RODRIGO CRISPIM MOREIRA

Avaliação da resistência mecânica à compressão axial da
poliuretana de mamona e quitosana associada a cimento de
fosfato de cálcio no preenchimento de falhas ósseas do
terceiro metacarpiano de equinos

São Paulo

2014

RODRIGO CRISPIM MOREIRA

**Avaliação da resistência mecânica à compressão axial da
poliuretana de mamona e quitosana associada a cimento de
fosfato de cálcio no preenchimento de falhas ósseas do
terceiro metacarpiano de equinos**

São Paulo

2014

RODRIGO CRISPIM MOREIRA

Avaliação da resistência mecânica à compressão axial da poliuretana de mamona e quitosana associada a cimento de fosfato de cálcio no preenchimento de falhas ósseas do terceiro metacarpiano de equinos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. André Luis do Valle De Zoppa

São Paulo

2014

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2961
FMVZ

Moreira, Rodrigo Crispim

Avaliação da resistência mecânica à compressão axial da poliuretana de mamona e quitosana associada a cimento de fosfato de cálcio no preenchimento de falhas ósseas do terceiro metacarpiano de equinos / Rodrigo Crispim Moreira. -- 2014.
117 p. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2014.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. André Luis do Valle De Zoppa.

1. Biopolímeros. 2. Osso. 3. Poliuretana de mamona. 4. Quitosana. 5. Ensaio biomecânico.
I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação da resistência mecânica à compressão axial da poliuretana de mamona e da quitosana associada a cimento de fosfato de cálcio no preenchimento de falhas ósseas do terceiro metacarpiano de equinos", protocolado sob o nº 2219/2011, utilizando 20 (vinte) pares de ossos terceiro metacarpiano de cavalos, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. André Luís do Valle de Zoppa, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 22/6/2011.

We certify that the Research "Evaluation of axial compressive strength of castor oil polyurethane and chitosan associated with calcium phosphate cement in the filling of bone defects of the equine third metacarpal bone", protocol number 2219/2011, utilizing 20 (twenty) pairs of equine third metacarpal bone, under the responsibility Prof. Dr. André Luís do Valle de Zoppa, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 06/22/2011.

São Paulo, 5 de julho de 2011.

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fax: +55 11 3032-2224 / 3091-7757
fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

DEPARTAMENTO DE ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

Prof. Dr. Tarcísio E.P. Barros Filho
Prof. Dr. Olavo Pires de Camargo
Prof. Dr. Gilberto Luis Camanho

Memo/CC-DOT/88/2012

São Paulo, 30 de maio de 2012.

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. André Luis do Valle de Zoppa
Pesquisador Responsável

Ref: Protocolo de Pesquisa da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, intitulado "Avaliação da resistência mecânica à compressão axial da poliuretana de mamona e da quitosana associada a cimento de fosfato de cálcio no preenchimento de falhas ósseas do terceiro metacarpiano de eqüinos".

Pesquisador Executante: Dr. Rodrigo Crispim Moreira

A Comissão Científica do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo **analisou e aprovou** nesta data, a solicitação para desenvolver o protocolo de pesquisa acima citado, junto ao Laboratório de Investigação Médica do Sistema Músculo-Esquelético - LIM-41.

Atenciosamente,

Prof. Alberto Tesconi Croci
Presidente
Comissão Científica – DOT

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: MOREIRA, Rodrigo Crispim

Título: Avaliação da resistência mecânica à compressão axial da poliuretana de mamona e quitosana associada a cimento de fosfato de cálcio no preenchimento de falhas ósseas do terceiro metacarpiano de equinos.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. _____

Instituição: _____ **Julgamento:** _____

Prof. _____

Instituição: _____ **Julgamento:** _____

Prof. _____

Instituição: _____ **Julgamento:** _____

Prof. _____

Instituição: _____ **Julgamento:** _____

Prof. _____

Instituição: _____ **Julgamento:** _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Osmar Crispim Moreira e Izaura Milani Moreira que me deram exemplo e ensinamento, para me tornar uma pessoa batalhadora e focada em meus objetivos.

À minha noiva Eliana Roberta Tagliari que é uma pessoa maravilhosa, batalhadora e abdicou de procurar novas oportunidades de vida em prol de seguirmos nosso caminho sempre juntos.

AGRADECIMENTOS

Ao amigo e orientador Prof. Dr. André Luis do Valle De Zoppa, que desde a graduação, residência, mestrado e doutorado participa ativamente de tudo que aprendi.

Ao grande colega Dr. Cesar Augusto Martins, por ter cedido seu tempo e seu vasto conhecimento, de modo que sua participação foi fundamental para a realização desse trabalho.

Ao amigo Guilherme Maia Mulder Van De Graaf, por ter sido um grande parceiro ao longo da faculdade e ter me ajudado em todas as fases de realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Gilberto Chierice do Instituto de Química da Universidade de São Paulo no campus de São Carlos, por ter nos ajudado com um pouco de seu conhecimento e ter cedido gentilmente a poliuretana de mamona para que esse e outros trabalhos correlacionados pudessem ser realizados.

À Profa. Dra. Maria Gabriela Nogueira que participou ativamente da fase de desenvolvimento da quitosana associada ao cimento de fosfato de cálcio utilizada nesse trabalho

E à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por ter financiado e possibilitado a realização dessa pesquisa

RESUMO

MOREIRA, R. C. Avaliação da resistência mecânica à compressão axial da poliuretana de mamona e quitosana associada a cimento de fosfato de cálcio no preenchimento de falhas ósseas do terceiro metacarpiano de equinos. [Mechanical evaluation of strength of ricinus communis polyurethane and chitosan with calcium phosphate cement on filling of bone gap in equine third metacarpal bone]. 2014. 117 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Os equinos são animais que, quando adultos, apresentam elevado peso corpóreo e ossos bastante resistentes para sustentar esse peso. Dessa forma, para que ocorra fratura nos ossos do cavalo é necessário um trauma de elevada energia resultando em fraturas cominutivas, que podem formar falhas ósseas impedindo o contato entre os fragmentos ósseos, o que compromete a estabilidade e resistência da osteossíntese. Devido à complexidade desse tipo de fraturas e aos implantes disponíveis apresentarem baixa resistência para o uso nessa espécie e devido a seu comportamento, o tratamento de fraturas em equinos apresenta baixos índices de sucesso. Dessa maneira, o uso de um material osteocondutor com resistência mecânica para o preenchimento dessas falhas poderia elevar a resistência da osteossíntese, levando a melhores índices de sucesso na correção dessas fraturas. O presente estudo teve como objetivo a avaliação biomecânica em laboratório de dois biomateriais substitutos ósseos no preenchimento de falha óssea. Para isso foram utilizados 30 ossos terceiro metacarpiano de equinos que foram submetidos a osteossíntese com placa LCP em sua face dorsal e criada uma falha óssea transversal completa de um centímetro na diáfise média. Dez dessas peças foram submetidas a ensaios biomecânicos não destrutivos até a carga de 1000N, onde foram avaliadas a rigidez, as deformações da peça inteira, da placa e do osso individualmente em diferentes regiões. As outras 20 dessas peças foram submetidas a ensaios destrutivos, onde foram avaliadas a carga e deformação suportada no limite elástico e no ponto de ruptura. Dessa forma, pôde-se observar que houve aumento na rigidez de 699,39N/mm para 2905,38N/mm e 4274,93N/mm devido ao preenchimento da falha com poliuretana de mamona e quitosana, respectivamente. A peça inteira teve sua deformação diminuída de 1,73mm para 0,5mm e 0,35 com carga de 1000N, devido ao preenchimento da falha com poliuretana de mamona e quitosana, respectivamente. A placa teve sua deformação diminuída de 2260,64µd para 320,25µd pelo preenchimento da falha com poliuretana de mamona e para

89,88 μ d com o preenchimento com quitosana durante a aplicação de 1000N. O osso próximo à falha sofreu maiores deformações tanto com poliuretana de mamona quanto com quitosana, contudo não apresentou maiores deformações em região distante da falha. A peça inteira teve aumento da carga suportada em seu limite elástico de 1008N para 8804N apenas com o preenchimento da falha com quitosana. A peça inteira teve sua deformação diminuída de 1,64mm para 1,26 no limite elástico apenas devido ao preenchimento da falha poliuretana de mamona. A peça inteira teve aumento da força suportada no momento de ruptura de 1660N para 15187N e 11012N com o preenchimento da falha com poliuretana de mamona e quitosana, respectivamente. A peça inteira teve sua deformação máxima no ponto de ruptura diminuída de 5,4mm para 2,16mm apenas com o preenchimento da falha com quitosana.

Palavras-chave: Biopolímeros. Osso. Poliuretana de mamona. Quitosana. Ensaio biomecânico.

ABSTRACT

MOREIRA, R. C. **Mechanical evaluation of strength of ricinus communis polyurethane and chitosan with calcium phosphate cement on filling of bone gap in equine third metacarpal bone.** [Avaliação da resistência mecânica à compressão axial da poliuretana de mamona e quitosana associada a cimento de fosfato de cálcio no preenchimento de falhas ósseas do terceiro metacarpiano de equinos]. 2014. 117 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Adult horses are heavy animals equipped with bones strong enough to support their body weight. High energy trauma is required to produce comminuted fractures, where bone loss may prevent proper fracture reduction and compromise osteosynthesis resistance and stability. In horses, aside from behavioural issues, low success rates associated with comminuted fracture resolution may be due to the complexity of such fractures or the low resistance of bone implants. Therefore, osteoconductive biomaterials with good mechanical resistance would potentially benefit treatment outcomes. This *ex vivo* study evaluated the biomechanical behaviour of two bone surrogate biomaterials in experimental third metacarpal fractures in horses. Thirty equine third metacarpal bone specimens were submitted to dorsal LCP (locking compression plate) osteosynthesis following creation of a transverse 1 cm wide mid-diaphyseal defect. Defects were filled either with Ricinus communis polyurethane or calcium phosphate cement-chitosan composite. Ten specimens were submitted to non-destructive biomechanical testing under 1000N maximum load; construct stiffness, construct deformation and isolated deformation of LCP and third metacarpal bone in different regions were evaluated. The remaining 20 specimens were submitted to destructive biomechanical testing; maximum load and deformation within the elastic limit, and to failure were documented. Bone defect repair with RCP or CPC-chitosan composite increased construct stiffness from 699,39N/mm to 2905.38N/mm and 4274.93N/mm and decreased construct deformation under 1000N from 1.73mm to 0,5mm and 0.35 respectively. LCP deformation under 1000N decreased from 2260.64µd to 320.25µd and from 2260.64µd to 89.88µd following filling of the bone defect with RCP or CPC-chitosan composite respectively. Bone deformation around the defect increased following treatment with RCP or CPC-chitosan composite. However bone deformation away from the defect remained unchanged. Maximum load within the elastic limit increased from 1008N to 8804N

when the experimental defect was filled with chitosan composite. Conversely, construct deformation within the elastic limit decreased from 1.64mm to 1.26mm following treatment with RCP. Maximum load to construct failure increased from 1660N to 15187N and 11012N following bone defect repair with RCP or calcium phosphate cement-chitosan composite respectively. However, construct maximum deformation decreased from 5.4mm to 2.16mm when calcium phosphate cement-chitosan composite was used.

Key words: Biopolymers. Bone. Ricinus communis polyurethane. Chitosan. Biomechanical assay.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Ilustração do comportamento de placas DCP e LCP à flexão.....	28
Figura 2 -	Ilustração do comportamento de placas DCP e LCP à compressão axial.	28
Figura 3 -	Ilustração de gráfico carga x deformação	45
Figura 4 -	Chave utilizada para o posicionamento da placa no osso	48
Figura 5 -	Preparo da falha óssea	49
Figura 6 -	Preparação da poliuretana de mamona	50
Figura 7 -	Molde cilíndrico de teflon com 6cm de diâmetro interno utilizado na confecção da poliuretana de mamona	51
Figura 8 -	Poliuretana sendo desgastada para encaixe à falha óssea.	52
Figura 9 -	Primeira fase de preparo da quitosana	53
Figura 10 -	Segunda fase de preparo da quitosana	54
Figura 11 -	Terceira fase de preparo da quitosana	55
Figura 12 -	Quitosana preparada e pronta para ser colocada em estufa	55
Figura 13 -	Ilustração do dispositivo utilizado para a fixação do osso com a placa e a falha óssea, à máquina de ensaios biomecânicos	57
Figura 14 -	Gráfico Força (N) x Deformação (mm) referente a ensaio piloto destrutivo sem preenchimento da falha óssea	58

Figura 15 - Vista dorsal de peça posicionada na máquina de ensaios biomecânicos com os extensômetros aderidos	60
Figura 16 - Vista caudal de peça posicionada na máquina de ensaios biomecânicos com os extensômetros aderidos	61
Figura 17 - Imagem ilustrativa das deformações ocorridas após a aplicação de uma carga	62
Figura18 - Imagem ilustrativa de diferente situação de deformações ocorridas após a aplicação de uma carga	62
Figura 19 Ilustração da região onde se calcula a rigidez no gráfico carga x deformação.....	64
Figura 20 - Peça anatômica submetida a ensaio destrutivo	65
Figura 21 - Gráfico explicativo do método de Johnson para determinação do limite elástico	67
Figura 22 - Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da carga mensurada pela célula de carga em cada peça	71
Figura 23 - Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da deformação mensurada pela maquina de ensaios biomecânicos em cada peça	74
Figura 24 - Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da deformação da placa mensurada por extensômetros uniaxiais aderidos ao ponto médio da placa em cada peça	77

Figura 25 - Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da deformação mensurada por extensômetros triaxiais aderidos à superfície medial do fragmento distal em cada peça	80
Figura 26 - Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da deformação mensurada por extensômetros triaxiais aderidos à superfície lateral do fragmento distal em cada peça	83
Figura 27 - Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da deformação mensurada por extensômetros triaxiais aderidos à superfície palmar do fragmento distal em cada peça	86
Figura 28 - Gráficos de pontos ilustrando a rigidez das peças em cada grupo	89
Figura 29 - Gráficos dos valores individuais da área de corte por grupo experimental (dotplot), e de Intervalo de confiança de 95% para desvio padrão	93
Figura 30 - Gráficos dos valores individuais da área de corte por grupo experimental (dotplot), após descarte das peças 13D e 13E, e dos Intervalos de confiança de 95% para desvio padrão	93

