵ e 1mg.kg^{-1} de midazolam⁶, todos administrados simultaneamente pela via intramuscular, no músculo peitoral.

Atingido o efeito de sedação, com auxílio de máscara anestésica os animais foram pré-oxigenados com oxigênio a 100% por dois minutos em fluxo de 1,5 l/min. Em seguida foram induzidos com Isoflurano⁷ diluído em oxigênio 100%, fornecido através de máscara anestésica. Após a verificação da perda do reflexo laringotraqueal, foram intubados com tubo orotraqueal número 3,0 sem balonete, o qual foi conectado a um circuito sem reinalação (Baraka), para manutenção da anestesia com isoflurano ao efeito, vaporizado em oxigênio 100%, em fluxo de 1,0 l/min.

Os animais foram conectados ao monitor multiparamétrico⁸, através do qual foram avaliados: traçado eletrocardiográfico na derivação II, frequência cardíaca, pulso, temperatura, oximetria e frequência respiratória.

Foram anotados os tempos de início de ação da pré-anestesia (animais apresentando sinais de incoordenação), tempo para sedação e tempo de recuperação anestésica.

3.6 Protocolo experimental

No intuito de manter a temperatura corpórea das aves, as mesmas foram mantidas durante todo procedimento cirúrgico sobre colchão térmico, inicialmente em decúbito esternal.

Após os animais atingirem o plano anestésico adequado, foi realizada a remoção manual das penas localizadas na região peitoral e na face dorsal das asas, sendo que as remiges foram poupadas. Como terapia antimicrobiana profilática, foi aplicada, por via intramuscular, Gentamicina⁹ na dose de 5mg.kg^{-1} , associada a Enrofloxacina¹⁰ na dose de 15mg.kg^{-1} .

Para início do procedimento foi realizada na asa direita a anti-sepsia com álcool-iodo-álcool da face dorso-lateral, iniciando-se o acesso cirúrgico através de incisão da pele e tecido

⁴ Turbogestic® - Fort Dodge, Campinas, Brasil

⁵ Cetamin®- Syntec, Cotia, São Paulo

⁶ Dormonid® 5mg/ml – Roche, Jaguaré, Brasil

⁷ Isoran®- Biochimico, Rio de Janeiro, Brasil

⁸ Dixtal® - Manaus, Brasil

⁹ Gentotec® - Chemitec, São Paulo, Brasil

¹⁰ Flotril® - Intervet, São Paulo, Brasil

celular subcutâneo feita com lâmina de bisturi número 15. A determinação do local da incisão teve como base a palpação da face ulnar desprovida de cobertura muscular (face dorso-lateral), estendendo-se a incisão a partir do ponto central do antebraço até as proximidades da articulação úmero-radio-ulnar, com aproximadamente dois centímetros de comprimento (Figura 2).

A divulsão do tecido celular subcutâneo foi realizada com auxílio de tesoura Metzenbaum reta de 15 cm para afastamento lateral da pele e exposição do músculo flexor ulnar do carpo. Para acessar o local de produção da falha óssea, foi introduzida uma Rugina de Farabeuf reta 14 cm entre a ulna e o músculo flexor ulnar do carpo, a qual foi rotacionada lateralmente expondo a superfície lateral proximal da ulna (Figura 3). Para produção da falha óssea foi utilizada uma broca fresa 1/8", com 3,2 mm de diâmetro e corte lateral (Figura 4), a qual foi acoplada a micro-retífica com eixo flexível¹¹, na velocidade de 5.000 rotações por minuto. A broca foi introduzida perpendicularmente ao eixo longitudinal do osso, na face lateral, até ser inserida a uma profundidade correspondente a aproximadamente metade do diâmetro da broca, o que produzia uma falha com aproximadamente 3,3 mm de largura e 1,6 mm de profundidade (Figura 5).

Após retirada da Rugina, a musculatura foi reposicionada e a incisão imediatamente suturada em plano único, com fio de Nylon (3-0), no padrão de pontos simples isolados.

O mesmo procedimento foi realizado na asa esquerda até a produção da falha, quando então a pele foi aproximada temporariamente com uma pinça Backhaus de 13 cm e a asa envolvida com compressa cirúrgica estéril para posicionamento do animal em decúbito dorsal.

Com uso de uma Rugina Farabeuf reta de 14 cm, foi realizado afastamento da musculatura peitoral em ambos os lados da carena (Figura 6). O tecido que reveste a crista da carena foi excisado com lâmina de bisturi número 15 para exposição do osso cortiço-esponjoso (Figura 7). Com auxílio de uma cizalha Luer goiva simples reta de 17 cm, foram

¹¹ Dremel® - Bosh, Campinas, Brasil

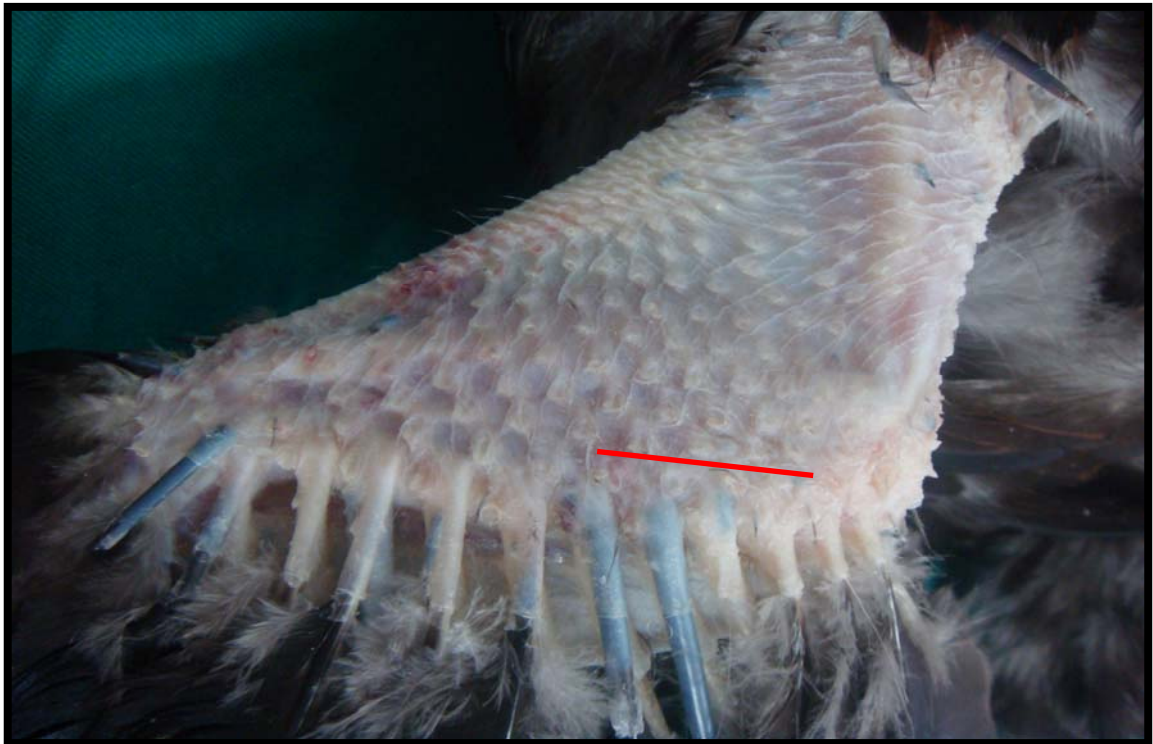


Figura 2: Vista lateral da asa esquerda de galinha doméstica, demonstrando o local da incisão de pele (linha vermelha), estendendo-se 2cm a partir do ponto central do antebraço até as proximidades da articulação úmero-redio-ulnar

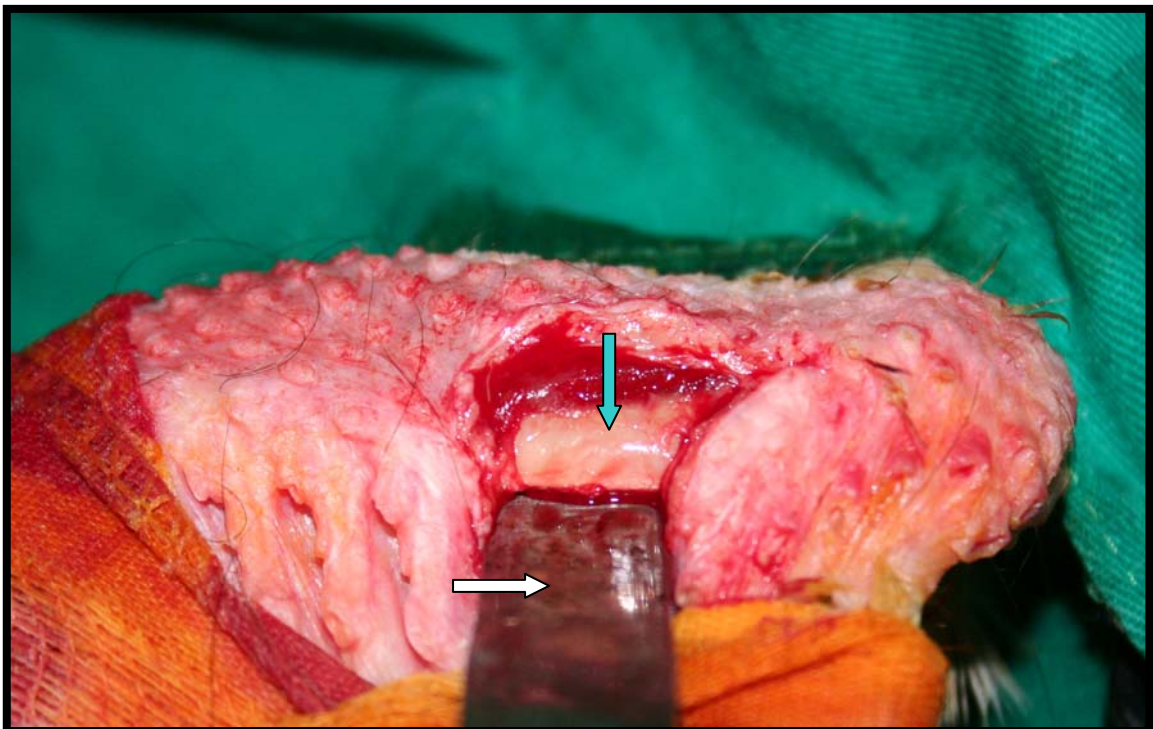


Figura 3: Rugina de Farabeuf reta (seta branca) 14 cm inserida entre a ulna e o músculo flexor ulnar do carpo de galinha doméstica, a qual se encontra rotacionada lateralmente expondo a superfície ventral proximal da ulna (seta azul).

retirados dois fragmentos do processo ósseo e imediatamente seccionados sobre cabo de instrumental metálico com lâmina de bisturi número 24, em pedaços com aproximadamente 3mm (Figura 8), colocados então em gaze estéril embebida com solução de cloreto de sódio 0,9%, até serem implantados na falha óssea já criada na ulna esquerda. Foi realizada sutura contínua simples dos planos muscular e subcutâneo com fio poligalactina 910 (3-0), e pontos simples isolados com fio de nylon (3-0), para fechamento da pele da região esternal.