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Valores médios de deformação da peça anatômica em cada grupo ...	75
Gráfico 2 -	Gráfico de coluna ilustrando a média da deformação da placa mensurada por extensômetros uniaxiais aderidos ao ponto médio da placa em cada grupo	78
Gráfico 3 -	Deformação aferida pelo extensômetro triaxial aderido à superfície medial do fragmento distal durante o ensaio não destrutivo quando a carga compressiva chegou ao valor máximo de 1000N	81
Gráfico 4 -	Deformação aferida pelo extensômetro triaxial aderido à superfície lateral do fragmento distal durante o ensaio não destrutivo quando a carga compressiva chegou ao valor máximo de 1000N	84
Gráfico 5 -	Deformação aferida pelo extensômetro triaxial aderido à superfície palmar do fragmento distal durante o ensaio não destrutivo quando a carga compressiva chegou ao valor máximo de 1000N.....	89
Gráfico 6 -	Gráfico de coluna ilustrando a média da rigidez média de cada grupo.	90
Gráfico 7 -	Força avaliada no limite elástico.....	94
Gráfico 8 -	Deformação avaliada no limite elástico.....	96
Gráfico 9 -	Força avaliada no ponto de ruptura.....	98
Gráfico 10 -	Deformação avaliada no ponto de ruptura.....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Resultados estatísticos referentes aos testes compressivos com carga máxima de 1000N por peça em cada grupo	70
Tabela 2 -	Resultados estatísticos para o teste da exatidão em cada grupo	72
Tabela 3 -	Resultados estatísticos de deformação da peça (mm) em cada grupo	73
Tabela 4 -	Resultados da comparação entre grupos para deformação da peça (mm) pela ANOVA com dois fatores	75
Tabela 5 -	Resultados estatísticos referentes à deformação da placa (mm) em cada grupo	76
Tabela 6 -	Resultados da comparação entre grupos para deformação da placa (mm) pela ANOVA com dois fatores	78
Tabela 7 -	Resultados estatísticos referentes à deformação do osso na roseta medial (μ d) para cada grupo	79
Tabela 8 -	Resultados da comparação entre grupos para roseta medial (μ d) pela ANOVA com dois fatores	81
Tabela 9 -	Resultados estatísticos referentes à deformação do osso na roseta lateral (μ d) para cada grupo	82
Tabela 10 -	Resultados da comparação entre grupos para roseta lateral (μ d) pela ANOVA com dois fatores	84
Tabela 11 -	Resultados estatísticos referentes à deformação do osso na roseta palmar (μ d) para cada grupo	85

Tabela 12 - Resultados da comparação entre grupos para roseta palmar (μ d) pela ANOVA com dois fatores	86
Tabela 13 - Resultados estatísticos referentes à rigidez (N/mm) para cada Grupo 88	
Tabela 14 - Resultados da comparação entre grupos para rigidez (N/mm) pela ANOVA com dois fatores	90
Tabela 15 - Medidas de dispersão relativas à área de corte nos três grupos experimentais.....	92
Tabela 16 - Medidas de dispersão relativas à área de corte nos três grupos experimentais após descarte das peças 13D e 13E	92
Tabela 17 - Valores da mediana, mínimo e máximo para FLE (N) em cada grupo e valor P relativo ao teste de Kruskal-Wallis.....	95
Tabela 18 - Evidências decorrentes das comparações múltiplas para dados de FLE	95
Tabela 19 - Valores da mediana, mínimo e máximo para DLE (mm) em cada grupo e valor P relativo ao teste de Kruskal-Wallis.....	97
Tabela 20 - Evidências decorrentes das comparações múltiplas para dados de DLE	97
Tabela 21 - Valores da mediana, mínimo e máximo para Fmax (N) em cada grupo e valor P relativo ao teste de Kruskal-Wallis.....	98
Tabela 22 - Evidências decorrentes das comparações múltiplas para dados de Fmax	98
Tabela 23 - Valores da mediana, mínimo e máximo para Dmax em cada grupo e valor P relativo ao teste de Kruskal-Wallis	100

Tabela 24 - Evidências decorrentes das comparações múltiplas para dados de Dmax..... 100

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ANOVA Two-way	Análise de variância com dois fatores
CV	Coeficiente de variância
BMP	Proteína morfogenética óssea
D-C	Grupo controle do ensaio destrutivo
D-M	Grupo mamona do ensaio destrutivo
D-Q	Grupo quitosana do ensaio destrutivo
DLE	Deformação no limite elástico
Dmáx.	Deformação máxima no momento de ruptura
FLE	Força no limite elástico
Fmáx.	Força máxima no momento de ruptura
IC	Intervalo de confiança
LC-DCP	Low contact compression plate
LCP	Placa bloqueada
Min.	Minuto
ND-C	Grupo controle do ensaio não destrutivo
ND-M	Grupo mamona do ensaio não destrutivo
ND-Q	Grupo quitosana do ensaio não destrutivo
pH	Potencial hidrogênio – mede o grau de acidez
PRP	Plasma rico em plaquetass

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
ϵ	Deformação relativa
®	Marca registrada
μm	Micrômetro
$\epsilon_{\text{máx}}$	Deformação relativa máxima
ϵ_{min}	Deformação relativa mínima
R	Rigidêz
ΔF	Variação de força
Δd	Variação de deslocamento
Nº	Número
<	Menor
μm	Micrometro
°C	Graus Celsius
Cm	Centímetro
Mm	Milímetro
N	Newton
Nm	Nanômetro
Kg	Kilograma
P	Nível de significância
S	Desvio padrão
S ²	Variância
A	Amplitude
>	Maior

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
2	OBJETIVOS.....	25
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	26
3.1	OSTEOSSÍNTESE EM OSSOS LONGOS NOS EQUINOS	26
3.2	FALHAS ÓSSEAS.....	30
3.3	ENXERTOS ÓSSEOS.....	31
3.4	ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA.....	33
3.5	BIOMATERIAIS E FUNÇÕES DOS SCAFFOLD	34
3.6	SCAFFOLD UTILIZADOS EM ORTOPEDIA.....	35
3.6.1	Quitosana.....	36
3.6.2	Poliuretana de mamona.....	39
3.7	ENSAIOS BIOMECANICOS	43
4	MATERIAL E MÉTODO.....	47
4.1	PREPARO E COLETA DAS AMOSTRAS.....	47
4.1.1	Poliuretana de mamona.....	49
4.1.2	Quitosana.....	52
4.2	ENSAIOS NÃO DESTRUTIVOS.....	56
4.2.1	Coleta de dados.....	59
4.3	ENSAIO DESTRUTIVO.....	65
4.3.1	Coleta de dados.....	67
4.4	AVALIAÇÃO DOS DADOS.....	68
5	RESULTADOS.....	69
5.1	ENSAIOS NÃO DESTRUTIVOS	69
5.1.1	Carga máxima	70
5.1.2	Deformação máxima	72
5.1.3	Intensidade da deformação da placa por extensômetros uniaxiais	76
5.1.4	Intensidade e direção da deformação do osso por extensômetro triaxial aderido a superfície medial do fragmento distal do osso	79

5.1.5	Intensidade e direção da deformação do osso por extensômetro triaxial (roseta) aderido a superfície lateral do fragmento distal do osso	82
5.1.6	Intensidade e direção da deformação do osso por extensômetro triaxial aderido a superfície palmar do fragmento distal do osso	85
5.1.7	Rigidez	87
5.2	ENSAIOS DESTRUTIVOS	91
5.2.1	Homogeneidade entre os grupos	91
5.2.2	Força e deformação no Limite elástico	93
5.2.2.1	Força no limite elástico (FLE)	94
5.2.2.2	Deformação no limite elástico (DLE)	95
5.2.3	Força e deformação máximas	97
5.2.3.1	Força máxima no ponto de ruptura (Fmax)	97
5.2.3.2	Deformação máxima no ponto de ruptura (Fmax)	99
6	DISCUSSÃO.....	101
6.1	METODOLOGIA.....	101
6.2	ENSAIOS NÃO DESTRUTIVOS	103
6.2.1	Validação do método de ensaios não destrutivos	103
6.2.2	Deformações observadas	104
6.3	ENSAIOS DESTRUTIVOS	106
6.3.1	Limite elástico	106
6.3.2	Fase de deformação plástica	108
7	CONCLUSÕES.....	112
	REFERENCIAS	113

1 INTRODUÇÃO

O tratamento de fraturas nos membros locomotores de equinos, especialmente animais adultos, representa um grande desafio para os Médicos Veterinários em todo o mundo. Os baixos índices de sucesso no tratamento de fraturas em equinos estão diretamente relacionados ao peso, anatomia e comportamento desses animais (MARKEL et al., 1996; LOPEZ; MARKEL, 2012).

Malta et al. (2008) observaram que cerca de 8% dos animais de grande porte atendidos na clínica de grandes animais do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, nos anos de 2006 e 2007, apresentavam fraturas em membros locomotores, e que cerca de 18% de todos os animais que vieram a óbito ou foram eutanasiados apresentavam esse tipo de enfermidade. Esses dados indicam que 30% dos animais que apresentaram fraturas em membros locomotores vieram a óbito ou foram eutanasiados.

Pierezan et al. (2009) estudando os achados de necropsia relacionados com a morte de 335 equinos, entre 1968 e 2007, observaram que as fraturas representaram a causa morte de aproximadamente 50% dos animais que vieram a óbito ou foram eutanasiados por enfermidades do aparelho locomotor.

O osso terceiro metacarpiano, devido a sua localização anatômica e por ser pouco protegido, devido à escassa quantidade de tecidos circunjacentes, é alvo constante de traumas que levam a fraturas (BERTONE, 2006).

Verheyen et al. (2004) avaliando 148 cavalos de corrida em treinamento observaram que as fraturas de terceiro metacarpiano representaram cerca de 20% dos casos de fraturas em membros locomotores desses animais.

Em potros, as fraturas diafisárias de terceiro metacarpiano, mais encontradas, são as transversas e oblíquas, já nos cavalos adultos normalmente ocorrem fraturas cominutivas (MARKEL, 1996).

Nos equinos adultos, os ossos têm grande resistência para poder sustentar seu peso corporal e, por isso, para que ocorra fratura nesses tecidos é necessário que haja aplicação de grande quantidade de energia, que normalmente resulta em fraturas cominutivas, podendo formar o que chamamos de falha óssea. As falhas ósseas podem ser formadas também por ressecções cirúrgicas, mas nos equinos, mais comumente é causada por traumas de elevada transmissão de energia. Esse

tipo de fratura dificulta a transmissão de forças entre os fragmentos através do foco da fratura, o que sobrecarrega os implantes ortopédicos, que muitas vezes não apresentam resistência suficiente para fornecer estabilidade nos membros acometidos em animais de grande porte (MARKEL, 1996; NIXON, 1996).

Bischofberger et al. (2009) após realização de um estudo retrospectivo dos casos de fraturas em ossos longos, que foram tratadas cirurgicamente na Universidade de Zurique de 1992 a 2005, observaram que 80% dos equinos adultos apresentavam algum grau de lesão de pele e 70% foram eutanasiados após instabilidade no implante ortopédico.

Segundo Khan (2008), muitas pesquisas se destinam ao desenvolvimento de tecidos para substituição de tecidos perdidos por traumas, enfermidades ou ressecções cirúrgicas. Esses estudos representam uma área da ciência conhecida como bioengenharia, que baseia-se na utilização de células cultivadas, fatores indutores e matrizes para o desenvolvimento dessas células, formando, assim um novo tecido. Na ortopedia, essas matrizes devem ser capazes de preencher falhas ósseas e apresentar características mecânicas semelhantes ao tecido ósseo, permitindo que o tecido ósseo seja formado na medida em que esse material é degradado. Dessa forma, o desenvolvimento de biomateriais com capacidade de preencher falhas ósseas, criadas pelas fraturas cominutivas, e com resistência mecânica auxiliaria na estabilização destas lesões em equinos e, auxiliaria também, à futuras pesquisas com o uso de células e fatores indutores, de modo a melhorar os índices de sucesso que ainda são insatisfatórios

2 OBJETIVOS

Objetivo geral: Avaliar por meio de estudo biomecânico a influência do preenchimento de falhas ósseas, com biomateriais, no osso terceiro metacarpiano submetido a osteossíntese com placa e parafusos bloqueados (LCP).

Objetivos específicos:

- Determinar o benefício do preenchimento de falha óssea, com biomateriais, no que se refere ao conjunto implante ortopédico/biomaterial/osso, considerando resistência mecânica, rigidez e atenuação de cargas sobre o implante metálico.
- Determinar as propriedades biomecânicas do preenchimento de falhas com os diferentes biomateriais testados e, baseando-se nessas propriedades, sugerir qual biomaterial traria maior benefício para a aplicação clínica.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 OSTEOSINTESE EM OSSOS LONGOS NOS EQUINOS

As fraturas são lesões diagnosticadas em equinos de todas as idades, e são encontradas em praticamente todos os ossos. Assim como na medicina humana, os esquemas de classificação de fraturas permitem o agrupamento dos diversos tipos de fratura, de modo que possa ser avaliada de maneira mais criteriosa as possíveis complicações e os melhores métodos de tratamento (NIXON, 1996).

Os princípios de tratamento de fraturas em equinos seguem os mesmos princípios básicos do tratamento de fraturas em humanos e pequenos animais, contudo existem algumas diferenças que devem ser consideradas, devido ao elevado peso e ao comportamento dessa espécie (AUER, 2012).

A coaptação externa, com gessos ou talas, representa uma alternativa barata para o tratamento de fraturas, contudo apresenta diversas complicações e limitações que dificultam e até inviabilizam seu uso em determinados tipos de fratura em animais de grande porte. Esse tipo de tratamento conservativo não estabiliza adequadamente a fratura, podendo levar a mau alinhamento e a demora na consolidação óssea. Além dessas limitações, a coaptação externa pode causar feridas pelo contato e demora no retorno à função do membro, devido às alterações osteoarticulares e musculotendíneas causadas pelo longo tempo de imobilização e, por isso, são mais utilizadas como imobilização temporária para o encaminhamento do paciente do campo até os hospitais ou clínicas veterinárias (NIXON, 1996; AUER, 2012).

Considerando a tendência dos equinos adultos a apresentarem fraturas de elevada transmissão de energia, que resultam em cominuição e exposição, o uso de fixadores externos traria consideráveis benefícios, já que causam pouca lesão de tecidos moles durante sua implantação, utilizam menor quantidade de implante em contato com o paciente e permitem o manejo da ferida. Contudo, os fixadores externos apresentam baixa resistência biomecânica para o uso em animais de grande porte, limitando o seu uso (NIXON, 1996; AUER, 2012).

Cervantes et al. (1996) avaliaram a resistência mecânica de fixadores externos circulares com quatro anéis e diferentes espessuras de pinos e concluíram que nem mesmo o fixador com pinos de 6mm (o mais espesso testado) seria capaz de suportar as cargas necessárias para estabilizar o membro em uma fratura instável de osso terceiro metacarpiano, em um equino com 450kg.

O uso de fixação interna rígida com placas e parafusos em equinos, possibilita a reconstrução anatômica do osso fraturado e apresenta maior resistência biomecânica para suportar o peso desses animais (NUNAMAKER, 1999).

As placas de compressão dinâmica (DCP) foram consideradas as placas básicas para a osteossíntese de equinos, por muito tempo. Criada na década de 50, as placas DCP possibilitam a fixação rígida e a compressão entre os fragmentos, o que permite a consolidação primária das fraturas e grande resistência biomecânica. Contudo, para que apresente resistência e estabilidade, necessita intenso contato entre os fragmentos ósseos e entre as superfícies da placa e do osso (MICLAU; MARTIN, 1997; AUER, 2012).

A presença de espaço entre os fragmentos ósseos compromete a estabilidade do sistema de fixação com placas DCP, pois resulta na ocorrência de cargas cíclicas que desestabilizam o conjunto membro/implante metálico, já que é dependente do contato entre os fragmentos. Outro fator que compromete a estabilidade é o torque excessivo dos parafusos, que leva à intensa compressão da placa na superfície óssea. Essa compressão excessiva compromete a irrigação do tecido ósseo, levando à necrose, que pode predispor à ocorrência de infecção com lise óssea e perda da estabilidade da placa (EGOL et al., 2004).

Para evitar essa última complicação, foi criada a placa compressiva de contato limitado (LC-DCP), que apresenta as mesmas características das placas DCP, mas com diminuição de 50% da área de contato com o osso (MICLAU; MARTIN, 1997; AUER, 2012).

Na década de 2000, foram criadas as placas compressivas bloqueadas (LCP), que, além de possibilitarem a compressão dos fragmentos da fratura, apresentam rosca em seus orifícios e na cabeça dos parafusos, fixando-os à placa. Dessa forma, a resistência da placa bloqueada não depende do contato entre os fragmentos, nem do contato entre a placa e a superfície óssea. Por não apresentarem movimentação entre si, os parafusos e a placa se comportam como uma estrutura única e, quando

sofrem cargas de diferentes padrões, não se desestabilizam e oferecem maior resistência à osteossíntese, como ilustrado nas figuras 1 e 2 (EGOL et al., 2004).

Figura 1 - Ilustração do comportamento de placas DCP e LCP à flexão

Fonte: (EGOL et al., 2004)

Legenda: Ilustração de carga de flexão aplicada à placa com tendência a soltura do implante. Considerando que para que ocorra a soltura a tensão aplicada ($\text{Tensão} = \text{carga} / \text{área}$) deve ser superior a resistência do tecido ósseo. Em A: os parafusos não são fixos na placa de modo que para que o implante seja solto, a carga é suportada apenas pela aderência da rosca do parafuso em contato com o osso, tornando uma tensão elevada. Em B: os parafusos estão com a cabeça fixa à placa, de modo que para que o implante seja solto a carga é suportada por toda superfície do parafuso, sendo a tensão mais baixa

Figura 2 - Ilustração do comportamento de placas DCP e LCP à compressão axial

Fonte: (EGOL et al., 2004)

Legenda: Ilustração de carga de compressão axial aplicada ao osso com tendência a soltura do implante. Considerando que para que ocorra a soltura a tensão aplicada ($\text{Tensão} = \text{carga} / \text{área}$) deve ser superior a resistência do tecido ósseo. Em A: os parafusos não são fixos na placa de modo que durante a aplicação de carga a tensão é distribuída de maneira não uniforme ao longo dos parafusos, o que sobrecarrega a região próxima à placa facilitando a soltura dos parafusos. Em B: os parafusos estão com a cabeça fixa à placa de modo que durante a aplicação de carga a tensão é distribuída de maneira uniforme ao longo dos parafusos, não sobrecarregando a região próxima à placa, o que dificulta a soltura dos parafusos.

Sod et al. (2008) compararam, em laboratório, a resistência mecânica de placas LCP e LC-DCP na fixação de fratura transversa em diáfise de osso terceiro metacarpiano. Para tanto, fixaram em cada osso, uma placa na superfície dorsal e submeteram a ensaios biomecânicos de flexão em quatro pontos simples, flexão em quatro pontos cíclica, e torção. Após avaliação dos resultados, concluíram que as placas LCP resistiram à cargas superiores quando comparadas à LC-DCP em todos os parâmetros avaliados.

Florin et al. (2005) compararam as propriedades mecânicas do uso de duas placas DCP, duas placas LC-DCP e duas placas LCP posicionadas de modo ortogonal na fixação de fraturas, utilizando modelos ósseos submetidos à flexão em quatro pontos. Concluíram, que o uso de placas LCP foi superior às outras placas com relação à resistência até que se iniciassem deformações permanentes no conjunto modelo/placas.

Levine e Richardson (2007) avaliaram o uso clínico de placas LCP em cavalos, entre os anos de 2004 e 2006. Nesse período foram atendidos 31 equinos onde foram realizadas osteossíntese de olécrano (2), terceiro metatarsiano (2), íleo (1), fêmur (2), rádio (2), côndilo de terceiro metacarpiano (6), e artrodese das articulações interfalangeana proximal (8) e carpo (2). Desses 31 animais, 27 (87%) receberam alta do hospital, contudo após 25 meses obtiveram informações de apenas 25 (80%), sendo que desses animais, 5 (6%) foram submetidos a eutanásia devido à enfermidade a que foram tratados. Dessa forma, obtiveram sucesso no tratamento em pelo menos 20 animais, o que representa aproximadamente 64% dos animais tratados.

Segundo Richardson (2007), por não necessitarem de intenso contato com a superfície óssea, as placas LCP podem ser implantadas, tanto para osteossíntese quanto para artrodeses, de modo minimamente invasivo, com pequenas incisões, por onde a placa e os parafusos são introduzidos. O mesmo autor ressalta que, para evitar erros na implantação com esse método, são necessários meios de diagnóstico por imagem durante o procedimento cirúrgico.

Com o advento das placas LCP, a fixação biológica de fraturas, vem se tornando popular na medicina humana e de pequenos animais. Esse conceito de fixação de fraturas abandona o dogma de reconstrução anatômica e aceita apenas o alinhamento axial e rotacional do membro com o uso de longas placas, inseridas de modo minimamente invasivo, fixadas ao osso com apenas alguns parafusos. Devido à grande demanda biomecânica dos animais de grande porte, esse método apresenta riscos quanto a seu uso em equinos (AUER, 2012).

3.2 FALHAS ÓSSEAS

A consolidação de fraturas é um processo fisiológico que resulta na união óssea, contudo, segundo Calori et al. (2011), cerca de 5 a 10% das fraturas na Medicina Humana não consolidam adequadamente, evoluindo para união retardada ou não união óssea.

Segundo Schmaedecke et al. (2003) as uniões retardadas ou não uniões ósseas podem ocorrer devido à fatores relacionados ao paciente, tais como: idade, estado nutricional, configuração e local da fratura, presença de doenças metabólicas concomitantes e infecção, administração de fármacos e grau de acometimento de tecidos moles adjacentes; e também à violações aos princípios da cirurgia ortopédica que resultam em, intervalos muito grandes entre as extremidades da fratura e o uso de método de fixação inadequada, ocasionando instabilidade da fratura, que impedem a anastomose da vascularização intramedular, vascularização do calo mole e formação do calo ósseo.

Ainda segundo Schmaedecke et al. (2003), o tratamento das não uniões ósseas depende da identificação da causa primária e eliminá-la, determinando se a anormalidade está no ambiente biológico ou mecânico, ou em ambos. Dessa forma, deve-se estabilizar a fratura, promover a revascularização e estimular a formação óssea. Deve-se também remover os elementos que não estão contribuindo para a fixação, como implantes instáveis ou não funcionais, além de reavivar os tecidos envolvidos e eliminar os focos de infecção.

Nesse sentido, as falhas ósseas tornam-se um grande desafio para a ortopedia devido à grande distância entre os fragmentos ósseos. As falhas ósseas podem resultar de traumas com elevada transmissão de energia, causando fraturas cominutivas e ainda oriundas de ressecções ósseas devido a tumores. Nos equinos, devido a seu peso corpóreo, sua finalidade e devido a baixa ocorrência de tumores ósseos, o maior desafio são as falhas ósseas causadas pelas fraturas cominutivas (PRIESTER et al., 1971; MARKEL et al., 1996; CALORI et al., 2011).

A presença dessas falhas dificulta a estabilidade e a resistência da osteossíntese. Oh et al. (2010) avaliaram biomecanicamente o efeito da distância entre fragmentos ósseos e a extensão de falhas ósseas na resistência de osteossíntese com placas compressivas de baixo contato (LC-DCP). Para tanto,

utilizaram modelos ósseos, onde foram implantadas placas e criadas falhas transversais de 1 e 4mm se estendendo a 25, 50, 75 e 100% da espessura óssea, que foram submetidos a ensaios de compressão, tração e flexão. Observaram que o fator que mais influenciou na perda de resistência é a extensão da falha e não a distância entre os fragmentos, e recomendaram precaução extra, caso a falha se estenda mais que 50% da espessura do osso.

Para o tratamento de grandes falhas ósseas pode ser necessário o uso de enxertos ósseos, que atuam no preenchimento dessas falhas e, também, auxiliam na consolidação delas (CALORI et al., 2011).

3.3 ENXERTOS ÓSSEOS

Segundo Auer et al. (2012), os enxertos ósseos podem ser classificados como enxertos biológicos frescos, os quais são transplantados imediatamente do sítio doador para o sítio receptor, sem necessidade de tratamento prévio; enxertos biológicos conservados, que necessitam de tratamento para posterior enxertia e; enxertos sintéticos. Os enxertos podem, também ser categorizados de acordo com sua origem em: enxertos autogênicos, oriundos do próprio paciente; enxertos alogênicos, oriundos de diferentes indivíduos da mesma espécie; e enxertos xenogênicos, oriundos de indivíduos e espécies diferentes.

As propriedades biológicas dos enxertos ósseos são definidas com relação a sua atividade biológica local. A osteoindutividade é a capacidade do enxerto induzir a produção de tecido ósseo no local onde é enxertado, e a osteocondutividade é a capacidade que o enxerto possui de permitir a infiltração e colonização de células provenientes de tecido ósseo local em seu próprio material, e também de vasos sanguíneos que vão nutrir essas células (CALORI et al., 2011).

A consolidação após o enxerto ósseo depende de alguns fatores, tais como: o leito receptor, a viabilidade do enxerto, o volume do enxerto ósseo, a presença de fatores de crescimento e o metabolismo do paciente (AUER et al., 2012).

Os enxertos ósseos autogênicos (ou autólogos) representam o “padrão ouro” dos enxertos, pois propiciam ao foco da fratura, mínima reação imunológica, histocompatibilidade, propriedades osteoindutoras e osteocondutoras. Esses

enxertos contém células viáveis, matriz óssea e proteínas que dão suporte ao crescimento ósseo (NANDI et al., 2009; CALORI et al., 2011).

Os enxertos autólogos podem ser provenientes de osso compacto ou trabecular. O enxerto de osso trabecular é considerado mais osteogênico que o osso compacto, pois possibilita maior difusão de nutrientes e infiltração de células, contudo não fornece suporte mecânico à fratura (NANDI et al., 2009).

Nos equinos, os principais locais de coleta de enxertos ósseos esponjosos são: tuberosidade coxal, os ossos esterno, úmero e tíbia (AUER et al., 2012).

McDuffe et al. (2006) observaram que há diferenças quanto a capacidade de neoformação óssea entre enxertos coletados em diferentes regiões do mesmo doador, de modo que as células ósseas coletadas de enxertos corticais se mostraram mais efetivas na formação de tecido ósseo em meio de cultura. Observaram também que as células coletadas à partir de osso trabecular da epífise do rádio são mais efetivas quanto à capacidade de neoformação óssea que as coletadas a partir de osso trabecular da tíbia.

Apesar de os enxertos autólogos apresentarem bons resultados, eles apresentam limitações relacionadas à quantidade de material possível de ser coletado e à morbidade devido a coleta no próprio paciente (CALORI et al., 2011).

As limitações associadas aos autoenxertos, podem ser evitadas com o uso dos aloenxertos (alogênicos), que são normalmente provenientes de cadáveres e armazenados em bancos de ossos. Os aloenxertos possuem osteocondutividade e osteoindutividade devido a presença de fatores de crescimento, contudo a falta de células viáveis diminui seu potencial osteogênico. Por não serem provenientes do próprio paciente, os enxertos alogênicos têm potencial de transmissão de doenças e de causar reações imunológicas. Os principais métodos de conservação para os aloenxertos são o congelamento simples, a desidratação por congelamento, radiação e descalcificação. (NANDI et al., 2009; CALORI et al., 2011; AUER et al. 2012). Outros métodos de conservação também podem ser utilizados, como liofilização, imersão em glicerina 98%, açúcar cristal, iodo 2% e mel (FERREIRA, 2008).

Ferreira (2008) comparou o enxerto ósseo cortical autógeno com o alógeno conservado por liofilização, congelamento ou mel, no preenchimento de falhas ósseas em fêmur de gatos domésticos. Observou que a liofilização atrasou a consolidação óssea quando comparada com os outros métodos de conservação.

Galia et al. (2005) compararam a consolidação de falhas ósseas em fêmur de ratos após o enxerto alógeno e xenógeno (proveniente de pacientes humanos) submetidos a congelamento e liofilização. Observaram que não houve diferenças quanto à reação inflamatória, bem como, com relação ao tempo de consolidação independentemente da origem e do método de conservação.

Devido as limitações e possíveis problemas associados aos autoenxertos e aos aloenxertos, vem crescendo o interesse em materiais sintéticos para substituição de tecido ósseo, assim como os enxertos cerâmicos e os poliméricos (CALORI et al., 2011).

3.4 ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA

A engenharia tecidual é a ciência que desenvolve novos tecidos para a restauração funcional de órgãos debilitados ou para a substituição de perdas teciduais devido a doenças, traumas ou tumores (REDDI, 2000).