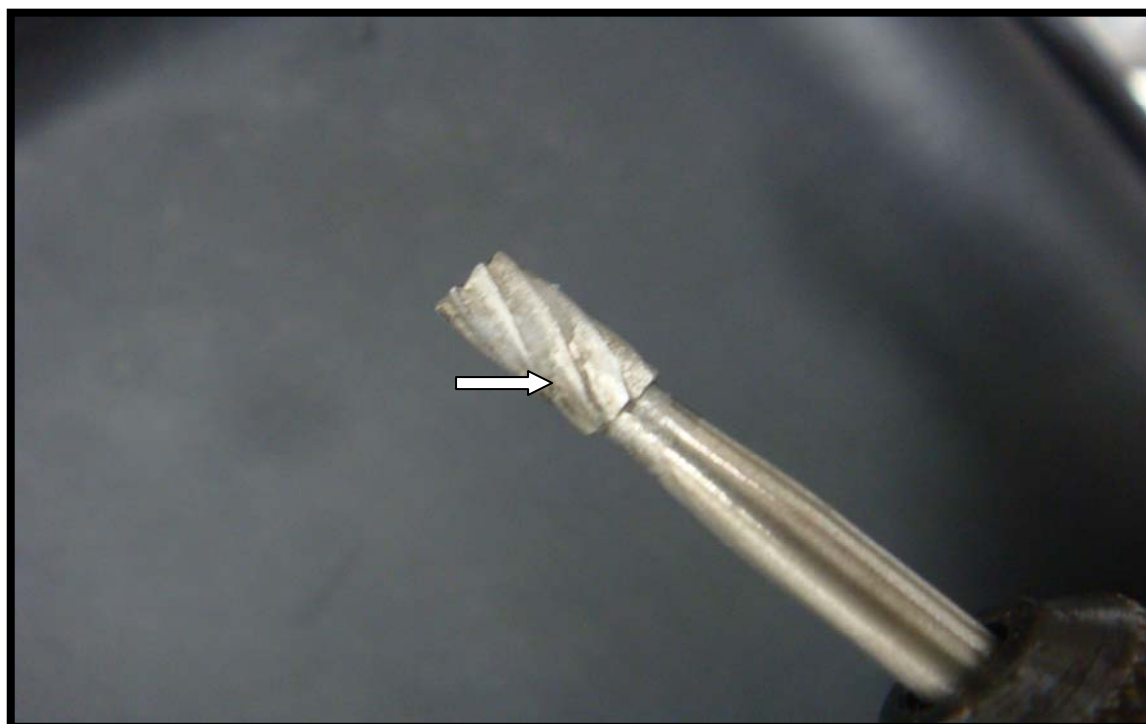


Figura 4: fresa 1/8'' (seta branca), com 3,2 mm de diâmetro e corte lateral, utilizada para confecção da falha óssea na velocidade de 5.000 rotações por minuto.

O animal foi reposicionado em decúbito esternal, para que a falha óssea da asa esquerda fosse acessada. Os fragmentos foram aplicados sobre a falha óssea, levemente comprimidos, e a incisão de pele e o tecido celular subcutâneo imediatamente suturados em plano único, com fio de nylon (3-0), no padrão de pontos simples isolados. Foram anotados os tempos de realização dos procedimentos cirúrgicos.

3.7 Procedimentos pós-operatórios

Para aplicação das medicações utilizadas no pós-operatório, fez-se necessário a realização de contenção física adequada das aves, as quais foram apreendidas com ambas as mãos em torno das asas, encontrando-se estas posicionadas anatomicamente próximas ao corpo (Figura 9).

No pós-operatório foram administrados meloxicam¹² na dose de 0,2mg.Kg⁻¹, SID durante 3 dias pela via subcutânea; e gentamicina na dose de 5 mg.kg⁻¹, SID, associada a enrofloxacina na dose de 15 mg. kg⁻¹, SID, ambas administradas pela via intramuscular. Foi realizado curativo local das feridas cirúrgicas com polivinilpirrolidona¹³ e rifampicina spray¹⁴; no sétimo dia os pontos presentes na pele foram retirados com uso de pinça dente de rato 12 cm e tesoura Spencer reta 9 cm, e prorrogaram-se os curativos locais até o décimo dia de pós-operatório.

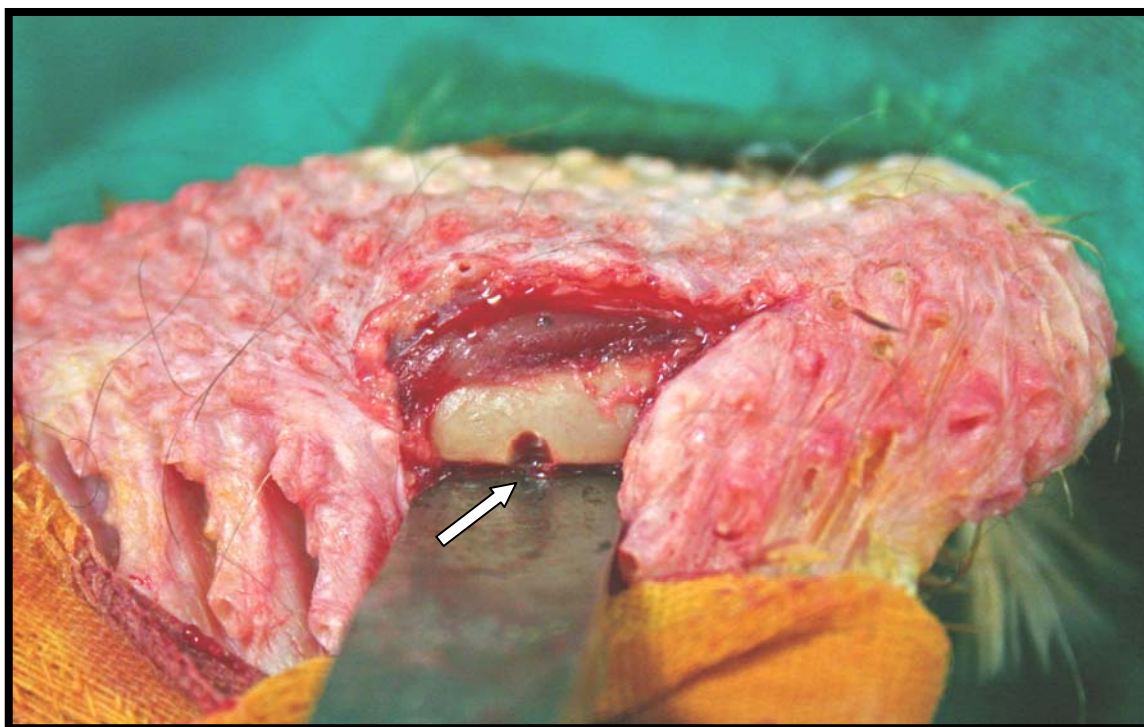


Figura 5: Falha óssea (seta branca) produzida na face lateral da ulna de galinha doméstica, apresentando aproximadamente 3,3 mm de largura e 1,6 mm de profundidade.

¹² Maxican 0,2%® - Ourofino, Vravinhos, Brasil

¹³ Povidine tópico® - Johnson & Johnson, São José dos Campos, Brasil

¹⁴ Rifocina spray® - Sanofi Aventis, Suzano, Brasil

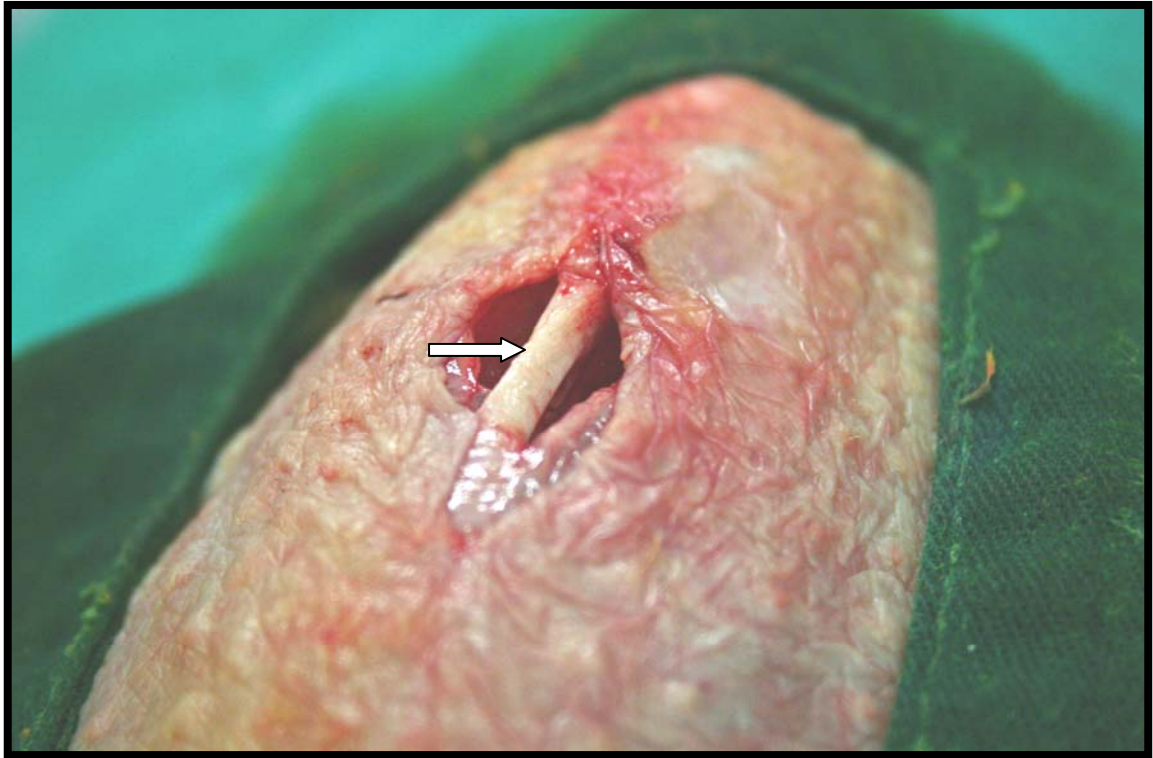


Figura 6: Carena do esterno de galinha doméstica exposta após incisão de pele e afastamento da musculatura peitoral em ambos os lados. Notar a presença de tecido fibrocartilaginoso (seta branca) revestindo a crista da carena.

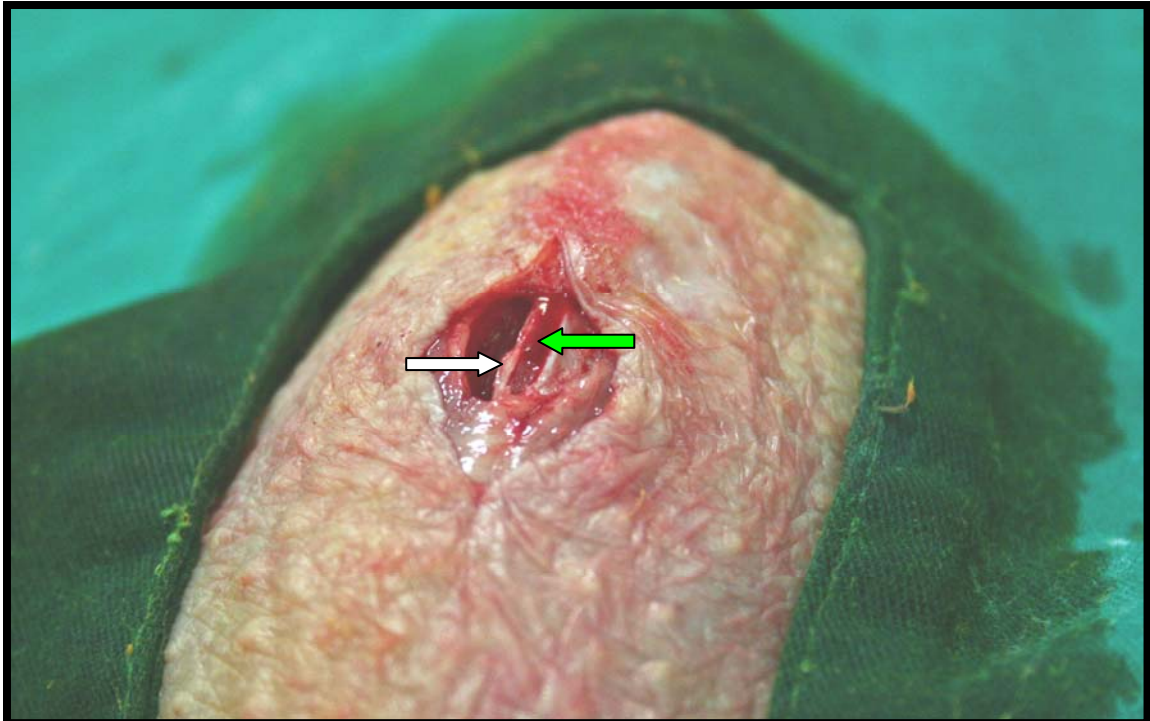


Figura 7: Carena do esterno de galinha doméstica após exérese do tecido fibrocartilaginoso que reveste sua crista, expondo tecido ósseo cortico-esponjoso. Notar a presença de osso compacto (seta branca) e osso esponjoso (seta verde).