Para o desenvolvimento de tecidos funcionais, é necessária a utilização de três conceitos fundamentais, que formam a base da engenharia tecidual: células tronco, sinais indutivos e matriz extracelular (também conhecida como *Scaffold*) (REDDI, 2000).

As células tronco são células precursoras que possuem a capacidade de diferenciação e auto-renovação ilimitadas, podendo dar origem a uma variedade de tipos teciduais. Levando-se em consideração algumas distinções, como o nível de plasticidade que estas células possuem, quantas diferentes vias podem seguir, e para qual porção de um organismo funcional elas podem contribuir, as células-tronco classificam-se em totipotentes, pluripotentes e multipotentes. As células-tronco estão presentes no embrião, quando são designadas células-tronco embrionárias, mas podem também ser encontradas em tecidos adultos, originando as células-tronco adultas (SOUZA et al., 2003)

Os sinais indutivos são diversos mediadores que induzem o metabolismo das células tronco no local a se multiplicarem e se diferenciarem, formando, assim, o tecido ósseo para a reparação da lesão (DIMITRIOU, 2011).

As matrizes extracelulares, também conhecidas como *Scaffold*, são um suporte biológico ou sintético, que proporciona o microambiente, onde as células tronco e os sinais indutivos são introduzidos, de modo a formarem estruturas funcionalmente similares ao tecido original (OLSSON et al., 2008).

3.5 BIOMATERIAIS E FUNÇÕES DOS SCAFFOLD

As matrizes não devem apenas preencher espaços, mas sim estar associadas a uma resposta biológica específica disparada por sinais, que incluem: correntes elétricas, conformação molecular, estado de agregação ou propriedades físico-químicas, que quando em contato com células cultivadas ou *in natura* permitem a permeação de nutrientes e incorporação de tecido receptor. Além disso, esse arcabouço deve sustentar o crescimento celular por apresentar propriedades mecânicas condizentes em relação ao tecido a ser constituído, induzir respostas celulares mais rápidas ou ainda possuir intrinsecamente propriedades diretamente relacionadas com a remodelagem do tecido, como ocorre no tecido ósseo em relação às propriedades elétricas do novo material (OLSSON et al., 2008).

A maioria dos materiais biológicos é mais apropriado para a engenharia de tecidos quando comparados aos materiais sintéticos, porque estes são mais compatíveis com o ambiente natural dos tecidos. A estrutura do arcabouço deve possuir alguns fatores considerados desejáveis: possuir unidades moleculares que possibilitem uma taxa controlada de biodegradação; superfície que permita adesão, crescimento e diferenciação celular; nenhum componente ou subproduto de sua degradação deve provocar reações inflamatórias ou tóxicas; apresentar estrutura tridimensional; a porosidade deve proporcionar elevada área de superfície para interação célula-arcabouço permitindo revascularização *in vivo*; e suportar as cargas mecânicas submetidas normalmente ao local implantado; além de ser esterilizável sem perder suas características. A porosidade dos arcabouços influencia o

desenvolvimento das células e a funcionalidade dos tecidos formados *in vitro* (OLIVER et al., 2004; OLSSON et al., 2008; LARANJEIRA; DE FÁVERE, 2009).

Muitos fatores influenciam a taxa de degradação dos *scaffolds* e a resposta inflamatória entre eles e o local do implante, como sua composição química, a cristalinidade, a morfologia, o tamanho, a porosidade, a carga elétrica da superfície, o pH e a presença de aditivos no implante. Na enxertia são avaliados a vascularização e a neovascularização, a qual serve de fonte de nutrientes para o processo cicatricial (OLSSON et al., 2008).

Os termos biodegradação, bioabsorção e bioreabsorção são distintos: o primeiro refere-se a implantes degradados e dispersos, sem serem eliminados pelo organismo; o segundo refere-se a implantes dissolvidos pelo organismo sem degradação de sua estrutura molecular; já terceiro refere-se a implantes degradados e eliminados pelas vias metabólicas (OLSSON et al., 2008).

3.6 SCAFFOLD UTILIZADO EM ORTOPEDIA

Ao contrário dos outros tecidos, as pesquisas em engenharia tecidual óssea focalizaram nos estudos *in vitro*. Muitos pesquisadores estudam a cultura de células tronco coletadas de diferentes locais e semeadas em diferentes *scaffolds* (REYES et al., 2001; PARTRIDGE et al., 2002; ALHADLAQ; MAO, 2004; MEINEL et al., 2004; IM et al., 2005; VIDAL et al., 2006).

Os materiais para enxerto ósseo podem ser osteogênicos ou osteocondutores. O enxerto osteogênico induz a formação de osso diretamente a partir dos osteoblastos ou células precursoras, no local de implante ou sítio heterotópico. Já o enxerto osteocondutor, geralmente é inorgânico e permite o crescimento de tecido ósseo em sua superfície, requerendo para isso tecido ósseo pré-existente como fonte de células osteo-progenitoras (OLSSON et al., 2008).

Para o uso como preenchimento de uma falha óssea, o material do *scaffold* dever ter estrutura tridimensional que permita a orientação e formação de tecido

ósseo em formato anatômico. O implante precisa ter poros grandes, maiores de 50µm, que permitam o fluxo de nutrientes e penetração de células e vascularização nas camadas mais profundas, e poros menores, ou microporos, menores que 10 µm, que contribuem para a interação entre as células e mantém as características biomecânicas para suportar cargas (OLIVER et al., 2004).

Biocerâmicas a base de fosfato de cálcio, como a hidroxiapatita (HA) e o fosfato β -tricalcio (β -TCP) são materiais que podem ser utilizados para a reparação e regeneração devido às suas composições serem similares à do osso. Quando implantadas, as biocerâmicas aderem ao osso e sua porosidade (100 a 400µm) possibilita o crescimento de tecido ósseo melhorando a aderência inicial. Contudo as biocerâmicas porosas a base de fosfato de cálcio são frágeis e a necessidade de porosidade do material diminui sua resistência. Além disso, biocerâmicas com baixa porosidade são bioreabsorvíveis muito vagarosamente, dificultando a substituição por tecido ósseo (ZHANG; ZHANG, 2002; OLSSON et al., 2008).

Alguns biopolímeros vêm sendo amplamente estudados para a formação dos *scaffolds*. Esses polímeros possuem elevada porosidade, são biodegradáveis e biocompatíveis. Os biopolímeros mais amplamente usados incluem o ácido poliglicólico, ácido poli-lático e o ácido poli-DL-lático-co-glicólico. Seu uso como *scaffold* vem sendo utilizado com sucesso, contudo apresentam problemas de aderência ao osso devido a sua superfície hidrofóbica, que torna a aderência entre células ósseas e o *scaffold* heterogênea (ZHANG; ZHANG, 2002).

3.6.1 Quitosana

Nos últimos anos a quitosana, um polímero natural, tem recebido considerável atenção como membrana para curativos de feridas, sistemas de liberação de fármacos, preenchimento de falha tecidual e engenharia tecidual. A quitosana é produzida pela desacetilação da quitina, que é um polímero constituinte do exoesqueleto dos artrópodes. A quitosana é biologicamente renovável, biodegradável, biocompatível, não antigênica, não tóxica e biofuncional (ZHANG; ZHANG, 2002).

A quitosana não é reconhecida pelo organismo como corpo estranho e causa mínima reação fibrosa de encapsulamento, após a sua implantação. Sua superfície é hidrofílica, o que facilita a adesão celular, proliferação e diferenciação, contudo é rapidamente biodegradada em meio fisiológico e não apresenta propriedades biomecânicas desejáveis para suportar a aplicação de cargas (ZHANG; ZHANG, 2002).

Outra vantagem do uso da quitosana, como arcabouço, é que pode ser moldada em várias formas (membranas, blocos, tubos e microesferas) e possui uma excelente habilidade para formar estruturas porosas. Várias composições têm sido utilizadas para produzir um arcabouço de quitosana, que tenha um tamanho de poro e propriedades mecânicas desejáveis (LARANJEIRA; DE FÁVERE, 2009).

Uma das características mais promissoras da quitosana é a de ser processada em estruturas porosas para uso em transplante de células e regeneração tecidual. As estruturas de quitosana porosa podem ser formadas por liofilização de soluções de quitosana/ácido acético, em moldes apropriados. A separação do acetato de quitosana a partir da fase do cristal de gelo, e a subsequente remoção do gelo por liofilização geram um material poroso cujo tamanho médio de poro pode ser controlado variando-se a velocidade de congelamento e o tamanho do cristal do gelo (LARANJEIRA; DE FÁVERE, 2009).

Outra propriedade importante da quitosana é a sua atividade antibacteriana intrínseca. Possíveis preparações de arcabouço à base de quitosana com outros biomateriais, tais como colágeno, gelatina e polihidroxialcanoatos podem ser promissores com relação às propriedades mecânicas e de adesão de células. Assim, a quitosana oferece uma grande possibilidade para aplicação em engenharia de tecidos (LARANJEIRA; DE FÁVERE, 2009).

Biomateriais de quitosana também têm sido considerados como acelerador da reparação tecidual, capazes de aumentar a produção de matriz extracelular por meio do aumento de produção de fatores de crescimento. Também acelerariam a infiltração de linfócitos polimorfonucleares nas fases iniciais de cicatrização tecidual, aumentando consideravelmente a osteopontina, uma fosfoproteína capaz de aumentar a ligação celular na ferida em cicatrização. Alguns autores citam que a quitosana fomenta o crescimento celular, porque as células aderem fortemente ao polímero e proliferam mais rapidamente. Este comportamento tem sido aproveitado para os estudos em engenharia de tecidos, sendo a quitosana utilizada em trabalhos

de regeneração da pele, do tecido ósseo e cartilaginoso, e na preparação de pele artificial (SPIN-NETO et al., 2008).

Martins et al. (2013) utilizaram membrana de quitosana no tratamento de feridas cutâneas experimentais em equinos, contudo não observaram benefícios quanto ao tempo de reparação.

Devido às propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade, este polímero pode atuar como material substituto ósseo que, ao longo do tempo, é substituído por osso natural. Os polímeros de quitosana têm sido testados com sucesso no tratamento de lesões ósseas periodontais e defeitos ósseos, sucesso esse representado pela neoformação óssea observada histologicamente ou ainda por uma grande variedade de testes clínicos, que não reportaram nenhuma reação alérgica ou inflamatória após sua implantação, injeção, aplicação tópica ou ingestão pelo corpo humano (SPIN-NETO et al., 2008).

Martins (2010) avaliou a biocompatibilidade da quitosana associada ao fosfato de glicerol após o preenchimento de defeito osteocondral criado experimentalmente em equinos, e concluiu que a quitosana não trouxe nenhum efeito adverso à articulação indicando possibilidade de uso como meio para liberação de fármacos e cultivo de células no ambiente articular. Contudo, Zanoto (2012) avaliou o cultivo de células tronco de equinos em gel de quitosana associada ao fosfato de glicerol e concluiu que houve baixa aderência entre as células e o meio, e diminuição gradual da contagem de células no meio, indicando a necessidade de melhoras para seu uso satisfatório na engenharia tecidual de tecido cartilaginoso.

Alguns estudos também reportam que a quitosana tem um potencial de liberar fármacos. Ao associar esse potencial às suas propriedades reparadoras teciduais, pode-se utilizar a quitosana e os biomateriais dela obtidos, no campo da engenharia tecidual. Nesse âmbito, uma das possibilidades mais promissoras dos biomateriais obtidos da quitosana é sua capacidade em formar estruturas porosas, contendo fatores de crescimento, como proteínas morfogenéticas ósseas ou fatores de crescimento vascular em sua composição, e que podem ser utilizados como moldes para crescimento celular, para posterior implantação em defeitos extensos (SPIN-NETO et al., 2008).

Lee et al. (2000) cultivaram osteoblastos de ratos em *scaffold*, a base de quitosana e o fosfato β -tricálcio, com tamanho médio de poros de 100 μ m e, utilizando microscopia eletrônica de luz, observaram que os osteoblastos se

proliferaram e aderiram a estrutura esponjosa do *scaffold* produzindo matriz óssea e posteriormente se diferenciaram em osteócitos, mostrando que esse biopolímero híbrido é compatível com a multiplicação celular.

Listoni (2013) avaliou o crescimento e diferenciação osteogênica e condrogênica de células tronco coletadas a partir da medula óssea de equinos em filmes de quitosana e ácido hialurônico. Concluiu que essas membranas tem potencial de auxiliar na reparação de tecidos ósseos, uma vez que possibilitaram a proliferação e diferenciação osteogênica das células tronco.

Hidrogéis de quitosana podem ser utilizados como carreadores para proteínas morfogenéticas ósseas (BMP-2) e quando implantados em defeitos ósseos críticos criados na calvária de ratos, proporcionaram regeneração tecidual otimizada, quando comparada ao uso dessas proteínas isoladamente (SPIN-NETO et al., 2008).

Bi et al. (2010) criaram um biopolímero com fosfato β -tricalcio, quitosana e plasma rico em plaquetas (PRP) para o uso em bioengenharia óssea. Observaram que a adição do PRP não alterou as propriedades biomecânicas e esse biopolímero induziu a proliferação e diferenciação óssea de células tronco em meio de cultura. Observaram também que ao se injetar esse biopolímero, ainda em fase de hidrogel, em falhas ósseas de ovelhas, levou a mais rápida consolidação deixando menor quantidade de resíduos na região da falha.

Zhang e Zhang (2002) uniram a hidroxiapatita, o fosfato β -tricalcio e a quitosana para formar um biomaterial híbrido que obtivesse propriedades biomecânicas para suportar a aplicação de cargas e ainda mantivesse as características biocompatíveis da quitosana. Notaram que esse composto apresentou porosidade média de 100 μ m, apresentou módulo de elasticidade e resistência para suportar a aplicação de cargas, não era rapidamente degradado em fluidos orgânicos e ainda serviu como arcabouço para a cultura de células ósseas.

3.6.2 Poliuretana de mamona

A poliuretana de mamona é um produto natural, que, quando implantado, não é sujeito à rejeição, e novos tecidos se formam a partir da base formada por ela, e

ainda tem a característica de permitir a osteogênese entre os fragmentos ósseos (BOLSON et al., 2005).

O polímero de mamona é obtido a partir de dois componentes básicos: poliol e pré-polímero (ambos obtidos por modificação do óleo da mamona). É um polímero bioativo com módulo de elasticidade similar ao osso humano (BOLSON et al., 2005).