Figura 8: Tecido ósseo (seta branca) seccionado sobre cabo de instrumental metálico com lâmina de bisturi número 24 em fragmentos com aproximadamente 3mm.



Figura 9: Foto meramente ilustrativa demonstrando a contenção física de um exemplar de galinha doméstica, realizada com ambas as mãos em torno de suas asas, encontrando-se estas posicionadas anatomicamente próximas ao corpo do animal.

3.8 Avaliações

Foram realizadas inspeções visuais diárias em todos os animais nos dez primeiros dias, nas quais verificou-se o estado geral das aves, a recuperação da função dos membros operados e avaliou-se as feridas cirúrgicas quanto à presença de edemas e exudações. Transcorridos os dez dias de pós-operatório os animais foram examinados semanalmente até completarem o tempo de observação de cada grupo.

Ao término do período de observação (14, 35, 60 e 90 dias) os animais foram abatidos com tiopental sódico¹⁵, intravenoso, na dose de 40 mg. kg⁻¹, coletando-se então fragmentos das ulnas direita e esquerda para realização do exame histopatológico e radiográfico *post-mortem* das lesões.

Os fragmentos de epífise ulnar com a lesão localizada centralmente foram descarnados, fixados em formol a 10% por um tempo que variou de 19 a 134 dias, e encaminhados ao Laboratório de Radiologia da Universidade Castelo Branco. Os fragmentos foram posicionados sobre chassi radiográfico 18 x 24, simulando a projeção dorso-ventral, e expostos aos raios X com tempo de exposição de 0,011 segundos e distância foco-filme de 60 cm, em aparelho radiográfico com regime elétrico de 55 kilovolts e 5 miliamperes. Após exposição os filmes foram processados pelo método manual de revelação. Foram avaliados quanto às imagens de proliferação tecidual nas proximidades da falha óssea (Quadro 2).

Quadro 2 – Escala semiquantitativa para avaliação do grau de proliferação tecidual nas proximidades da falha óssea, com visibilização radiográfica.

Imagem Radiográfica	Escore (pontos)
Ausência de proliferação óssea	0
Proliferação óssea leve	1
Proliferação óssea moderada	2
Proliferação óssea intensa	3

Após procedimentos radiográficos os fragmentos foram encaminhados para o Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Castelo Branco, onde foram descalcificados em solução de ácido nítrico a 10%, clivados transversalmente, e processados

¹⁵ Thiopentax®- Cristália, Itapira, Brasil

pela técnica de inclusão em parafina. Foram confeccionados cortes histológicos de aproximadamente 4 micras e as lâminas processadas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE), para posterior avaliação do processo de reparação em microscópio óptico com aumento de 40x e 100x.

Com o objetivo de avaliar reparação da falha óssea e o potencial osteogênico do enxerto ósseo implantado, nessa análise foram considerados:

- A evolução do processo de reparação da falha, sendo observada a reação inicial do perióstio e, principalmente, a maturação do tecido ósseo neoformado que preenchia a área entre as duas corticais (falha óssea) (Quadro 3);
- Quantidade total de tecido ósseo neoformado (Quadro 4).

Quadro 3 – Escala semiquantitativa para avaliação da reação inicial do perióstio e maturação do tecido ósseo neoformado que preenchia a área entre as duas corticais (falha óssea).

Aparência histológica	Escore (pontos)
Ausência de reação periosteal	0
Resposta periosteal moderada	1
Resposta periosteal intensa	2
Tecido ósseo neoformado desorganizado	3
Tecido ósseo neo formado em moderada organização	4
Tecido ósseo neo formado em avançada organização	5

Quadro 4 – Escala semiquantitativa para avaliação da quantidade total de tecido ósseo neoformado.

Aparência histológica	Escore (pontos)
Ausência de neoformação óssea	0
Neoformação óssea discreta	1
Neoformação óssea discreta / moderada	2
Neoformação óssea moderada	3
Neoformação óssea moderada / intensa	4
Neoformação óssea intensa	5

Para análise dos resultados expressos em escores - grau de proliferação tecidual nas proximidades da falha óssea visíveis radiograficamente; reação inicial do perióstio e a maturação do tecido ósseo neoformado que preenchia a área entre as duas corticais; e a

quantidade total de tecido ósseo neoformado - foi utilizado teste Mann-Witney para comparação entre grupos em cada momento e o teste de Wilcoxon para comparação dos grupos considerando-se todos os momentos. Os resultados foram considerados a partir do nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS

Após receberem aplicações de medicações pré-anestésicas, as aves apresentaram sinais de incoordenação após 96 ± 13 segundos, encontrando-se aptas para o procedimento de indução anestésica com isoflurano aos 420 ± 126 segundos. Após perda do reflexo laringotraqueal, todas foram intubadas com relativa facilidade. Ao serem conectados ao monitor multiparamétrico não foram observadas alterações cardiovasculares, respiratórias ou térmicas nos animais estudados.

O tempo médio de procedimento foi de 27 minutos, não sendo observadas intercorrências anestésicas ou cirúrgicas durante os procedimentos. A utilização da broca acoplada a micro-retífica facilitou a padronização da falha óssea criada (Figura 10) e contribuiu para minimizar os danos aos tecidos adjacentes, estruturas essas que foram utilizadas para fixação dos fragmentos de enxerto córtico-esponjoso depositados na falha óssea da asa esquerda (Figura 11) Através da análise radiográfica observou-se a ocorrência de deslocamento caudal dos fragmentos de enxerto cortico-esponjoso em um dos animais do sub-grupo IIa (animal nº 15).

O tempo médio de recuperação anestésica das aves foi de 2 horas e 26 minutos, sendo possível observar-se os animais em estação, sem sinais de incoordenação.

Durante o pós-operatório imediato não foram observados sinais de dor ou desconforto e os animais já apresentaram o posicionamento anatômico dos membros operados. Dois animais apresentaram fraturas no local de criação da falha durante a contenção realizada para aplicação das medicações em períodos de 24 horas e 96 horas, respectivamente, sendo necessária a inclusão de dois novos animais no experimento.

Não foram observados sinais de edema ou exudações, entretanto houve a formação de extenso hematoma ao redor da ferida cirúrgica em todos os animais estudados, os quais perpetuaram até aproximadamente o quinto dia de pós-cirúrgico. Os pontos foram retirados no sétimo dia, e os curativos locais foram mantidos até o décimo dia após a cirurgia. Posteriormente, os animais foram avaliados semanalmente, não apresentando sinais de infecções ou fraturas.



Figura 10 e 11: (A) Radiografia lateral da região do antebraço direito de galinha doméstica demonstrando a falha óssea criada na porção ventral da ulna (seta). (B) Radiografia palmo-dorsal da região do antebraço esquerdo demonstrando a falha óssea criada na porção lateral da ulna preenchida com fragmentos de enxerto ósseo cortico-esponjoso (seta).

Os animais do sub-grupo Ia (14 dias de pós-operatório) apresentaram ausência de imagens radiográficas compatíveis com proliferação óssea. No exame histopatológico, em três dos quatro animais avaliados houve reação periosteal moderada e uma quantidade de tecido ósseo neoformada discreta. Somente um dos animais estudados neste sub-grupo mostrou reação periosteal intensa e uma quantidade de tecido ósseo neoformada discreta / moderada. Nos animais do sub-grupo IIa, com mesmo tempo de observação, mas com implantação de enxerto ósseo, não foi possível a observação de imagens radiográficas compatíveis com a presença de fragmentos do enxerto ou proliferação óssea, entretanto todos mostraram reação periosteal intensa e uma quantidade de tecido ósseo neoformado discreta / moderada na histopatologia. Em todos os animais deste sub-grupo foram observados fragmentos de enxerto ósseo distribuídos próximos a falha cortical, envoltos por tecido fibroso desorganizado (Figura 12) e com presença de neovascularização (Figura 13).

Nos animais do sub-grupo Ib (35 dias de pós-operatório) não foi possível a observação de imagens radiográficas compatíveis com proliferação óssea. Em dois dos quatro animais avaliados houve a formação de tecido ósseo moderadamente organizado na falha encontrada entre as duas corticais, e uma quantidade de tecido ósseo neoformada variando de discreta a discreta / moderada. Nos outros dois animais deste sub-grupo foi possível observarmos a formação de tecido ósseo desorganizado na falha óssea, e uma quantidade de tecido ósseo neoformada de discreta a discreta / moderada. No sub-grupo IIb foi possível a observação de imagens radiográficas compatíveis com proliferação óssea intensa em dois dos quatro animais

estudados, entretanto, no animal 15, esta imagem encontrava-se formada fora do local da falha. Os outros dois animais deste sub-grupo apresentaram imagens radiográficas compatíveis com leve proliferação óssea. Durante a avaliação histológica foi possível observar-se a formação de tecido ósseo variando de desorganizado a moderadamente organizado, e quantidade moderada de tecido ósseo neoformado. Vale ressaltar que, no animal 15, esta neoformação ocorreu fora da área da lesão e o tecido ósseo neoformado que preenchia a área da falha era oriundo do endóstio, encontrando-se em um grau moderado de organização.

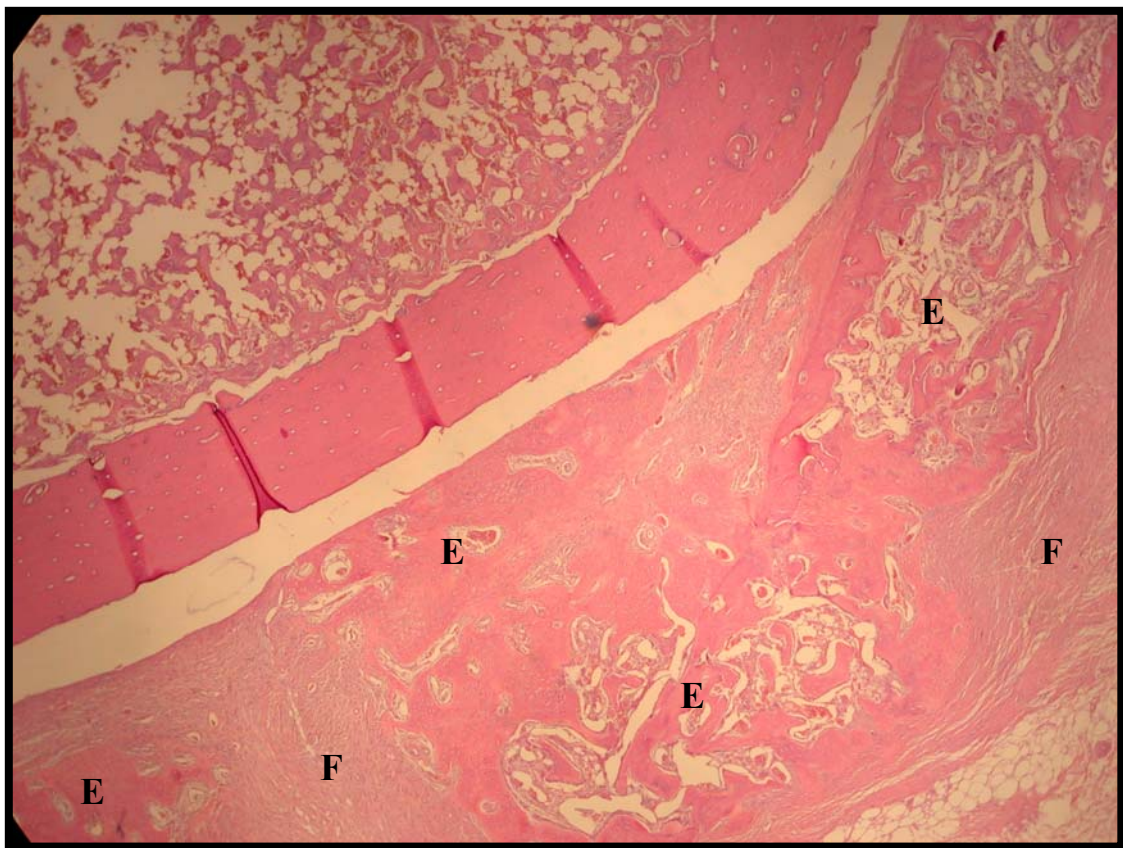


Figura 12: Fotomicroscopia evidenciando fragmentos de enxerto ósseo (E) distribuídos próximos a falha cortical ulnar de galinha doméstica, envoltos por tecido fibroso desorganizado (F), nos animais do sub-grupo IIa (14 dias) (Hematoxilina-eosina 40X).

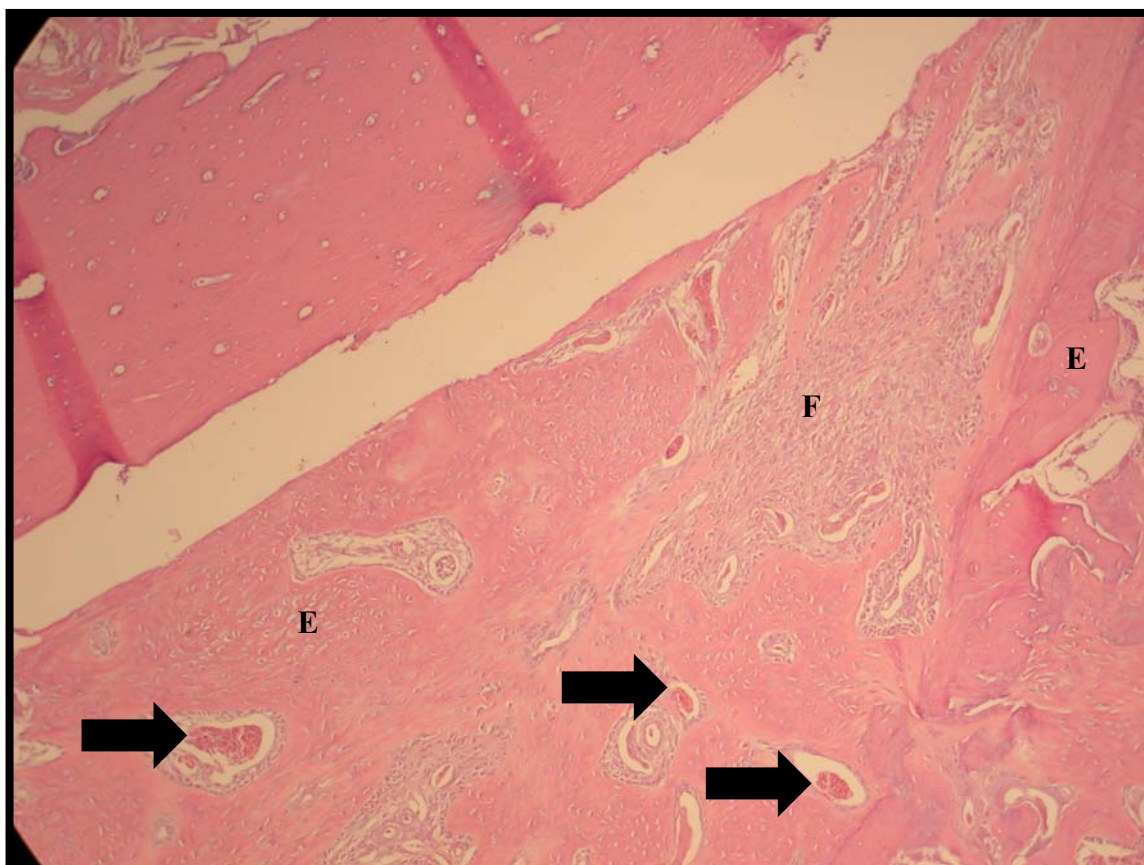


Figura 13: Fotomicroscopia evidenciando tecido fibroso desorganizado (F) e fragmentos de enxerto ósseo (E) apresentando vasos sanguíneos neoformados entre as trabéculas ósseas (Setas) em falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica do sub-grupo IIa (14 dias) (Hematoxilina-eosina 100X).

Os animais do sub-grupo Ic (60 dias de pós-cirúrgico) não demonstraram imagens radiográficas compatíveis com proliferação óssea. Nos quatro animais avaliados houve a formação de tecido ósseo moderadamente organizado na falha, entretanto o animal 5 não apresentou a formação de uma ponte unindo as duas corticais, notando-se a presença de tecido fibroso adentrando a medular. A quantidade de tecido ósseo neoformado variou de discreta a moderada. No sub-grupo IIc, dois animais apresentaram imagens radiográficas compatíveis com proliferação óssea intensa, enquanto os animais 16 e 17 apresentaram ausência ou proliferação óssea leve, respectivamente. A avaliação histológica demonstrou tecido ósseo no local da falha variando de desorganizado (Figura 14) a moderadamente organizado (Figura 15), e a quantidade de tecido ósseo neoformado mostrou grande variabilidade de resultados, indo do discreto a moderado / intenso.

No sub-grupo Id (90º dia após a cirurgia) quatro dos seis animais não apresentaram reações de proliferação óssea radiologicamente visíveis, os animais 7 e 10 apresentaram discreta e moderada proliferação óssea, respectivamente. Com relação à avaliação histológica,

três dos seis animais já apresentavam estágios avançados de remodelação (Figura 16) óssea na ponte formada entre as duas corticais, e os demais animais apresentaram-se em estágios variando do tecido ósseo desorganizado ao moderadamente organizado. Cinco dos animais estudados apresentaram neoformação de tecido ósseo discreta / moderada, enquanto um dos animais apresentou uma neoformação moderada. Todos os animais do Sub-grupo IId mostraram algum grau de proliferação óssea no exame radiográfico, variando este de uma leve a intensa resposta proliferativa. Nenhum dos animais no sub-grupo IId alcançou graus avançados de organização tecidual na falha, seus escores variaram de 3 a 4, demonstrando a presença de tecido ósseo neoformado ainda desorganizado ou moderadamente organizado. Entretanto, a quantidade de tecido ósseo neo formado variou de moderada a intensa.

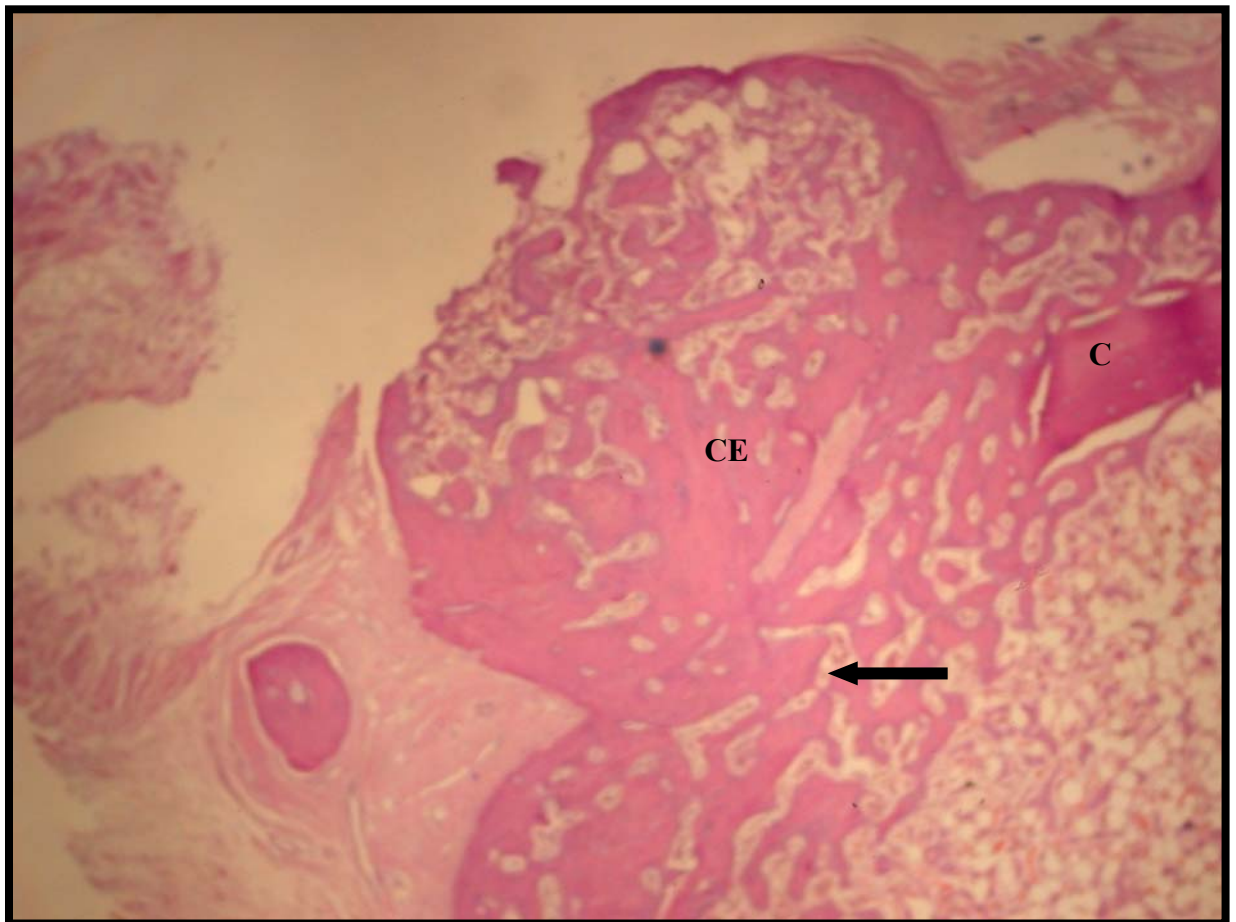


Figura 14: Fotomicroscopia evidenciando tecido ósseo neoformado apresentando organização moderada na falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica (seta) do sub-grupo IIc (60 dias), estendendo-se a partir da cortical (C). Notar a presença de extenso calo externo (CE) (Hematoxilina-eosina 40x).

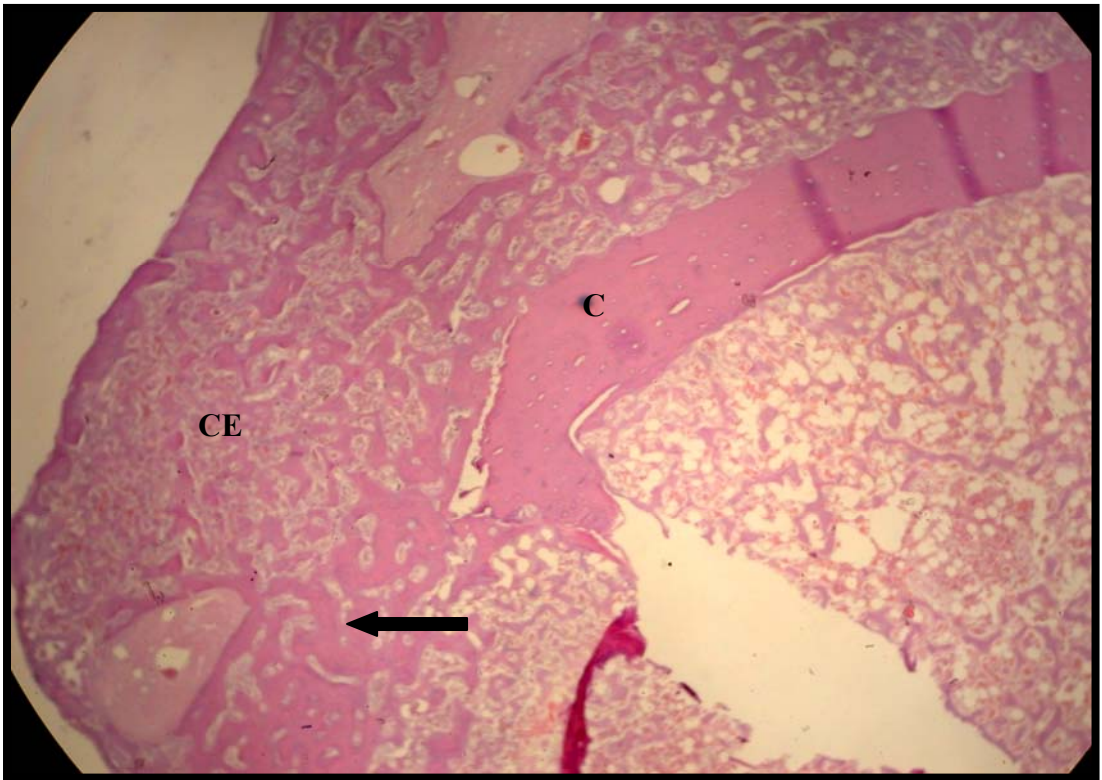


Figura 15: Fotomicroscopia evidenciando tecido ósseo neoformado apresentando organização moderada na falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica (seta) do sub-grupo IIc (60 dias), estendendo-se a partir da cortical (C). Notar a presença de extenso calo externo (CE) (Hematoxilina-eosina 40x).