A poliuretana derivada do óleo de mamona apresenta uma fórmula molecular que se mostra compatível com os tecidos vivos, apresentando aspectos favoráveis de processabilidade, flexibilidade de formulação, versatilidade de temperatura de curva e controle do pico exotérmico na transição líquido-gel, excelentes propriedades estruturais, ausência de emissão de vapores tóxicos e bom poder de adesão (JACQUES et al., 2004).

A polimerização da poliuretana de mamona é uma reação química exotérmica discreta (40 a 45°C), que não causa necrose tecidual no local de implantação, e em contato com meio líquido há aumento de volume, por reação primária com a água. Como a substância básica do polímero é o óleo de rícino, um ácido graxo que se comporta como um lipídio, a sua degradação ocorre por um mecanismo de lipólise (JACQUES et al., 2004).

A poliuretana pode ser fornecida já polimerizada em moldes pré-fabricados ou para polimerização no momento do procedimento, em dois frascos separados esterilizados por radiação gama, que na dependência da preparação dos componentes pode-se obter misturas de diferentes consistências (JACQUES, 2004). A adição de carbonato de cálcio confere porosidade ao polímero (IGNÁCIO et al., 1997).

Teixeira et al. (1999), após implantarem a poliuretana, em falhas em mandíbulas de ratos, comprovaram sua biocompatibilidade sem formação de cápsula fibrosa na interface osso-polímero. Martineli Júnior (2011) avaliando histologicamente com 15, 30, 45 e 60 dias a implantação de poliuretana de mamona em fêmures de ratos, observou formação gradual de tecido conjuntivo e osteocondróide na interfase osso/poliuretana de mamona e não observou reação de rejeição tipo corpo estranho.

Celeste et al. (2010) testaram a reação inflamatória, em tecido subcutâneo de ratos, das formas pré-fabricadas e para polimerização no momento da cirurgia, e observaram discreta reação inflamatória similar em ambas as formas após 3, 7, 15 e

30 dias, mostrando que a poliuretana de mamona foi biocompatível e não causou reações adversas devido à polimerização no momento da cirurgia.

Ignácio et al. (1997) testaram a biocompatibilidade da poliuretana de mamona em falha óssea de 2cm criada em rádio de coelhos e observaram, que inicialmente a poliuretana era envolvida por uma espessa camada de tecido fibroso e, posteriormente por lâmina de osso de organização e maturação progressivas. Não observaram reação de corpo estranho nem reabsorção e crescimento ósseo dentro da poliuretana. No mesmo experimento foi possível observar que a poliuretana foi eficiente em sustentar cargas compressivas axiais, mas sem aderir ao osso.

Ignácio et al. (2002) testaram o uso da poliuretana de mamona em suas formas cristalina e porosa em falhas ósseas de cães, e observaram que a forma porosa aderiu mais firmemente ao osso, contudo em nenhuma das formas ocorreu integração entre o tecido ósseo e o implante.

Dornbusch et al. (2010) avaliaram radiograficamente a poliuretana de mamona no preenchimento de falhas ósseas experimentais em equinos. Para tanto, foram realizadas perfurações de 8mm de espessura e 3cm de profundidade nos ossos rádio, direito que serviu de controle e esquerdo onde foi implantada a poliuretana. Observaram que no membro tratado houve maior reação inflamatória local e que radiograficamente houve consolidação óssea mais lenta. Dessa forma, concluíram que o preenchimento de falha óssea com poliuretana de mamona em equinos retardou a consolidação, contudo, esse estudo não utilizou falhas críticas, já que houve consolidação no grupo controle, e não foram realizadas avaliações biomecânicas.

Leonel et al. (2003) testaram a poliuretana porosa previamente fabricada e a poliuretana polimerizada durante o procedimento cirúrgico para preenchimento de falhas ósseas no arco zigomático de ratos. A forma pré-fabricada apresentava poros pequenos de tamanhos homogêneos e bem distribuídos, enquanto que a forma polimerizada no momento cirúrgico originou poros de tamanhos variados e distribuição heterogênea. No mesmo estudo, notaram o preenchimento dos poros por tecido fibroso e vascular com diferenciação progressiva para a formação de tecido ósseo, e células gigantes ativas promovendo a remoção do polímero. Outros trabalhos, como Ignácio et al. (1997), relataram a não aderência do polímero ao osso, contudo nesse estudo ocorreu a aderência do osso ao implante, provavelmente devido à porosidade dos biomateriais.

A porosidade da poliuretana de mamona influencia diretamente na aderência e proliferação do tecido ósseo dentro do implante, contudo influencia também a resistência biomecânica desse polímero quando submetido a compressão (LEONEL et al., 2003).

Lima et al. (2008) compararam as propriedades biomecânicas, utilizando amostras de tamanho padronizado de poliuretana de mamona com e sem catalizador, submetida a cargas de compressão. Observaram que a poliuretana de mamona com catalizador quando polimerizada forma poucas bolhas de ar, o que refletiu na resistência superior à cargas máximas de compressão, que o cimento ósseo e a poliuretana sem catalizador, que apresentaram valores semelhantes entre si. Notaram também, que o grande desvio padrão observado nos valores de tensão da poliuretana sem catalizador se explicava pelo fato da grande variação na quantidade de bolhas obtidas durante a polimerização sem catalizador. Dessa forma, concluíram que a variação da quantidade de bolhas durante a polimerização influencia diretamente nas propriedades biomecânicas, o que deve ser considerado ao empregar a poliuretana em locais com solicitação mecânica elevada.

Ferneda et al. (2006) observaram valores de tensão máxima de 46MPa e módulo de elasticidade de 1.56GPa no teste de compressão axial de amostras cilíndricas de poliuretana derivada de mamona, aferidos por medidores de deformação *strain gage*, acoplados à superfície do corpo de prova, contudo não mencionou-se no artigo científico a variação na quantidade de bolhas.

Van De Graaf (2012) observou valores de módulo de elasticidade à compressão axial de 328,265MPa e 1354,284MPa da poliuretana de mamona porosa (com bolhas) e compacta (sem bolhas).

Jacques et al. (2004) realizando um estudo comparativo entre o enxerto ósseo autógeno e o polímero de mamona em coelhos, observaram que a poliuretana de mamona integra-se ao osso receptor mais lentamente que o enxerto ósseo autógeno, mas que devido a característica moldável da poliuretana para preencher falhas ósseas, seu uso se mostrou satisfatório.

Pires (2001)¹ (apud BOLSON et al., 2005) avaliou a osteocondutividade e a osteointegração de implantes com três formulações de poliuretana derivada de

¹ PIRES, R., Avaliação da osseocondutividade e osseointegração de implantes com três formulações de poliuretano derivado de mamona em fêmur de coelhos. Capturado em 12 Abr. 2003. Online. Disponível na Internet http://www.usp.br/siicusp/9osiicusp/cd_2001/ficha128.htm

mamona em fêmur de coelhos (poliuretana pura, acrescida de carbonato de cálcio e acrescida de fosfato de cálcio) e observou que a poliuretana acrescida de fosfato de cálcio tem melhor condutividade e osteointegração.

Del Carlo et al. (2003) testaram a poliuretana acrescida de cálcio associada ou não a medula óssea na reparação de falhas ósseas em coelhos, e puderam observar que o acréscimo de cálcio à poliuretana tornou-a porosa, o que permitiu que o tecido ósseo neoformado penetrasse nos poros mais superficiais da poliuretana. Contudo, observaram também que a porosidade obtida não permitiu a formação de poros intercomunicantes nas camadas mais profundas do polímero. No mesmo estudo, foi coletada medula óssea, no momento do procedimento cirúrgico e embebido o polímero na amostra de medula. Na avaliação dos resultados, concluíram que devido a suas propriedades higroscópicas, o polímero serviu de veículo para a medula óssea e esse efeito possibilitou crescimento de tecido ósseo na superfície do implante mais rapidamente que o grupo controle.

3.7 ENSAIOS BIOMECÂNICOS

Mecânica é a ciência que estuda a influência das forças nos objetos. As propriedades mecânicas do osso podem ser definidas como a resposta do osso à forças (ditas como cargas) a ele aplicadas, e são influenciadas por fatores intrínsecos, como o próprio tecido ósseo, e por fatores geométricos, como tamanho e formato desse osso (AN; DRAUGHN, 2000; NORDIN; FRANKEL, 2001; MOREIRA et al., 2008; LOPEZ; MARKEL, 2012).

Testes biomecânicos do tecido ósseo, implantes ortopédicos e da interface osso-implante têm sido realizados há alguns anos. O aumento da popularidade dos implantes ortopédicos para correção de fraturas levou a um crescente interesse pelas avaliações mecânicas desses implantes, para uso em medicina humana e veterinária (AN; DRAUGHN, 2000; NORDIN; FRANKEL, 2001; LOPEZ; MARKEL, 2012).

Na cirurgia ortopédica de equinos, como na ortopedia humana, os estudos biomecânicos são amplamente utilizados para avaliar diferentes técnicas de artrodese (SOD; MARTIN, 2004; ZOPPA et al., 2011), osteossíntese (FLORIN et al.,

2005; SOD et al., 2008), padrões de suturas (TROSTLE et al., 2004; CORRÊA, 2012) e a resistência de materiais biológicos e implantes (MOREIRA, 2008; VAN DE GRAAF, 2012).

Além dos fatores correlacionados ao objeto (por exemplo osso ou sistema osso/implante), o sentido e velocidade com que a carga é aplicada ao objeto também podem influenciar em suas propriedades mecânicas. O tecido ósseo apresenta maior resistência quando submetido à cargas compressivas, resistência intermediária quando submetido à cargas de cisalhamento e menor resistência quando submetido à cargas de tração. Por apresentar essas diferenças em suas propriedades mecânicas conforme o sentido da carga aplicada, o tecido ósseo é conhecido como um material anisotrópico (AN; DRAUGHN, 2000; NORDIN; FRANKEL, 2001; LOPEZ; MARKEL, 2012).

Devido a esses inúmeros fatores que influenciam nas propriedades biomecânicas, para que se possa realizar avaliações comparativas, os ensaios biomecânicos necessitam de metodologia padronizada. Os ensaios biomecânicos normalmente são realizados por máquinas de ensaios mecânicos e podem ser realizados com a aplicação controlada de uma carga ou então causando uma deformação controlada, independente da carga necessária para que ocorra essa deformação. Durante o ensaio biomecânico, a carga aplicada é mensurada pela célula de carga da máquina e a deformação causada no material pode ser mensurada pela movimentação da máquina durante a aplicação da carga, ou então por medidores de deformação que podem ser aderidos à superfície do material ensaiado (extensômetros ou *strain gages*) (AN; DRAUGHN, 2000; NORDIN; FRANKEL, 2001; LOPEZ; MARKEL, 2012).

Durante o ensaio biomecânico de um determinado objeto (por exemplo, osso ou um sistema osso/implante), a deformação causada conforme a carga aplicada ao objeto pode ser ilustrada graficamente em curvas de carga x deformação (AN; DRAUGHN, 2000; NORDIN; FRANKEL, 2001; LOPEZ; MARKEL, 2012) (Figura 3).

Figura 3 – Ilustração de gráfico carga x deformação

Fonte: (LOPEZ; MARQUEL, 2012)

Legenda: Ilustração de uma curva carga x deformação onde pode-se observar uma fase inicial de acomodação, uma fase linear da curva onde ocorre a deformação elástica e uma fase curvilínea onde ocorre deformação plástica. Pode-se observar também o limite elástico e o ponto de falha.

Após uma fase inicial de acomodação, pode-se observar uma fase linear da curva onde ocorre deformação elástica (região elástica) e, dessa forma, caso seja retirada a carga aplicada, o objeto retorna a sua forma inicial. A inclinação da curva nessa região indica a rigidez do objeto que está sendo ensaiado, ou seja, o quanto esse objeto deforma elasticamente conforme a carga a ele aplicada (LOPEZ; MARKEL, 2012).

Em sequência à fase linear, podemos observar que ocorre uma curvatura no gráfico, onde ocorre deformação plástica (região plástica) e, nessa fase, caso seja retirada a carga aplicada, o objeto não retorna a sua forma inicial. O momento em que se inicia essa curvatura é o exato momento em que se iniciam deformações

plásticas que causam dano estrutural ao material. Esse ponto do gráfico é denominado limite elástico (NORDIN; FRANKEL, 2001).

Se continuarmos o ensaio biomecânico podemos chegar a um ponto onde o objeto se deforma sem apresentar nenhuma resistência à carga a ele aplicada. Esse ponto é conhecido como ponto de falha (AN; DRAUGHN, 2000).

Os extensômetros são instrumentos que aferem as deformações ocorridas na superfície de objetos. Para isso, devem ser aderidos a superfície do material no exato local onde se deseja aferir a deformação. Cada extensômetro é composto por um fio condutor elétrico delgado com várias dobras e aderido a um material em formato de folha, que deve ser aderido a superfície do material a ser avaliado. Como todo fio condutor, apresenta uma resistência elétrica que sofre variações a medida em que se deforma. Quando o material avaliado sofre uma deformação, causa também deformação no extensômetro, por estar aderido em sua superfície e, quando esta acoplado a um circuito elétrico é possível avaliar a alteração na resistência elétrica e, através dessa alteração, é possível calcular a deformação (SZIVEK; GHARPURAY, 2000).

Cada extensômetro apenas afere a deformação relativa (ϵ) em um determinado sentido, e são denominados extensômetros uniaxiais. Contudo, há extensômetros compostos por três extensômetros uniaxiais (denominados rosetas ou triaxiais) dispostos com angulação determinada entre si e, por meio de cálculo vetorial é possível determinar a intensidade e o sentido da deformação causada (SZIVEK; GHARPURAY, 2000).

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 PREPARO E COLETA DAS AMOSTRAS

Foram utilizados 15 pares de ossos terceiro metacarpianos equinos, provenientes do Serviço de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, sem apresentar enfermidades relacionadas aos ossos estudados.

As peças foram coletadas imediatamente após a morte ou eutanásia dos animais, condicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e congeladas a -4°C em *freezer* horizontal.

Anteriormente à colocação dos implantes metálicos, as peças foram descongeladas em temperatura ambiente submersas em solução salina isotônica, para a retirada de todos os tecidos moles e isolamento apenas dos ossos segundo, terceiro e quarto metacarpianos. Após essa etapa, os ossos foram envolvidos por compressa umedecida com solução salina e recongelados.