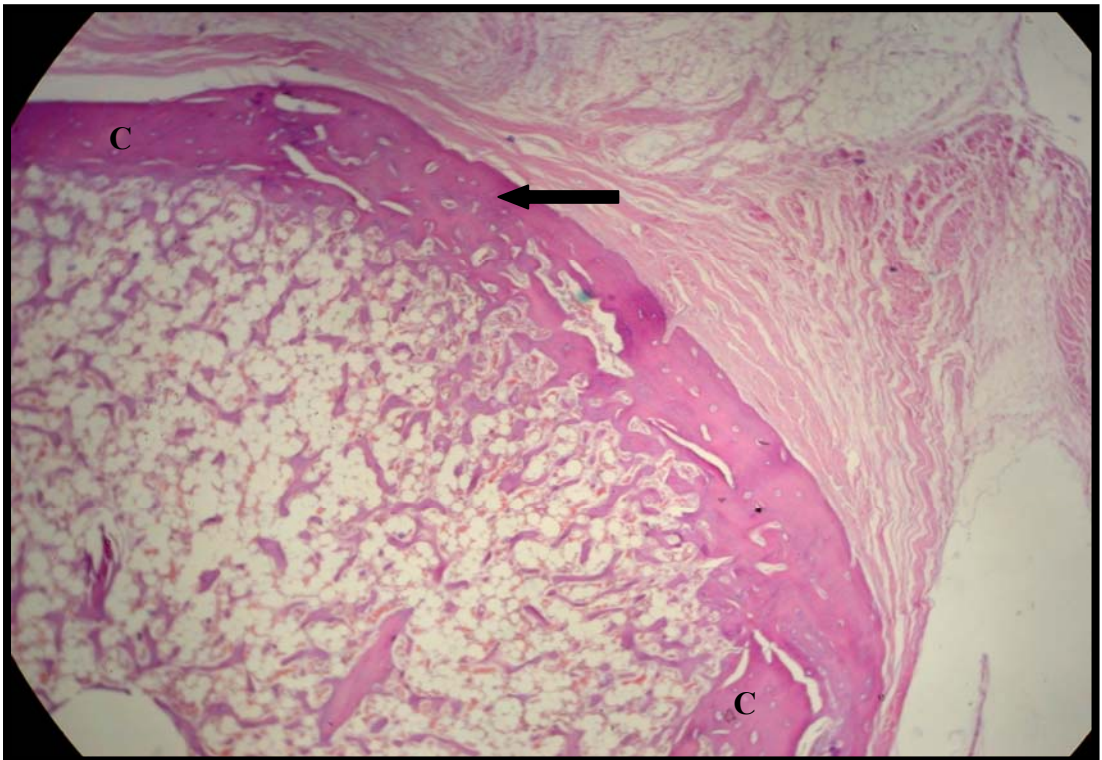


Figura 16: Fotomicroscopia evidenciando tecido ósseo neoformado (seta) apresentando remodelação avançada na falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica do sub-grupo Id (90 dias) formando uma ponte entre as duas corticais (C). Notar a ausência de calo externo (Hematoxilina-eosina 40x)

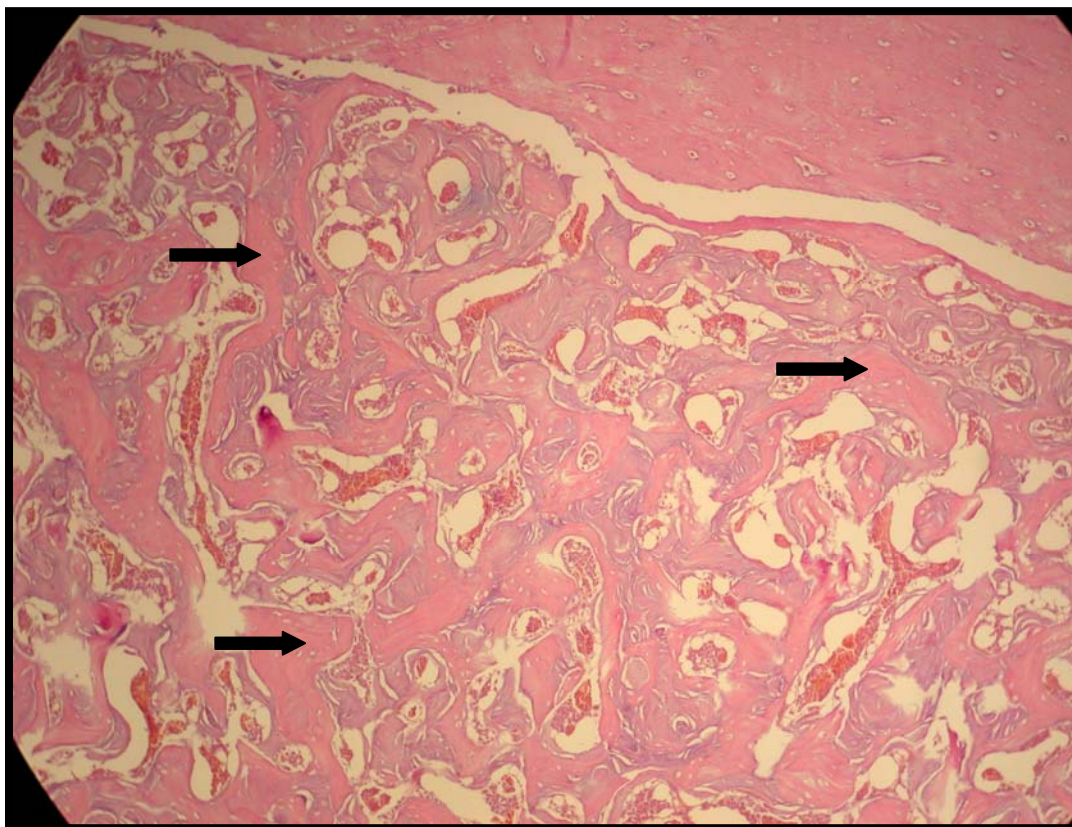


Figura 17: Fotomicroscopia evidenciando ossificação da medular (setas) em falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica do sub-grupo IIc (60 dias) (Hematoxilina-eosina 40X).

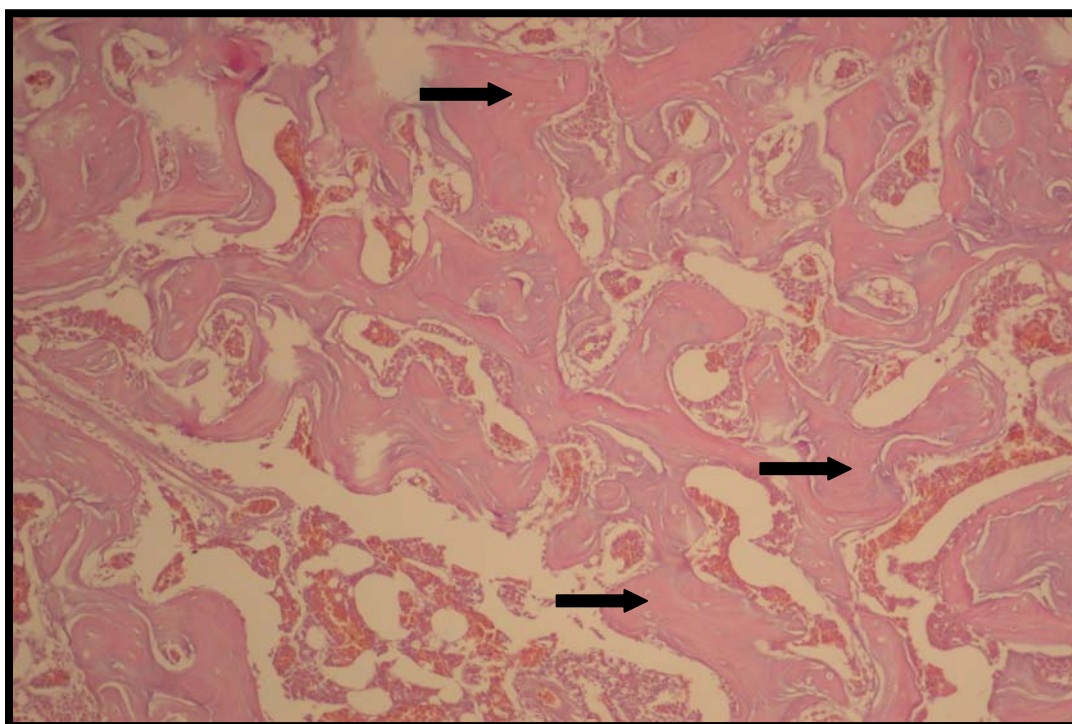


Figura 18: Fotomicroscopia evidenciando ossificação da medular (setas) em falha óssea ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica do sub-grupo IIc (60 dias) (Hematoxilina-eosina 100X).

Não foram observadas reações inflamatórias em nenhum dos animais estudados. Em dezesseis dos dezoito animais avaliados foi observada a presença de ossificação da medular (Figuras 17 e 18) em diferentes graus.

A tabela 1 demonstra os resultados da avaliação semiquantitativa acima descritos realizada nos animais em diferentes períodos, com ou sem a presença de enxerto ósseo cortico-esponjoso.

Tabela 1: Resultados expressos em escores do grau de proliferação tecidual nas proximidades da falha ulnar experimentalmente produzida em galinha doméstica ao exame radiográfico (PT); reação inicial do perióstio e a maturação do tecido ósseo neoformado que preenchia a área entre as duas corticais (FO); e a quantidade total de tecido ósseo neoformado (TN), soma da pontuação de cada animal (Σ), a média desta soma (\bar{x}) e o desvio padrão (SD).

Dias	Animal	Controle (Grupo I)						Tratado (Grupo II)					
		PT	FO	TN	Σ	\bar{x}	SD	PT	FO	TN	Σ	\bar{x}	SD
14 a	1	0	1	1	2	2,5	1	0	2	2	4	4	0,5
	2	0	2	2	4			0	3	2	5		
	4	0	1	1	2			0	2	2	4		
	13	0	1	1	2			0	2	2	4		
35 b	3	0	4	2	6	5	0,85	3	3	3	9	8,5	1,29
	18	0	3	1	4			1	4	3	8		
	14	0	3	2	5			1	3	3	7		
	15	0	4	1	5			3	4	3	10		
60 c	5	0	4	3	7	6	0,82	3	3	3	9	7,75	0,96
	9	0	4	2	6			3	3	1	7		
	16	0	4	1	5			0	4	3	7		
	17	0	4	2	6			1	3	4	8		
90 d	6	0	5	2	7	7	1,79	3	4	5	12	10,17	1,47
	7	1	3	2	6			1	3	5	9		
	8	0	5	3	8			2	4	5	11		
	10	3	5	2	10			3	3	5	11		
	11	0	3	2	5			3	3	4	10		
	12	0	4	2	6			2	3	3	8		

Comparando-se os diferentes tratamentos, nos diferentes tempos, foi possível observar que houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os grupos controle e tratado aos 35 e 90 dias de pós-cirúrgico. Ou seja, o grupo tratado mostrou um potencial osteogênico maior que o grupo controle, mesmo quando considerou-se importante a variável organização do tecido ósseo neoformado na falha entre as duas corticais, entretanto nos momentos 14 e 60 dias não foram observadas diferenças estatísticas significativas. Quando foram comparados os 18 animais dos grupos Controle e Tratado sem levar-se em consideração o tempo de observação, foi possível observar que houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os dois grupos.

5 DISCUSSÃO

Segundo Conti et al. (2005), as galinhas se mostram um bom modelo experimental no que tange ao treinamento cirúrgico, pois oferecem as mesmas características anatômicas de algumas aves selvagens. Entretanto é importante lembrar que são aves domésticas, familiarizadas à presença humana e ao alojamento em gaiolas. As aves selvagens, ao contrário, se estressam com muita facilidade, principalmente na presença do homem, e se debatem no interior do recinto, sendo mais sujeitas a problemas como mobilidade no foco de fratura e, principalmente, deslocamento de dispositivos de fixação. No presente estudo foi observado que, independente da maior facilidade de manejo encontrada nas galinhas domésticas, dois animais apresentaram fraturas completas no local de criação da falha em procedimentos de contenção mecânica no período pós-cirúrgico, demonstrando que toda contenção de animais é sempre um procedimento que merece muita atenção e planejamento por parte dos profissionais envolvidos (NETO, 2006).

A ocorrência destas fraturas mostrou que a criação da falha gerou uma diminuição da resistência óssea naquele ponto, visto que ambas as fraturas ocorreram exatamente no local da lesão. Sendo assim, foi necessária a criação de uma técnica de contenção física manual fundamentada na observação do comportamento dos animais estudados.

Assim como resultados encontrados por Alievi (2000), o período de adaptação de 15 dias permitiu que as aves pudessem adaptar-se à nova dieta, ao novo ambiente e às pessoas que iriam manipulá-las, o que facilitou a realização dos diversos procedimentos clínicos, como por exemplo a detecção de ectoparasitos.

A quetamina é um anestésico dissociativo, que promove estado cataleptóide, mantendo os reflexos oculares, orais, laríngeos, sem promover um bom relaxamento muscular. Os benzodiazepínicos, quando em associação com a quetamina, promovem uma rápida indução, perda de reflexos, bom relaxamento muscular, além de provocarem poucas alterações cardiovasculares e respiratórias (VALADÃO, 2002). A associação destes dois fármacos mostrou-se eficaz e segura quando utilizada no presente estudo em galinhas domésticas; contudo, Heard (1997) cita que a maioria das cirurgias ortopédicas são consideradas moderada a intensamente dolorosas e, sendo assim, optou-se por associar à medicação pré anestésica ao butorfanol, fármaco opióide agonista dos receptores *kappa*. Segundo Guimarães et al. (2007), as aves possuem no cérebro uma maior porcentagem de receptores *kappa* em relação aos *mu*, sugerindo que os fármacos agonistas dos receptores *mu*, como a morfina, seriam menos eficientes do que os agonistas dos receptores *kappa*, como o butorfanol, na

produção de analgesia. Vale ressaltar, que mesmo associando os três fármacos ainda foi necessária a indução com uso de isoflurano diluído em oxigênio fornecido através de máscara anestésica para que a intubação pudesse ser realizada, pois o reflexo laringotraqueal ainda não havia sido abolido.

Apesar de Bennet (1992) e Flecknell (1996) citarem que o decréscimo na função metabólica, o relaxamento muscular, o tempo prolongado do procedimento anestésico, a utilização de anestesia inalatória e a utilização de álcool como anti-séptico na superfície corpórea de aves promova hipotermia, não foram observadas quedas acentuadas na temperatura corporal dos animais estudados, pois os mesmos se encontravam sobre colchão térmico.

A abordagem cirúrgica na face dorso-lateral da asa, conforme recomendado por Martin e Ritchie (1994), foi facilmente realizada, sendo pouco cruenta e oferecendo boa exposição do sítio cirúrgico. A utilização da broca acoplada à micro-retífica facilitou a padronização da falha óssea criada (Figura 9) e contribuiu para minimizar os danos aos tecidos adjacentes, estruturas essas que foram essenciais para fixação dos fragmentos de enxerto ósseo depositados na falha óssea da asa esquerda (Figura 9). Apesar desta técnica de fixação do enxerto ter se mostrado eficaz, o animal 15 do sub-grupo IIb apresentou um deslocamento caudal dos fragmentos ósseos enxertados.

Optou-se pela colheita de osso córtico-esponjoso na carena do esterno, pois Bennet (1997) cita que é o local de escolha quando se necessita de grande quantidade de tecido ósseo. A retirada dos fragmentos foi feita com a utilização de uma cizalha Luer goiva simples reta, pois deve-se evitar o uso de serras, que poderiam induzir o aumento da temperatura no osso adjacente, resultando em morte celular e retardo na osteogênese (STEVENSON, 1998). Bennet (1997) recomenda que o osso a ser colhido seja retirado da porção central da carena do esterno, o que evitaria a retirada da crista na qual a musculatura peitoral se origina, evitando assim lesões que poderiam atrapalhar no vôo. Diante da região e quantidade indicada pelo autor para retirada de osso córtico-esponjoso, supõe-se que o objetivo seja a manutenção da forma do fragmento coletado para substituição estrutural na reconstrução de falhas extensas, o que, entretanto, não é o objetivo do presente trabalho, no qual propõe-se a fragmentação do osso coletado e preenchimento do sítio receptor com finalidade predominantemente osteoindutiva. Portanto, a quantidade de osso coletado foi pequena e o tamanho da lesão na crista da carena não sugere prejuízo à reimplantação da musculatura peitoral, apesar de avaliações quanto a um possível prejuízo ao vôo, em outras espécies, ainda serem necessárias.

Imediatamente após a colheita os fragmentos foram cortados, permanecendo com cerca de 3 mm, visto que Fox (apud SANTOS, RAHAL, 2004) recomenda que os fragmentos enxertados não devem possuir menos que 0,7 mm, pois não estimulariam a osteogênese, concordando com Wegel (1993) que cita a importância do tamanho da partícula óssea na vascularização e sobrevivência das células do enxerto.

Piermattei e Flo (1997) afirmam que após a colheita, o enxerto esponjoso autólogo deve ser aplicado o mais rapidamente possível, no entanto, se for necessária a estocagem até o momento da transferência para a área receptora, o enxerto pode ser mantido envolto em compressa de gaze umedecida com solução salina 0,9%. Sendo assim, optou-se pela criação da falha óssea receptora (asa esquerda) antes da retirada do enxerto, pois os fragmentos acondicionados em gaze umedecida com solução salina 0,9% permaneceram assim por pouco tempo, somente enquanto a musculatura e a pele do peito eram suturadas.

Durante a aplicação do enxerto no local receptor foi realizada uma leve compressão, visto que Martinez et al. (1992), em trabalho utilizando cães, não detectaram diferenças na capacidade osteogênica entre os enxertos aplicados com ou sem compressão.

Embora Westfall e Egger (1979) tenham comentado que a osteomielite seja um problema raro em aves, os mesmos recomendam a cobertura antimicrobiana quando se faz uso de qualquer material implantado. Sendo assim, foi utilizada uma associação de dois antibióticos baseada na microbiota esperada no tecido alvo. Tal associação se mostrou eficaz, visto que não foram observados sinais de infecções em nenhuma das aves estudadas.

Tomasi et al. (apud FONSECA, 2007) investigaram a desmineralização de fragmentos de osso ovino que foram imersos em diferentes soluções fixadoras e foram mantidas imersas nas soluções em três tempos diferentes: quinze dias, três meses e dez meses. Os autores verificaram que a perda de substância mineral, nos períodos avaliados, foi mínima, e isto permitiu determinar que a perda de peso durante a fixação é mínima se comparada com a massa inorgânica total existente na amostra. Entretanto, os autores sugerem a realização de pesquisas que quantifiquem o cálcio, bem como análises radiográficas de fragmentos ósseos conservados em formol até um período de 10 meses. Porém, Fonseca (2007) afirma que a exposição do tecido ósseo à formalina, quer seja tamponada ou não, apresenta efeito desmineralizante sobre o tecido ósseo já no tempo de 24 horas, alcançando altos índices de descalcificação aos 90 dias de conservação. Tal efeito, assim como a reabsorção das trabéculas ósseas promovidas por osteoclastos (Stevenson, 1999), podem ter determinado a ausência de imagem radiográfica dos fragmentos de enxerto no sub-grupo IIa.

O fato de não terem sido observadas durante o exame histológico a presença de células inflamatórias no local da lesão e/ou ao redor dos fragmentos de enxerto, recaem, respectivamente, sobre: os tempos de observação, que ocorreram após os três primeiros dias pós-lesão, período em que Banks (1991) afirma ocorrer uma resposta inflamatória intensa; e a utilização de enxerto autólogo, material este sem nenhum potencial antigênico. Bolson et al. (2008) sugerem que a inflamação é relevante no tempo de cicatrização óssea, favorecendo a sua aceleração, enquanto Junqueira e Carneiro (1999) referem-se ao processo inflamatório como essencial, ao afirmarem que, se não houver inflamação, não haverá regeneração. Processos inflamatórios exacerbados, característicos de regiões de fraturas infeccionadas (osteomielite), podem retardar ou mesmo impedir o processo de regeneração. Observando-se os resultados obtidos no presente trabalho, postula-se que a inflamação ocorreu em níveis de normalidade, sem influência negativa de um processo exacerbado, tampouco de efeito excessivamente supressivo da medicação oral utilizada no pós-operatório (meloxicam), uma vez que progrediu satisfatoriamente em todos os animais avaliados.

As galinhas utilizadas no experimento eram da raça New Hampshire, uma linhagem americana destinada à produção de ovos, o que justifica a presença de ossificação da medular, pois segundo O'Malley (2005) este local funciona como um importante sítio de reserva de minerais, já que existe uma demanda muito grande desses elementos durante a fase de postura de ovos. Fleming et al. (1998), trabalhando com dois grupos de animais de uma linhagem comercial de galinhas de postura alojadas em diferentes granjas, demonstrou que em um dos grupos 83,9% das galinhas apresentavam ossificação da medular, enquanto apenas 7,5% das galinhas do outro grupo apresentavam a mesma manifestação. Com este resultado o autor concluiu que o ambiente de criação, em particular a alimentação, é fundamental na ossificação da medular, visto que os animais eram da mesma linhagem genética. O mesmo autor relata um aumento na resistência dos ossos que apresentam esta ossificação. Nos animais do presente estudo não foi observada correlação entre volume da área de ossificação e evolução da regeneração óssea, entretanto se mostra necessária a realização de estudos que comprovem se há ou não uma relação entre reparação de lesões ósseas e a reação de ossificação da medular.

Del Carlo et al. (2004), em experimento utilizando polímero de mamona acrescido de cálcio, associado ou não com medula óssea em falhas criadas no rádio de coelhos, relataram que aos 21 dias de observação o polímero implantado na falha apresentou-se envolto por uma camada de tecido fibroso, assim como observado no presente estudo aos 14 dias de observação. Vale ressaltar que, aos 35 dias este tecido conjuntivo já se apresentando

organizado, e assim como observado por Ignácio (1995), o mesmo vai sendo gradativamente substituído por tecido ósseo imaturo.

Fossum et al. (2005) relatam que os enxertos corticais destacam-se pelas suas propriedades mecânicas e osteocondutivas, visto que de forma geral são acelulares e estimulam pouca resposta osteogênica. Entretanto o enxerto ósseo córtico-esponjoso utilizado no presente estudo demonstrou um grande potencial osteogênico, visto que durante a avaliação o grupo II, composto por falhas ósseas que receberam o implante de fragmentos de enxerto, demonstrou uma maior produção de osso neoformado em comparação ao grupo controle. Este potencial osteogênico tem origem na extensa área de superfície coberta por células de revestimento do tecido ósseo transplantado em associação com células da medula óssea. A atividade osteogênica máxima foi alcançada no período entre 60 e 90 dias de observação, concordando com Stevenson (1999) que relata uma atividade osteogênica iniciada por volta do quinto dia após implantação e atividade máxima à oitava semana após o transplante.