Após novo descongelamento, submerso em solução cloreto de sódio 0,9% durante 8 horas, uma placa bloqueada (LCP) com onze orifícios, foi posicionada na face dorsal da superfície óssea, de modo que a metade do comprimento total do osso coincidissem com o centro do orifício central da placa, fazendo com que, dessa forma, os parafusos ficassem posicionados de modo equidistante da falha óssea a ser criada. A placa foi posicionada com sua extremidade mais fina direcionada para a epífise proximal do osso.

Em todas as peças anatômicas, os parafusos foram colocados seguindo a mesma ordem. Após o posicionamento da placa no local desejado e fixação com pinças, foi feito o orifício mais distal com broca de 4,3mm e colocado um parafuso autorosqueante de 5,0mm, com comprimento adequado de forma que tanto a cortical cis como a trans tivessem contato com o parafuso. Em seguida, foi posicionado o parafuso no orifício mais proximal e, assim, alternadamente, foram posicionados todos os parafusos, com exceção do orifício central da placa, que sempre ficava posicionado sobre a falha óssea. Os parafusos foram apertados até a pressão de 4Nm, utilizando torquímetro acoplado à uma chave de mão (Figura 4).

Figura 4 – Chave utilizadas para o posicionamento da placa no osso

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Placa de 11 orifícios posicionada em face dorsal do osso terceiro metacarpiano equino e torquímetro de 4Nm acoplado à chave de mão.

Para o preparo das falhas ósseas, os ossos terceiro metacarpianos, já com a placa posicionada, foram fixados em suporte metálico acoplado a uma serra de esquadria, de modo que fosse possível a realização de dois cortes transversais ao eixo longitudinal do osso em sua diáfise média, criando, assim, uma falha de um centímetro de espessura.

Utilizando a mesma serra, também foram serradas as extremidades proximal e distal dos ossos, com o objetivo de tornar as superfícies articulares planas e paralelas entre si, para o posicionamento dos ossos na máquina de ensaios biomecânicos (Figura 5).

Figura 5 – Preparo da falha óssea

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Osso terceiro metacarpiano já com a placa, posicionado na serra de esquadria para a confecção da falha óssea e corte das extremidades distal e proximal

Para o preenchimento das falhas ósseas, os biomateriais foram preparados todos no mesmo dia, evitando que variações de temperatura e umidade ambiente pudessem interferir na confecção dos polímeros.

Os biopolímeros foram preparados seguindo as seguintes metodologias:

4.1.1 Poliuretana de mamona

A poliuretana de mamona é formada por polimerização após a mistura e agitação de seus compostos. Com o auxílio de balança analítica, foi adicionado, para cada 1 grama de pré-polímero, 0,65 gramas de polioli e 0,82 gramas de carbonato de cálcio. Após a adição, os compostos foram misturados, por

aproximadamente 6 minutos, utilizando espátula de madeira descartável, até a obtenção de uma solução de consistência firme (Figura 6).

Figura 6 - Preparação da poliuretana de mamona

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Em **A**: adição dos compostos utilizando balança analítica; em **B**: mistura dos compostos.

Após a mistura e agitação dos compostos, as poliuretanas de mamona foram colocadas em molde de teflon cilíndrico de 6cm e altura variável, e sua expansão controlada por êmbolo de 590 gramas acrescido de um peso de 5kg, evitando, assim a formação excessiva de bolhas durante a polimerização (Figura 7).

Figura 7 - Molde cilíndrico de teflon com 6cm de diâmetro interno utilizado na confecção da poliuretana de mamona

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Em **A**: molde e êmbolo; em **B**: molde com o êmbolo e peso de 5kg durante polimerização da poliuretana

Após duas horas de polimerização a poliuretana de mamona já apresentava consistência dura, sendo retirada do molde com o auxílio de ar comprimido, contudo, após a retirada do molde, apresentava espessura e diâmetro superiores ao da falha óssea.

Imediatamente antes dos ensaios biomecânicos as poliuretanas de mamona tiveram suas superfícies desgastadas utilizando disco de corte acoplado à furadeira de bancada com o objetivo de deixá-las com exatamente 1cm de espessura, superfícies planas e diâmetro semelhante ao da epífise do osso onde a falha foi criada, de modo que preenchessem a falha sem ficar espaços entre o polímero e o osso (Figura 8).

Figura 8 - Poliuretana sendo desgastada para encaixe à falha óssea

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: furadeira de bancada com disco de corte acoplado e uma poliuretana sendo desgastada para encaixar na falha óssea.

4.1.2 Quitosana

O método de preparo da quitosana baseou-se em estudos de Van De Graaf (2012), onde foram testados diversos modos de preparo deste biopolímero, encontrados na literatura e algumas variações. Foram realizados ensaios compressivos de diversas formulações, utilizando amostras de tamanho padronizado e, após os ensaios dos diferentes compostos, optou-se pelo de maior resistência.

Devido a elevada concentração dos compostos (Mistura de quitosana em pó, água destilada, ácido cítrico, destrose e b-trifosfato de cálcio na proporção em

gramas de 1 : 36,5 : 63,65 : 60,08 : 104,78) da formulação escolhida, foi necessária a adição gradual dos compostos, de modo a facilitar sua homogeneização. Dessa forma, a metodologia escolhida seguiu quatro etapas consecutivas.

Na primeira etapa, foi preparado um hidrogel composto por quitosana, água destilada e ácido cítrico na proporção de 1 : 36,5 : 12,5 gramas. Após a mistura, o Becker com os compostos foi colocado em um misturador magnético por 1 hora, resultando em um hidrogel de quitosana a 2% (Figura 9).

Figura 9 – Primeira fase de preparo da quitosana

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Hidrogel de quitosana formado após mistura dos compostos e 1 hora de agitação em misturador magnético.

Na segunda fase, ao hidrogel foram adicionadas mais quitosana (0,125 gramas para cada grama de hidrogel), ácido cítrico (1,023 gramas para cada grama de hidrogel) e destrose (1,2016 gramas para cada grama de hidrogel). Após aproximadamente 5 minutos de mistura utilizando pistilo e almofariz, até homogeneização total, obtinha-se uma substância de consistência pastosa (Figura 10).

Figura 10 – Segunda fase de preparo da quitosana

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Substância de consistência pastosa após a mistura dos compostos.

Na terceira fase era adicionado trifosfato de cálcio à substância pastosa (0,65 gramas de trifosfato de cálcio para cada 1 grama da substância pastosa) e, homogeneizado, novamente com pistilo e almofariz, formando assim uma substância de consistência firme (Figura 11).

Figura 11 – Terceira fase de preparo da quitosana

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Última fase de preparo da quitosana. Em **A**: adição dos compostos; em **B**: mistura dos compostos utilizando pistilo e almofariz.

Após o fim dessas fases de mistura dos compostos, a substância com consistência mais firme era colocada em placas de Petri (16mm de altura e 60mm de diâmetro) e colocados em estufa a 38 °C por 24 horas (Figura 12).

Figura 12 – Quitosana preparada e pronta para ser colocada em estufa

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Substância de consistência firme colocada em placa de petri.

Após o preparo dos biomateriais, estes foram armazenados em recipientes plásticos com tampa, evitando o contato com a umidade do ar, e mantidos à temperatura ambiente.

Assim como feito com a poliuretana de mamona, imediatamente antes dos ensaios, a quitosana também foi retirada de seus moldes e sua superfície desgastada para se encaixar perfeitamente à falha óssea.

4.2 ENSAIOS NÃO DESTRUTIVOS

O ensaio biomecânico não destrutivo, como o próprio nome diz, não causa destruição do material ensaiado, ou seja, o material é submetido a carga máxima inferior ao seu limite elástico. Dessa forma, após a retirada da carga aplicada o material ensaiado retorna a sua forma inicial sem nenhum prejuízo estrutural e o mesmo material pode ser submetido novamente a outros ensaios (LOPEZ; MARKEL, 2012). Seguindo esse princípio biomecânico Ulian et al. (2008) utilizaram um mecanismo dito como “*crossing*”, que consiste na utilização de um mesmo espécime em dois diferentes testes não destrutivos, para avaliar diferentes técnicas de osteossíntese submetidas a diferentes padrões de cargas, possibilitando assim, o aumento no número de amostras para os testes biomecânicos, sem que para isso fosse necessário o aumento no número de peças anatômicas.

Os ensaios biomecânicos foram realizados no Laboratório de Investigação Médica do Sistema Músculo Esquelético do Instituto de Ortopedia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FM-USP) que possui máquina universal de ensaios mecânicos KRATOS[®], modelo K5002.

Para a fixação das peças anatômicas na máquina de ensaios biomecânicos foi desenvolvido um dispositivo de fixação das epífises distal e proximal, de modo que durante o ensaio não ocorresse a soltura entre as peças e a máquina. O dispositivo era composto por dois copos metálicos com parafusos para alinhamento das epífises e com duas rótulas para permitir que ocorresse a deformação da peça anatômica durante o ensaio (Figura 13).

Figura 13 - Ilustração do dispositivo utilizado para a fixação do osso com a placa e a falha óssea na máquina de ensaios biomecânicos

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Ilustração do dispositivo com seus componentes e a peça anatômica posicionada

Após o posicionamento das epífises nos copos do dispositivo, esses copos eram preenchidos com resina de metilmetacrilato para a fixação adequada.

Para a determinação da carga máxima a ser aplicada no teste não destrutivo, duas peças preparadas da mesma maneira, descrita anteriormente, foram submetidas a ensaio compressivo. A primeira peça foi submetida a ensaio destrutivo com o objetivo de, por meio da curva carga x deslocamento, determinar a região de deformação elástica e determinar o limite elástico (Figura 14). Após essa avaliação, a segunda peça foi submetida a ensaios não destrutivos repetidos com o objetivo de avaliar possíveis alterações entre um ensaio e o subsequente, o que não foi observado.

Figura 14 – Gráfico Força (N) x Deformação (mm) referente a ensaio piloto destrutivo sem preenchimento da falha óssea

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico Força (N) x Deformação (mm) onde a reta vermelha sobrepõe a fase de deformação elástica e a reta azul indica que a carga de 1000N encontra-se na fase de deformação elástica.

Dessa forma, cinco pares de peças (10 peças) foram submetidos a teste compressivo não destrutivo com carga máxima de 1000 newtons (inferior ao limite elástico, que foi determinado previamente em ensaios piloto) na velocidade de 5mm/min, aplicada no centro do eixo ósseo, como descrito por Les et al. (1998), que mimetiza o padrão de carga aplicado ao terceiro metacarpiano quando o equino encontra-se a passo.

Utilizando o mesmo mecanismo de “*crossing*” descrito por Ulian et al. (2008) as mesmas peças foram utilizadas para os três grupos, ou seja, após a realização do ensaio não destrutivo em um dos grupos, a mesma peça foi submetida ao ensaio biomecânico nos outros grupos. Para evitar possíveis tendências estatísticas cada peça anatômica foi submetida ao ensaio com a ordem dos grupos alterada.

Assim, as 10 peças anatômicas foram utilizadas nos grupos identificados abaixo:

- Grupo Não Destrutivo Controle (ND-C)
- Grupo Não Destrutivo Mamona (ND-M)
- Grupo Não Destrutivo Quitosana (ND-Q)

Como os grupos são compostos pelas mesmas peças, eles se tornam perfeitamente padronizados. O fato de os ensaios não serem destrutivos também permite que sejam realizados ensaios biomecânicos repetidos, aumentando, assim a confiabilidade dos valores.

Dessa forma, no presente estudo foram realizados quatro ensaios consecutivos em cada grupo, sendo que os valores do primeiro ensaio não foram considerados, evitando, assim, a coleta de possíveis valores incorretos por acomodação do sistema peça/máquina de ensaios biomecânicos.

4.2.1 Coleta de dados

Os valores de força e deformação foram adquiridos em tempo real por um condicionador de sinais da marca LYNX[®] modelo AI2164-VA e sistema de aquisição de dados marca LYNX[®] modelo ADS2000, dotado de um programa dedicado para registrar no computador os dados do ensaio.

Após a fixação das peças anatômicas na máquina de ensaios biomecânicos, foram fixados os extensômetros, que são dispositivos que mensuram a deformação relativa no exato local onde são fixados.

A deformação relativa é a relação entre a deformação causada e o comprimento total antes da deformação. Como trata-se de uma relação de duas medidas de mesma grandeza (comprimento (mm)) o valor de deformação relativa é adimensional, mas pode ser expresso em porcentagem. Os extensômetros apresentam os valores em microdeformações (μd).

Ao se aplicar uma carga nas epífises ósseas essa carga é transmitida por todo o osso e, no caso em que se tem uma falha óssea que não permite o contato entre os fragmentos, essa carga é transmitida apenas pelo implante. Ao se preencher a falha óssea com um biomaterial rígido, a carga é transmitida pelo implante e pelo biomaterial.

Nesse sentido, foi fixado 1 extensômetro uniaxial na superfície dorsal da placa em seu ponto médio, tomando-se como referência seu comprimento total que,

devido ao posicionamento da placa no osso, ficava posicionado na região da falha óssea criada, de modo a avaliar a deformação causada na placa conforme a aplicação da carga.

Foram fixados também extensômetros triaxiais, no fragmento ósseo distal; um na região medial do fragmento a 1cm da falha; um extensômetro na região lateral do fragmento ósseo distal a 1cm da falha; e um extensômetro na face palmar do fragmento ósseo distal, entre o 3º e 4º parafusos, aproximadamente a 5,5 cm da falha, com o objetivo de avaliar a deformação causada nessas diferentes regiões do osso (Figuras 15 e 16).

Figura 15 – Vista dorsal de peça posicionada na máquina de ensaios biomecânicos com os extensômetros aderidos

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Terceiro metacarpiano direito posicionado na máquina de ensaios com o extensômetro uniaxial aderido à placa (círculo e seta amarelos), extensômetro triaxial aderido à face lateral (círculo e seta pretos) e extensômetro triaxial aderido à face medial (círculo e seta brancos).

Figura 16 – Vista caudal de peça posicionada na máquina de ensaios biomecânicos com os extensômetros aderidos

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Terceiro metacarpiano direito posicionado na máquina de ensaios com extensômetro triaxial aderido à face lateral (círculo e seta pretos) e extensômetro triaxial aderido à face palmar (círculo e seta amarelos).