Aos 90 dias de observação nenhum dos animais do sub-grupo IId, com implantação de enxerto, apresentou organização intensa do tecido ósseo que recobria a interface entre as duas corticais, mostrando que, assim como relatado por Stevenson (1999), este processo de organização lamelar pode ter duração de vários meses, ocorrendo a substituição do tecido ósseo não lamelar recém formado por tecido ósseo lamelar, constituído por sistemas de Havers.

As propriedades osteocondutoras do enxerto foram observadas nos animais que foram avaliados aos 14 dias de pós-cirúrgico, quando havia neovascularização no interior das trabéculas ósseas dos fragmentos enxertados. Esta propriedade é conferida pela estrutura tridimensional, formada por tecido ósseo trabecular, que irá permitir uma rápida revascularização (DIAS et al., 2007).

No modelo experimental desenvolvido no presente trabalho foi observada evolução de fratura estável (apesar da presença de falha medindo aproximadamente 3,3 mm de largura e 1,6 mm de profundidade), uma vez que a solução de continuidade não envolvia todo o diâmetro do osso. Isto pôde ser comprovado pela formação de calo entre as extremidades da falha no grupo Controle, principalmente a partir do endóstio, com estágio bastante avançado de remodelação óssea aos 90 dias, sem a presença de calos externos. Piermatei e Flo (1999) afirmam que a consolidação em lacunas pequenas e muito estáveis é reparada transpassando a maioria dos passos de uma cicatrização óssea indireta, indo diretamente ao remodelamento ósseo, havendo presença de calos intercorticais e pequena quantidade de calos medulares em

ponte não visíveis radiograficamente. Assim, a quantidade de calo ósseo externo presente é inversamente proporcional ao grau de estabilidade no local da fratura.

Conforme relatado por Einhorn (1995), as fraturas estáveis promovem um aumento da sobrevivência de células do enxerto devido à rápida revascularização, permitindo um bom contato entre o leito receptor e o enxerto. Considerando os resultados aqui apresentados, pode-se considerar que a estabilidade no foco favoreceu a manutenção de células vivas no enxerto, o que explica a atividade proliferativa intensa no grupo tratado desde a primeira fase de avaliação. Na avaliação histológica aos 14 dias de pós-cirúrgico foi observada uma maior reação periosteal nos animais tratados quando comparados aos do grupo controle, o que pode ser explicado pelas propriedades osteoindutivas do enxerto que promovem quimiotaxia, mitose e diferenciação de células mesenquimatosas pluripotenciais em células das linhas condrogênica e osteogênica. As células inflamatórias atraídas para o sítio da lesão secretam mediadores químicos, presentes nos três primeiros dias pós-lesão, sendo determinantes na regulação dos eventos iniciais, constituindo reguladores importantes de proliferação e diferenciação celulares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; DIAS et al., 2007).

Apesar de Bennett (1997) afirmar que o uso do enxerto córtico-esponjoso é freqüente em fraturas de aves, não foram achados na literatura relatos sobre sua utilização, tampouco descrições sobre a evolução da consolidação óssea com aplicação deste tipo de enxerto. A forma de obtenção e aplicação indicada pelo referido autor sugere aplicação do enxerto com fins osteocondutores e trabalhos sobre ação osteoindutora de enxertos ósseos cortico-esponjosos ou esponjosos em aves também não foram encontrados.

A capacidade osteogênica do enxerto cortico-esponjoso fragmentado, aqui observada, pode representar um ganho no tratamento das fraturas de aves, complicado, segundo Bolson (2005), devido às características ósseas peculiares deste táxon, associadas ao tipo de trauma a que geralmente as aves são expostas. A formação precoce do calo pode conferir estabilidade inicial para manutenção da biomecânica normal, fator de grande importância principalmente nas fraturas dos ossos longos das asas, conforme afirmam Yamazoe et al. (1994).

6 CONCLUSÕES

Após análise dos resultados pôde se concluir que:

- O enxerto ósseo córtico-esponjoso demonstrou potencial osteogênico satisfatório, entretanto retarda o tempo de remodelação óssea quando aplicado sobre falhas estáveis pequenas.

- A aplicação de enxertos autógenos em ossos longos de aves é de simples execução e não implica na adição de custo ao tratamento das fraturas, indicando forte possibilidade de aplicação clínica. Avaliações em modelos de fraturas cominutivas instáveis, com perda de esquírolas, de ocorrência mais comum nestas espécies, poderão dar suporte para sua utilização como rotina na ortopedia aviária.

7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AIELLOR, S.E. *Manual Merk de veterinária*. 8 ed. São Paulo: Roca, 2001.

ALIEVI, M.M. *Implante ósseo cortical alógeno conservado em mel na reconstrução de falha óssea diafisária em fêmur de cães*. 2006. 85 f. Tese (Doutorado em Cirurgia)– Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

ALIEVI, M.M. *Redução fechada e fixação esquelética externa tipo I para tratamento de fraturas de tibiotarso em pombos domésticos*. 2000. 38 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

ALIEVI, M.M.; SCHOSSLER, J.E.; HIPPLER, R.A.; ALVES, A.S.; PELLEGRINI, L.C.; LANGOHR, I.M. Redução fechada e fixação esquelética externa tipo II para o tratamento de fraturas de tibiotarso em pombos domésticos (*Columba livia*). *Ciência Rural*, v. 31, n. 6, p. 1019 - 1025, 2001.

ALIEVI, M.M.; SCHOSSLER, J.E.; HIPPLER, R.A.; ALVES, A.S.; SILVA, J.H.S.. Redução fechada e fixação esquelética externa tipo I para tratamento de fraturas de tibiotarso em pombos domésticos (*Columba livia*). *Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia*, v. 54, p. 259 - 266, 2002.

ALIEVI, M.M.; SCHOSSLER, J.E.W.; GUIMARÃES, L.D.; OLIVEIRA, A.N.C.; TRAESLOL, C.K.; FERREIRA, P.A. Implante ósseo cortical alógeno conservado em mel na reconstrução de falha óssea diafisária em fêmur de cães: Avaliação clínica e radiográfica. *Ciência Rural*, v. 37, n. 2, p. 450 - 457, 2007.

AMENDOLA, G.F.; ILHA, M.; BERGER, R.; STEDILE, R.; SCHOSSLER, J.E. Correção de defeito ósseo femoral em cães utilizando implante cortical homólogo conservado em mel. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 18, n. 4, p. 302 - 307, 2003.

ANDIA, D.C.; CERRI, P.S.; SPOLIDORIO, L.C. Tecido ósseo: aspectos morfológicos e histológicos. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 35, n. 2, p. 191 - 198, 2006.

BANKS, W.J. *Histologia veterinária*. 2 ed. São Paulo: Manole, 1991.

BATISTA, C.A.M.; NETO, R.C.; LOPES FILHO, G.J. Comparative study of the healing process of the aponeurosis of the anterior abdominal wall of rats after wound closure using 3-0 nylon suture and N-butyl-2-cyanoacrylate tissue adhesive. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 23, n. 4, p. 352 – 363, 2008.

BENNETT, R.A. Orthopedic surgery. In: ALTMAN, R.B.; CLUBB, S.L.; DERROSTEIN, G.M.; QUESENBERRY, K. *Avian Medicine and Surgery*. 1 ed. Philadelphia: Saunders, 1997. Cap. 42, p. 733 - 766.

BENNETT, R.A.; KUZMA, A.B. Fracture management in birds. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 23, p. 5 - 38, 1992.

BERG, J.C.W. Miologia das aves. IN: GETTY, R. *Anatomia dos Animais Domésticos*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. V. 2, cap. 61, p. 1691 - 1731.

BOLSON, J. *Comportamento do plímero de mamona (Ricinnus communis) em ossos de codornas domésticas (Coturnix japônica)*. 2005. 57 f. Dissertação (Mestrado em cirurgia)-Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

BOLSON, J.; SCHOSSLER, J.E.; ORNES, R.C.; MOTTIN, V.; ALBERTI, T. Análise clínica, radiológica, macroscópica e histológica do úmero de codornas domésticas (*Coturnix japônica*) submetido ao implante da poliuretana derivada do polímero de mamona (*Ricinnus communis*). *Ciência Rural*, v. 35, n. 5, p. 1123 - 1130, 2005.

BOLSON, J; SCHOSSLER, J.E.W. Osteossíntese em Aves – Revisão de Literatura. *Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar*, v. 11, n. 1, p. 55 - 62, 2008

BOLSON, J.; SCHOSSLER, J.E.; MACHADO, G.; ZEMBRZUSKI, F.B. Pino ósseo homólogo conservado em glicerina a 98% e hemicerclagem com fio poliglactina 910 na osteossíntese umeral de pombos domésticos. *Ciência Rural*, v.38, n. 7, p. 1925 – 1931, 2008.

BOSKEY, A.L. Tecidos conjuntivos do sistema músculo esquelético. In: SLATTER, D. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*. 2 ed. São Paulo: Manole, 1998. V. 2, cap. 119, p. 1881 - 1890.

CANULLO, L.; SISTI, A. Early implant loading after vertical ridge augmentation (VRA) using e-PTFE titanium-reinforced membrane and nano-structured hydroxyapatite: 2-year prospective study. *European Journal Oral Implantology*, v. 3, n. 1, p. 59 – 69, 2010.

COELHO, J.M.; ANTONIOLLI, A.B; SILVA, D.N; CARVALHO, T.M.M.B.; PONTES, E.R.J.C.; ODASHIRO, A.N. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Revista do Colégio Brasileiro Cirurgões*, v. 37, n. 1, p. 045 - 051, 2010.

CONTI, J.B.; SCHOSSLER, J.E.W.; ALIEVI, M.M.; BONFADA, A.T.; NOVOSAD, D.; SILVA, D.; PACHALY, J.R. Uso de fixador esquelético externo tipo I para osteossíntese de tibiotarso em galinhas da raça Plymouth Rock Branca- Modelo experimental para uso em aves selvagens. *Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, v. 8, n. 2, p. 111 - 115, 2005.

DALMOLIN, F. SCHOSSLER, J.E.; BERTOLETI, B.; VASCONCELOS, A.; MULLER, D. SCHOSSLER, D.R.; GOMES, K. Modificações do fixador externo para osteossíntese umeral em pombos domésticos. *Ciência Rural*, v. 37, n. 2, p. 443 - 449, 2007.

DEL CARLO, R.J.; GALVÃO, S.R.; VILORIA, M.I.; SOUZA, T.D.; FILHO, A.M. Aloenxertos ósseos caninos diferentemente preservados. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 6, p. 121 - 126, 1999.

DEL CARLO, R.J.; KAWATA,D.; VILORIA, M.I.V.; OLIVEIRA, D.R.; SILVA, A.S.; MARCHESI, D.R.; GALVÃO, S.R.; AZEVEDO, P.; MONTEIRO, B.S. Polímero derivado

de mamona acrescido de cálcio, associado ou não à medula óssea autógena na reparação de falhas ósseas. *Ciência Rural*, v.33, n.6., P. 1081-1088, 2004

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

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

EINHORN, T.A. Current concepts review enhancement of fracture-healing. *Journal Bone Joint Surgery*, v. 77-A, n. 6, p. 940 - 956, 1995.

FANTONI, D.T.; MASTROCINQUE, S. Fisiopatologia e controle da dor. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. *Anestesia em Cães e Gatos*. 1 ed. São Paulo: Roca, 2002. Cap. 31, p. 323 - 336.

FEDUCCIA, A. Osteologia das aves. In: GETTY, R. *Anatomia dos Animais Domésticos*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. V. 2, cap. 60, p. 1680 -1690.

FEOFILOFF, E.T.; JESUS –GARCIA, R. Técnicas de obtenção, processamento, armazenamento e utilização de homoenxertos ósseos. *Revista Brasileira de Ortopedia*, v. 31, n. 11, p. 895 - 903, 1996.

FERRAZ, V.C.M.; FERRIGNO, C.R.A.; CORTOPASSI, S.R.G.; LOPES, R.S.; ISAZA, R.; KIM, S. Avaliação radiográfica e de função de vôo após fixação de osteotomias distais do úmero em pombas (*Columba livia*), com modelo de fixador externo articulado. *Revista Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 28, n. 8, p. 351 - 357, 2008.