Para melhor compreensão dos valores de deformação dados pelos extensômetros triaxiais, é preciso considerar que quando aplicamos uma carga em determinado material ocorre uma deformação no sentido da carga aplicada e, também uma deformação perpendicular a essa carga aplicada. Essas deformações podem ser de padrões diferentes e até intensidades diferentes. Como os extensômetros triaxiais são compostos por três extensômetros uniaxiais dispostos em diferentes sentidos pode-se aferir as deformações causadas nos três diferentes sentidos e, por meio de fórmulas matemáticas, é possível calcular a intensidade dessas deformações (máxima e mínima) e o sentido em que elas ocorrem.

As figuras 17 e 18 abaixo, ilustram duas diferentes situações que podem ocorrer quando se aplica uma carga em determinado material.

Figura 17 – Imagem ilustrativa das deformações ocorridas após a aplicação de uma carga

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Ilustração da aplicação de uma carga compressiva (seta vermelha) em um material que apresenta formato quadrado (tracejado preto) antes da aplicação da carga. Após a aplicação da carga o material sofre compressão no sentido da aplicação da carga e tração (seta azul) perpendicular à aplicação da carga. O extensômetro triaxial afere as deformações em cada sentido, pois é composto por extensômetros uniaxiais (A = $-100 \mu d$, B = $-500 \mu d$ e C = $-100 \mu d$). Por meio de fórmulas matemáticas é possível determinar a intensidade das deformações máxima ($\epsilon_{\max} = 300 \mu d$), mínima ($\epsilon_{\min} = -500 \mu d$) e o ângulo dessas deformações ($\theta = 0^\circ$) em relação ao sentido da carga aplicada. Os valores negativos de deformação indicam compressão e os valores positivos indicam tração.

Figura 18 – Imagem ilustrativa de diferente situação de deformações ocorridas após a aplicação de uma carga

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Ilustração da aplicação de uma carga compressiva (seta vermelha) em um material que apresenta formato quadrado (tracejado preto) antes da aplicação da carga. Após a aplicação da carga o material sofre compressão no sentido da aplicação da carga e tração (seta azul) perpendicular à aplicação da carga. O extensômetro triaxial afere as deformações em cada sentido, pois é composto por extensômetros uniaxiais (A = $-80 \mu d$, B = $-200 \mu d$ e C = $-100 \mu d$). Por meio de fórmulas matemáticas é possível determinar a intensidade das deformações máxima ($\epsilon_{\max} = 20,45 \mu d$), mínima ($\epsilon_{\min} = -200,45 \mu d$) e o ângulo dessas deformações ($\theta = 2,6^\circ$) em relação ao sentido da carga aplicada. Os valores negativos de deformação indicam compressão e os valores positivos indicam tração.

Dessa forma, os resultados de carga máxima, mínima e ângulo das deformações ocorridas, foram expressas segundo as fórmulas abaixo:

$$\varepsilon_{\max} = \frac{\varepsilon_A + \varepsilon_C}{2} + \frac{\sqrt{(\varepsilon_A - \varepsilon_C)^2 + [2 \cdot \varepsilon_B - (\varepsilon_A + \varepsilon_C)]^2}}{2}$$

$$\varepsilon_{\min} = \frac{\varepsilon_A + \varepsilon_C}{2} - \frac{\sqrt{(\varepsilon_A - \varepsilon_C)^2 + [2 \cdot \varepsilon_B - (\varepsilon_A + \varepsilon_C)]^2}}{2}$$

$$\theta = \frac{\text{seno}^{-1}\left(\frac{2 \cdot \varepsilon_B - (\varepsilon_A + \varepsilon_C)}{\sqrt{(\varepsilon_A - \varepsilon_C)^2 + [2 \cdot \varepsilon_B - (\varepsilon_A + \varepsilon_C)]^2}}\right)}{2} + 45^\circ$$

Onde:

- $\varepsilon_{\max}$: deformação máxima, em μd (microdeformação)
- $\varepsilon_{\min}$: deformação mínima, μd
- θ : Ângulo correspondente à deformação máxima medido em entre o eixo do osso e o *gage* A, em graus.
- ε_A : deformação medida no *gage* A da roseta retangular, em μd
- ε_B : deformação medida no *gage* B da roseta retangular, em μd
- ε_C : deformação medida no *gage* C da roseta retangular, em μd

A rigidez é definida como, o quanto o objeto se deforma a medida em que é aplicada a ele uma carga durante a fase de deformação elástica. Quando se avalia o gráfico força x deformação, deve-se calcular a rigidez na parte reta do gráfico, que representa a fase de deformação elástica (figura 19).

Figura 19 – Ilustração da região onde se calcula a rigidez no gráfico carga x deformação

Fonte: (LOPEZ; MARQUEL, 2012)

Legenda: Ilustração de uma curva carga x deformação onde pode-se observar a fase linear da curva correspondente à fase de deformação elástica e onde é calculada a rigidez. ΔF representa a variação na de carga aplicada e Δd a variação da deformação causada com a variação da carga aplicada.

O valor de rigidez é dado pela fórmula:

$$R = \frac{\Delta F}{\Delta d}$$

Onde:

- R = Rigidez
- ΔF = Variação da força durante a deformação elástica
- Δd = Variação da deformação elástica

4.3 ENSAIO DESTRUTIVO

Para o ensaio destrutivo foi utilizada a mesma metodologia do ensaio não destrutivo, contudo as peças anatômicas foram submetidas a carga compressiva até que ocorresse sua falha. Como a carga aplicada excedia o limite elástico, ocorria dano estrutural à peça e, por isso, cada peça só pôde ser utilizada em um único ensaio (Figura 20).

Figura 20 – Peça anatômica submetida a ensaio destrutivo

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Ensaio destrutivo com falha preenchida com poliuretano de mamona. Note a elevada flexão causada na placa devido a aplicação de carga acima do limite elástico e a ocorrência de uma fratura (seta amarela) no biomaterial de preenchimento da falha óssea.

Das 30 peças coletadas para o experimento 10 foram utilizadas nos ensaios não destrutivos e 20 foram utilizados para os ensaios destrutivos. Dessa forma, as

20 peças foram divididas em 3 grupos contendo de 6 a 7 peças por grupo, conforme descrito abaixo:

- Grupo Destrutivo Controle (D-C): 6 peças
- Grupo Destrutivo Mamona (D-M): 7 peças
- Grupo Destrutivo Quitosana (D-Q): 7 peças

Devido à grande quantidade de peças anatômicas (30 peças) necessárias para se realizar os dois tipos de ensaios (destrutivos e não destrutivos) os grupos controle, quitosana e mamona apresentaram número diferente de peças anatômicas, que foi considerado no momento da avaliação estatística, não havendo prejuízo na avaliação dos dados.

Com o objetivo de padronizar os grupos no ensaio destrutivo, tomou-se como referência a área do córtex ósseo na diáfise média (na falha óssea), que é medida da superfície de contato entre o osso e o biomaterial, onde será transferida a carga aplicada através da falha óssea.

Para se determinar essa área foram mensurados, utilizando paquímetro, os diâmetros interno (canal medular) e externo das peças, no sentido lateromedial e dorsopalmar e, a partir desses dados, foram calculadas as medidas de área do canal medular e área total de corte, considerando que essas áreas apresentam formato oval. A área do córtex na região da falha foi calculada pela subtração dos valores de área total e área no canal medular.

Ao avaliar as medidas calculadas, observou-se que os ossos terceiro metacarpianos direito e esquerdo apresentavam medidas de área muito próximas. Como a área de corte influencia apenas nos resultados dos grupos em que há o preenchimento da falha óssea, pelo fato de a carga ser transmitida pelo contato dos fragmentos com o biomaterial, optou-se por agrupar uma peça no grupo mamona e a contralateral no grupo quitosana, enquanto que o grupo controle foi composto por ambas as peças do mesmo par.

Para avaliar se havia homogeneidade entre os grupos com relação a área do córtex médio, foi realizada avaliação estatística (descrita nos resultados) que confirmou a homogeneidade dos grupos.

4.3.1 Coleta de dados

Com o mesmo sistema de coleta de dados utilizado nos ensaios não destrutivos, nos ensaios destrutivos foram mensurados as carga máximas suportadas pelo conjunto (peça anatômica, placa e biomaterial) e o limite elástico do conjunto, que é o valor de carga e deformação no momento em que se inicia a deformação plástica.

Os valores de carga e deformação máximas são obtidos pelo sistema da máquina de ensaios, contudo a deformação e a carga no limite elástico devem ser calculados. Foi utilizado o método de Johnson para o cálculo do limite elástico.

Nesse método, como ilustrado na figura 21, deve-se prolongar a linha da região linear do gráfico (fase elástica) até a interseção com uma linha (AB) paralela ao eixo da deformação (na parte superior do gráfico, correspondendo ao ponto B). A partir desse ponto (B) deve-se prolongar a linha (AB) em 50% de seu comprimento até um ponto (C), logo AC tem comprimento 50% maior que AB. Deve-se então, traçar outra linha partindo da interseção entre os eixos do gráfico até o ponto C (linha OC). O limite elástico é o ponto no gráfico dado pela projeção da linha OC sobre o gráfico.

Figura 21 – Gráfico explicativo do método de Johnson para determinação do limite elástico

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Figura 16: Gráfico força x deslocamento, para explicação do Método de Johnson para determinação do limite elástico. A: ponto inicial da linha AB/AC que pode se localizar em qualquer ponto do eixo força; B: ponto de interseção com o prolongamento da fase linear do gráfico; C: ponto correspondente a 150% da distância entre os pontos A e B. O: ponto de interseção entre os eixos força e deslocamento. C: linha entre os ponto O e C. //OC: linha OC projetada sobre o gráfico de modo que //OC é paralela a OC; LE: limite elástico (ou limite de proporcionalidade); FLE: força no limite elástico; DLE: deformação no limite elástico; FMáx: Força máxima no momento de ruptura; DMáx: Deformação máxima no momento de ruptura

4.4 AVALIAÇÃO DOS DADOS

Nos diferentes tipos de ensaios, foram avaliadas e comparadas as seguintes propriedades biomecânicas entre os grupos:

- Deformação causada em cada peça, avaliada pelo deslocamento da máquina de ensaios biomecânicos (Ensaio não destrutivo);
- Intensidade da deformação da placa por extensômetros uniaxiais (*strain gage*) aderidos à superfície da placa em seu ponto médio (Ensaio não destrutivo);
- Intensidade e direção da deformação do osso por extensômetros triaxiais (*strain gage*) aderidos à superfície do osso (Ensaio não destrutivo);
- Rigidez das peças anatômicas utilizadas, calculada razão entre as variações da carga suportada e da deformação causada no conjunto durante a fase de deformação elástica (Ensaio não destrutivo);
- Deformação máxima do conjunto no momento da ruptura do conjunto, avaliada pela máquina de ensaios biomecânicos (Ensaio destrutivo);
- Carga máxima suportada no momento da ruptura do conjunto, avaliada pela máquina de ensaios biomecânicos (Ensaio destrutivo);
- Deformação do conjunto no limite elástico, avaliada pela máquina de ensaios biomecânicos (Ensaio destrutivo);
- Carga do conjunto no limite elástico, avaliada pela máquina de ensaios biomecânicos (Ensaio destrutivo).

5 RESULTADOS

Para a avaliação das propriedades biomecânicas foram utilizados testes não destrutivos e testes destrutivos e a apresentação dos resultados segue a mesma sequência cronológica de realização dos ensaios biomecânicos, onde inicialmente foram feitos os ensaios não destrutivos e posteriormente os ensaios destrutivos.

5.1 ENSAIOS NÃO DESTRUTIVOS

Apesar de os objetivos do trabalho focarem na avaliação das propriedades mecânicas, algumas avaliações se fizeram necessárias, para que se pudesse validar a confiabilidade dos dados coletados. Nesse sentido foi avaliado também a repetitividade dos ensaios não destrutivos.

Para análise da repetitividade das aferições nos ensaios biomecânicos foi calculado o coeficiente de variação para cada peça, considerando os três ensaios repetidos.

Cálculos dos intervalos de 95% de confiança para a média de cada grupo também foram realizados, assim como estatísticas descritivas e o teste de hipótese da média (teste t para uma amostra) para verificar se a carga máxima de 1000 N definida no teste compressivo se manteve.

Como as mesmas 10 peças anatômicas foram usadas nos ensaios biomecânicos não destrutivos para os diferentes grupos experimentais (Controle, Mamona e Quitosana) e, considerando que a ordem de realização dos testes foi aleatória, a comparação entre grupos foi efetuada por análise de variância para blocos (ANOVA two-way). Na ANOVA o fator principal é o “grupo”, enquanto “peça” é considerada como bloco.

Gráficos de medidas por peça foram construídos para exibir as variações entre os 3 ensaios biomecânicos, mostrando a amplitude de variação nas 3 repetições em cada peça.

Vale ressaltar que, nas análises da deformação dos extensômetros triaxiais, os dados considerados foram os valores médios dos ensaios biomecânicos repetidos.

Assim como, apesar dos extensômetros triaxiais fornecerem as deformações máxima, mínima e o ângulo (sentido da deformação), o objetivo de se avaliar essas deformações no osso é de avaliar o quanto esse osso recebe cargas. Por isso, o valor de maior importância é a deformação com maior valor numérico (sem considerar o sinal negativo ou positivo, já que indicam apenas o sentido da deformação). Isto feito tanto para roseta medial como para lateral e palmar.

Em todos os testes estatísticos utilizou-se o nível de significância de 0,05. Para os cálculos foi utilizado os softwares Minitab e Starsoft .

5.1.1 Carga máxima

Para todos os ensaios não destrutivos a máquina de ensaios foi programada para realizar a compressão até atingir a carga máxima de 1000N. Quando a célula de carga afere esse valor é enviado um comando ao sistema que controla a máquina, que interrompe o ensaio. Contudo, esse processo leva um tempo, que, devido à precisão da célula de carga, pode levar à diferenças nos valores coletados.

Tanto os resultados gerais do coeficiente de variância (CV) expostos na tabela 1, como os gráficos ilustrados na figura 19 ilustram que o grupo Mamona foi o que seguiu padrões mais consistentes de precisão experimental, com valores de CV oscilando entre 0,04 e 1,07 no grupo controle, entre 0,12 e 0,49 no grupo Mamona e entre 0,09 e 1,29 no grupo Quitosana.