FLECKNELL, P.A. Anaesthetic management. In: _____. *Laboratory animal anaesthesia*. London: Academic, 1996. p.75-100.

FLEMING, R.H.; McCORMACK, H.A.; McTEIR, L.; WHITEHEAD, C.C. Medullary bone and humeral breaking strength in laying hens. *Research in Veterinary Science*, v. 64, n. 1, p. 63 – 67, 1998.

FONSECA, A.A.R. *Avaliação do efeito da formalina na descalcificação de espécimes anatômicos, por meio da densidade radiográfica e concentração de cálcio*. 2007, 98p. Tese (Doutorado em odontologia) – Programa de pós-graduação em odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

FOSSUM, T.W.; HEDLUND, C.S.; HULSE, D.A.; JONSON, A.L.; SEIM, H.B.; WILLARD, M.D.; CARROLL, G.L. *Cirurgia de Pequenos Animais*. 2 ed. São Paulo: Roca, 2005.

GAIGA, L.H. *Osteossíntese de úmero por xenoenxerto ósseo preservado em glicerina 98% ou mel em pombos domésticos (Columba livia)*. 2002. 45f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia)– Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

GAIGA, L.H.; SCHOSSLER, J.E.W. *Osteossíntese de úmero por xenoenxerto ósseo preservado em mel em pombos domésticos (Columba Livia)*. *Ciência Rural*, V.33, n.4, p. 709-715, 2003.

GETTY, R. Osteologia geral. In: GETTY, R. *Anatomia dos Animais Domésticos*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. V. 1, cap. 2, p. 19 - 32.

GIOSO, M.A.; BENITES, N.R.; KAMPF, G. Análise microbiológica de ossos de cães conservados por longo período de tempo na glicerina 98% à temperatura ambiente, objetivando a enxertia óssea. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 17, n. 4, p. 242 - 246, 2002.

GOELZ, M. F., HAHN, A. W., KELLEY, S.T. Effectes of halothane and isoflurane on mean arterial blood pressure, heart rate, and respiratory rate in adult Pekin ducks. *American Journal of Veterinary Research*, v. 51, n. 3, p. 458 - 460, 1990.

GUIMARÃES, L.D.; ALIEVI, M.M.; RAISER, A.G.; FLORES, F.; BOPP, S.; FERREIRA, P.; TRAESEL, C. Efeitos do butorfanol e da morfina em pombos domésticos (*Columba livia*) anestesiados com isofluorano e submetidos à cirurgia ortopédica. *Acta Scientiae Veterinariae*. V. 35 n. 3, p. 367 - 372, 2007.

GUIMARÃES J.H. Ectoparasitas e outros artrópodes importantes para a indústria avícola brasileira. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. *Doenças das Aves*. Campinas: FACTA, 2000. p. 413-22.

GUIMARÃES, L.D; MORAES, A.N. Anestesia em aves: agentes anestésicos. *Ciência Rural, Santa Maria*, v. 30, n. 6, p. 1073 - 1081, 2000.

HAWKINS, M.G.; PASCOE, P.J. Cagebirds. In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. *Zoo Animal & Wildlife Immobilization and Anesthesia*. 1 ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. Cap. 22, p. 269 - 297.

HEARD, D.J. Anesthesia and analgesia. In: ALTMAN, R.B. *Avian Medicine and Surgery*. Philadelphia: Saunders, 1997. Cap. 45, p. 807 - 827.

HENRY, W.B.; WADSWORTH, P.L. Diaphyseal allografts in the repair of long bones fractures. *Journal American Animal Hospital Association*, v. 17, n. 4, p. 525 - 534, 1981.

HULSE, D.A.; HYMAN, B. Biologia e biomecânica de das fraturas. In: SLATER, D. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*. São Paulo: Manole, 1998. Cap. 120, p. 1891 -1900.

IGNÁCIO, H. *Utilização do cimento derivado do polímero da mamona no preenchimento de falha óssea. Estudo experimental em coelhos*. 1995. 96f. Dissertação (Mestrado em ortopedia e traumatologia) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

JUNQUEIRA, J.C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. *Histologia e embriologia oral*. Texto-atlas-correlações clínicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

LEOTTE, A.M. *Fixação esquelética tipo I para osteossíntese diafisária de úmero e resposta inflamatória em pombos domésticos (Columba livia)*. 2003, 42p. Dissertação (Mestrado em cirurgia) – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

LEOTTE, A.M.; RAISER, A.G.; BRAGA, F.A., KRAUSPENHAR, L.; CAMARGO, S.F.; FLORES, F.N.; GOMES, K.; SCHERER, R.S. Fixação esquelética externa tipo Ia (unilateral-uniplanar) para osteossíntese diafisária de úmero em pombos domésticos (*Columba livia*). *Ciência Rural*, v. 34, n. 6, p. 1865 - 1870, 2004.

LEVITT, L. Avian orthopedics. *Compendium on Continuing Education for Practicing Veterinarian*, v. 11, n. 8, p. 899 - 929, 1989.

MACCOY, D.M.; HASCHEVK, M.W. Healing of transverse humeral fractures in pigeons treated with ethylene oxide-sterelized, dry-stored, onlay cortical xenografts and allografts. *American Journal Veterinary Research*, v. 49, p. 106 - 110, 1998.

MARTIN, H.; RITCHIE, B.W. Orthopedic surgical techniques. In: RITCHIE, B.W., HARRISON, G.J., HARRISON, L.R. *Avian Medicine: Principles and application*. 1 ed. Florida: Wingers Publishing, 1994.

MARTINEZ, S.A.; PROBST, C.W; HAUPTMAN, J.G.; WEISBRODE, S.E. Effects of a fixed compression load on the osteogenic effect of autogenous cancellous bone grafts in dogs. *American Journal of veterinary research*, v. 53, n. 12, p. 2381 - 2385, 1992.

MARTINEZ, S.A.; WALKER, T. Bone grafts. *Veterinary Clinical North American Small Animal Practice*, v. 29, n. 5, p. 1207 - 1219, 1999.

MAXERAS, G.A.; MEGAS, P.; MPAMPIS, G.; THOMAS, E.; VAVOURAKI, E. Bone grafts and substitutes in orthopedic surgery. *Journal of the Hellenic Association of Orthopaedic and Traumatology*, v. 53, n. 4, 2002.

NETO, J.E. Galliformes (Mutum, Jacu, Jacutinga, Aracua, Uru). In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. *Tratado de Animais Selvagens*. 1 ed. São Paulo: Roca, 2006. Cap. 13, p. 169 – 184.

O'MALLEY, R. *Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species*. 1 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005.

PEREIRA, B. R.; SOUZA, P. H. C.; WESTPHALEN, F. H. Estudo dos níveis de cinza da densidade óssea mandibular mediante radiografias convencionais digitalizadas. *Revista Odonto Ciência*, Porto Alegre, v. 19, n. 44, p. 176-179, 2004.

PIBAROT, P., DUPUIS, J.; GRISNEAUX, E.; CUVELLIEZ, S.; PLANTÉ, J.; BEAUREGARD, G.; BONNEAU, N.H.; BOUFFARD, J.; BLAIS, D. Comparison of ketoprofen, oxymorphone hydrochloride, and butorphanol in the treatment of postoperative pain in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association, Schaumburg*, v. 221, n. 4, p. 438 - 444, 1997.

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

SANTOS, F.C.; RAHAL, S.C. Enxerto ósseo esponjoso em pequenos animais. *Ciência Rural*, v. 34, n. 6, p. 1969 - 1975, 2004.

SIMIONATO, A.C.; RAMOS, M.C.C.; COUTINHO, S.D.A. Isolamento de Bactérias aeróbias e sua sensibilidade a antimicrobianos em processos de osteomielite canina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 55, n. 2, p. 148 - 154, 2003.

STEVENSON, S. Enxertos ósseos. In: SLATTER, D. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*. 2 ed. São Paulo: Manole, 1998. V 2, cap 127, p. 2006 - 2017.

STEVENSON, S. Biology of bone grafts. *Orthopedic Clinics of North America*, v. 30, p. 543 - 552, 1999.

TEIXEIRA, C.R.; RAHAL, S.C.; LIMA, A.F.M.; CORREA, M.A.; QUEIROZ, P.; VULCANO, L.C. Haste intramedular de polipropileno, combinada ou não a biomateriais, no tratamento de fraturas induzidas no húmero de pombos. *Archives of Veterinary Science*, v. 9, n. 1, p. 67 - 72, 2004.

TISEO, B.C.; NAMUR, G.N.; DE PAULA, E.J.L.; MATTAR JUNIOR, R.; OLIVEIRA, C. R. G. C. M. Experimental study of the action of COX-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and traditional anti-inflammatory drugs in bone regeneration. *Clinics*, v. 61, n. 3, p. 223 - 230, 2006.

TODISCO, M. Early loading of implants in vertically augmented bone with non-resorbable membranes and deproteinised anorganic bovine bone. An uncontrolled prospective cohort study. *European Journal of Oral Implantology*, v. 3, n. 1, p. 47 -58, 2010.

TORRES, B.B.J.; MUZZI, L.A.L.; ALVES, E.G.L.; LEITE, C.A.L.; FELICIANO, M.A.R.; SAMPAIO, G.R.; MUZZI, R.A.L. Fixação esquelética externa em fratura tarsometatarsica de seriema (*Cariama cristata*): relato de caso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, n. 1, p. 155 - 159, 2007.

TULLY, T.N. Basic avian bone growth and healing. *The Veterinary Clinics of North America Exotic Animals Practice*, v. 5, n. 1, p. 23 - 30, 2002.

TULLY, T.N. Birds. In: MITCHELL, M.A.; TULLY, T.N. *Manual of Exotic Pet Practice*. 1 ed. Missouri: Saunders, 2009. Cap. 10, p. 250 - 298.

WANDER, K.M.; SCHWARZ, P.D.; JAMES, S.P.; POWERS, B.E.; TAYLOR, B.; WIMSATT, J.H. Fracture healing after stabilization with intramedullary xenograft cortical bone pis: a study in pigeons. *Veterinary Surgery*, v.29, p.237-244, 2000.

WASSERMAN, R.H.; KALLFELZ, F.A.; LUST, G. Ossos, articulações e líquido sinovial. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. *Dukes/ Fisiologia dos animais domésticos*. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. Cap. 30, p. 488 - 520.

WEIGEL, J.P. Enxerto ósseo. In: BOJRAB, M.J.; SMEAK, D.D.;BLOOMBERG, M.S. *Mecanismos da Moléstia na Cirurgia de Pequenos Animais*. 2 ed. São Paulo: Manole, 1996. Cap. 98, p. 791 - 798.

WEST, P.G.; ROWLAND, G.R.; BUDSBERG, S.C.; ARON, D.N. Histomorphometric and angiographic analysis of bone healing in the humerus of pigeons. *American Journal Veterinary Research*, v. 57, p. 1010 - 1015, 1996.

WESTFALL, M.L.; EGGER, L.E. The management of long bone fractures in birds. *Iowa State Veterinarian*, v. 41, n. 2, p. 81 - 87, 1979.

WILLIAMS, R.; HOLLAND, M.; MILTON, J.L. A comparative study of treatment methods for long bone fractures. *Companion Animal Practice*, v. 1, n. 4, p. 48 - 55, 1987.

ULBRICH, L.M. *Avaliação de efeito de um campo magnético permanente na cicatrização óssea de fêmures de ratos*. 2003, 95p. Dissertação (Mestrado em clínica odontológica) – Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

UZUN, M.; YILDIZ, S.; ATALAN, G.; KAYA, M.; SULU, N. Effects of Medetomidine-Ketamine Combination Anaesthesia on Electrocardiographic Findings, Body Temperature, and Heart and Respiratory Rates in Domestic Pigeons. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, v. 27, p. 377 - 382, 2003.

VALADÃO, C. A. A. Anestésicos dissociativos. In: FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. *Anestesia em cães e gatos*. São Paulo: Roca, 2002. Cap. 15, p.165-173.

VIANA, F.A.B. *Guia Terapêutico Veterinário*. 2 ed. Minas Gerais: Editora Cem, 2007.

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