Tabela 1 - Resultados estatísticos referentes aos testes compressivos com carga máxima de 1000N por peça em cada grupo

Peça	ND-C		ND-M		ND-Q	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
1	-985,09	0,06	-1008,55	0,16	-1018,03	0,54
2	-982,72	1,07	-1015,86	0,17	-1019,88	0,09
3	-1003,49	0,09	-1023,19	0,47	-1066,91	0,49
4	-998,88	0,04	-1012,63	0,25	-1023,00	1,29
5	-1022,01	0,76	-1010,72	0,49	-1021,43	0,50
6	-1002,12	0,27	-1015,43	0,20	-1024,11	0,92
7	-1004,14	0,30	-1034,03	0,24	-1032,42	0,19
8	-979,33	0,42	-1006,80	0,12	-1015,26	0,10
9	-997,21	0,43	-1027,23	0,48	-1035,23	1,17
10	-998,27	0,17	-1013,95	0,30	-1027,77	0,62
Geral	-997,33	0,36	-1016,84	0,29	-1028,40	0,59

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Na figura 22 este resultado se evidencia com maior clareza pela menor amplitude (diferença entre máximo e mínimo) das medidas da triplicata nas dez peças como um todo. O gráfico ilustra também a faixa de variação global nos três grupos de forma comparativa, de modo que se pode observar que apenas o grupo controle apresenta variações dos valores em torno de 1000N.

Figura 22 – Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da carga mensurada pela célula de carga em cada peça

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de valores médios e extremos de cargas máximas obtidas por peça nas três repetições em cada grupo. Os valores negativos indicam o sentido da deformação que no caso foram cargas compressivas. A linha que une os pontos não significa uma tendência, apenas ilustra a região do gráfico onde os valores se encontram e a variação entre as peças, onde ND-C é grupo não destrutivo controle, ND-M é grupo não destrutivo mamona e ND-Q é grupo não destrutivo quitosana.

A tabela 2 expõe resultados relativos ao teste de hipótese da média para verificar a exatidão da carga, considerando a carga nominal de 1000N. Também são apresentadas estimativas de intervalo de confiança de 95% para a média das cargas em cada grupo.

Pelos resultados obtidos, apenas para o grupo Controle há evidência de que a carga média não difere estatisticamente de 1000N ($P=0,516$). Tal confirmação é reforçada pelo cálculo do intervalo de confiança que abrange a carga nominal de 1000N. Para os outros grupos, houve uma diferença estatisticamente significativa da média em relação à carga nominal, com valor $P<0,001$ em ambos os casos, pelo teste t.

Tabela 2 – Resultados estatísticos para o teste da exatidão em cada grupo

Grupo	Nº	Média	Desvio padrão	Mediana	IC(95%)	Valor P*	Evidência
ND-C	10	-997,33	12,50	-998,58	(-1006,27; -988,38)	0,516	Exato
ND-M	10	-1016,84	8,69	-1014,70	(-1023,06; -1010,62)	0,001	Não exato
ND-Q	10	-1028,40	14,89	-1023,60	(-1039,05; -1017,75)	0,001	Não exato

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: ND-C representa o grupo controle, ND-M representa o grupo mamona, e ND-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

5.1.2 Deformação máxima

A tabela 3 exibe os resultados estatísticos relativos à deformação causada em cada peça. Os cálculos obtidos para o CV tornam possível verificar que as peças 5, 6 e 10 foram as que apresentaram maior imprecisão experimental, com CV entre 15% e 30%; valores estes considerados de precisão moderada e que destoaram dos obtidos para os ensaios com as demais peças usadas como unidades experimentais, cuja precisão experimental foi maior ($CV<15\%$). Na avaliação geral das 10 peças, o grupo controle foi o que gerou resultados mais divergentes, variando de 0 a 86,76%, entretanto, pode-se considerar que no geral a precisão experimental ainda é satisfatória. Observa-se que a peça 6 se destacou nos três grupos.

Tabela 3 - Resultados estatísticos de deformação da peça (mm) em cada grupo

Peça	ND-C		ND-M		ND-Q	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
1	1,68	0,34	0,41	2,44	0,30	3,33
2	1,88	2,02	0,39	1,49	0,25	2,28
3	1,32	0,44	0,37	-	0,24	-
4	1,70	0,90	0,34	2,94	0,26	6,66
5	1,26	86,76	0,77	16,98	0,58	17,54
6	1,78	23,63	0,65	43,41	0,50	20,37
7	1,35	4,33	0,41	1,40	0,37	2,70
8	1,56	-	0,51	1,14	0,27	-
9	1,48	5,85	0,51	5,19	0,35	2,86
10	1,08	1,41	0,40	1,43	0,39	19,25
Geral	1,41	12,57	0,48	7,64	0,35	7,50

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: ND-C representa o grupo controle, ND-M representa o grupo mamona, e ND-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Sinais convencional utilizado: - dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento

Reforçando tal resultado, a figura 23 permite perceber pela amplitude, que o grupo controle é aquele com resultados menos satisfatórios no que se refere à repetitividade das medidas de deformação da peça, apresentando amplitudes altas para as peças 5 e 6.

Figura 23 – Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da deformação mensurada pela máquina de ensaios biomecânicos em cada peça

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráficos de valores médios e extremos de deformação da peça, obtido por peça nas três repetições em cada grupo (abaixo de cada gráfico). A linha que une os pontos não significa uma tendência, apenas ilustra a região do gráfico onde os valores se encontram e a variação entre as peças, onde ND-C é grupo não destrutivo controle, ND-M é grupo não destrutivo mamona e ND-Q é grupo não destrutivo quitosana..

A tabela 4 ilustra os resultados que indicam se a hipótese de diferença entre os grupos experimentais se confirma, levando em conta a estrutura de dependência das medidas decorrente do uso das mesmas peças em todos os grupos nos ensaios biomecânicos; e a evidência encontrada para o teste de comparação de médias entre os grupos, considerando nível de significância de 0,05.

Tabela 4 – Resultados da comparação entre grupos para deformação da peça (mm) pela ANOVA com dois fatores

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio	Valor P	Evidência
Grupo	2	4,038	0,001	Há diferença significativa
Peça	9	0,033	0,462	
Resíduo	18	0,032		
Total	29			

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Considerando-se que há diferenças entre os grupos, o teste de comparações múltiplas de Dunett permitiu verificar se as diferenças em relação ao grupo Controle eram estatisticamente significativas, conforme ilustrado no gráfico 1.

Gráfico 1 – Valores médios de deformação da peça anatômica em cada grupo

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de coluna para diferença de médias, acrescidos de intervalo de confiança (95%) e de valores P para as comparações entre grupo Mamona e Controle; e Quitosana e Controle, associados à variável deformação da peça (mm).

Dessa forma, em todos os grupos ocorreu deformação de diferentes intensidades entre si e entre cada grupo testado e o grupo controle ($P < 0,05$), de modo que a peça teve seu comprimento diminuído devido à flexão da placa. A maior deformação ocorreu no grupo controle (1,73mm) enquanto que o grupo quitosana sofreu a menor deformação (0,35mm).

5.1.3 Intensidade da deformação da placa por extensômetros uniaxiais

A deformação na placa esta diretamente relacionada à carga aplicada às peças anatômicas. O ponto de maior deformação é o ponto médio da placa, tomando-se como referência seu comprimento. Esse ponto coincidiu com a diáfise média do osso, onde foi criada a falha óssea e foi o local onde foram aderidos os extensômetros uniaxiais.

A tabela 5 e a figura 24 exibem os resultados estatísticos relativos à deformação causada no extensômetro uniaxial aderido ao ponto médio da placa em cada peça.

Tabela 5 - Resultados estatísticos referentes à deformação da placa (mm) em cada grupo

Peça	ND-C		ND-M		ND-Q	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
1	2715,62	0,59	368,00	0,46	248,44	1,67
2	2786,76	0,98	227,32	0,66	82,08	1,81
3	2031,51	0,59	307,72	0,20	59,05	2,16
4	2206,48	0,22	75,91	2,28	-14,17	11,51
5	2005,90	1,14	328,57	1,15	30,58	3,16
6	2133,03	1,68	421,29	2,29	23,99	2,31
7	1908,29	0,61	175,31	1,51	90,65	3,15
8	2328,96	0,07	499,52	2,18	36,00	1,31
9	2537,07	1,73	403,17	2,15	100,84	25,58
10	1767,55	0,30	304,23	2,59	252,83	19,45
Geral	2242,12	0,79	311,10	1,54	91,03	7,21

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: ND-C representa o grupo controle, ND-M representa o grupo mamona, e ND-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Figura 24 – Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da deformação da placa mensurada por extensômetros uniaxiais aderidos ao ponto médio da placa em cada peça

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráficos de valores médios e extremos de deformação da placa por peça nas três repetições em cada grupo. A linha que une os pontos não significa uma tendência, apenas ilustra a região do gráfico onde os valores se encontram e a variação entre as peças. A dificuldade na visualização dos valores mínimo e máximo se dá pela pequena variação desses valores com relação à média. ND-C é grupo não destrutivo controle, ND-M é grupo não destrutivo mamona e ND-Q é grupo não destrutivo quitosana.

Note que, apesar do grupo Quitosana se mostrar bem distinto dos demais grupos gerando maiores valores de CV por peça, de forma geral, os ensaios não comprometeram a precisão experimental (Tabela 5 e Figura 22). Mesmo o grupo Quitosana que apresentou maiores erros nos ensaios, os valores de CV ficaram entre 1,31 e 25,58%, com média de 7,21%.

É possível observar que a peça de número 4 destoou seu resultados nos grupos mamona e quitosana das outras peças em seus respectivos grupos. De modo que no grupo quitosana chegou a apresentar valores negativos de deformação, o que indica que houve tração no extensômetro. Uma possível justificativa para esse fato seria uma alteração no posicionamento ou geometria do conjunto peça/falha/placa no momento do preenchimento da falha, levando a alteração no padrão de deformação gerado na placa.

A tabela 6 ilustra os resultados que indicam se a hipótese de diferença entre os grupos experimentais se confirma.

Tabela 6 – Resultados da comparação entre grupos para deformação da placa (mm) pela ANOVA com dois fatores

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio	Valor P	Evidência
Grupo	2	14007380	0,001	Há diferença significativa
Peça	9	55206	0,318	
Resíduo	18	43522		
Total	29			

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Considerando-se que há diferenças entre os grupos, o teste de comparações múltiplas de Dunett permitiu verificar se as diferenças em relação ao grupo Controle eram estatisticamente significativas, conforme ilustrado no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Gráfico de coluna ilustrando a média da deformação da placa mensurada por extensômetros uniaxiais aderidos ao ponto médio da placa em cada grupo

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de coluna para diferença de médias, acrescidos de intervalo de confiança (95%) e de valores P para as comparações entre grupo Mamona e Controle; e Quitosana e Controle, associados à variável deformação da placa avaliado por extensômetro uniaxial (mm). Note que todos os valores são positivos, indicando que houve tração na superfície dorsal da placa.

Em todos os grupos, em média ocorreu flexão de diferentes intensidades e entre cada grupo testado e o grupo controle ($P < 0,05$), de modo que a superfície dorsal da placa foi submetida a tração. No grupo controle ocorreu maior deformação (2260,63 μd) enquanto que no grupo quitosana ocorreu a menor deformação (89,88 μd).

5.1.4 Intensidade e direção da deformação do osso por extensômetro triaxial aderido a superfície medial do fragmento distal do osso

Os resultados exibidos na tabela 7 relativos à deformação do osso no extensômetro medial mostram que houve variação de peça para peça na média das triplicatas, e que a precisão experimental foi satisfatória, exceto para os ensaios da peça 9 do grupo Quitosana, cuja imprecisão foi mais acentuada ($\text{CV}=34,27\%$). Na avaliação geral das 10 peças, a precisão experimental se manteve em nível satisfatório como pode ser verificado na figura 25. Também se pode perceber, nesta mesma figura, que a faixa de variação das médias foi maior nos grupos Mamona e Quitosana. No primeiro variou de -201,20 a 68,71 e no segundo de -181,74 a 105,21. Nota-se ainda que devido à amplitude de variação global das médias das triplicatas assinaladas no gráfico, quase não se percebe a dispersão nas medidas das três repetições; aspecto positivo no que se refere à precisão experimental.

Tabela 7 - Resultados estatísticos referentes à deformação do osso na roseta medial (μd) para cada grupo

Peça	ND-C		ND-M		ND-Q	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
1	23,87	2,91	-104,29	0,64	61,08	1,51
2	-32,42	9,04	68,71	0,56	-98,81	1,73
3	47,58	1,12	23,10	1,15	28,11	0,93
4	21,08	5,41	61,93	0,09	57,15	0,17
5	102,63	0,42	-116,95	1,58	-181,74	1,00
6	27,01	13,54	-201,20	1,57	14,20	14,12
7	37,94	0,80	-97,98	0,27	30,87	0,75
8	24,69	3,46	-95,96	1,51	22,17	0,75
9	10,23	7,16	-83,12	1,94	20,79	34,27
10	8,73	1,45	-125,25	1,66	105,21	8,49
Geral	27,13	4,53	-67,10	1,10	5,9	6,37

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Figura 25 – Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da deformação mensurada por extensômetros triaxiais aderidos à superfície medial do fragmento distal em cada peça

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráficos de valores médios e extremos referente ao extensômetro medial por peça nas três repetições em cada grupo (abaixo de cada gráfico). A linha que une os pontos não significa uma tendência, apenas ilustra a região do gráfico onde os valores se encontram e a variação entre as peças. A dificuldade na visualização dos valores mínimo e máximo se dá pela pequena variação desses valores com relação à média.

A tabela 8 ilustra os resultados que indicam se a hipótese de diferença entre os grupos experimentais se confirma.

Tabela 8 – Resultados da comparação entre grupos para roseta medial (μd) pela ANOVA com dois fatores

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio	Valor P	Evidência
Grupo	2	24435	0,040	Há diferença significativa
Peça	9	3416	0,826	
Resíduo	18	6311		
Total	29			

Considerando-se que há diferenças entre os grupos, o teste de comparações múltiplas de Dunnett permitiu verificar se as diferenças em relação ao grupo Controle eram estatisticamente significativas, conforme ilustrado no gráfico 3.

Gráfico 3 – Deformação aferida pelo extensômetro triaxial aderido à superfície medial do fragmento distal durante o ensaio não destrutivo quando a carga compressiva chegou ao valor máximo de 1000N

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de colunas indicando os valores de deformação (em μd) de maior intensidade aferidos pelo extensômetro triaxial aderido à superfície medial do fragmento distal, dos grupos controle, mamona e quitosana durante a aplicação da carga máxima no ensaio não destrutivo. Os valores de P, com intervalo de confiança de 95% são relativos a avaliação dos grupos testados com o grupo controle. Os valores positivos indicam tração e os valores negativos indicam compressão

Como observado na Tabela 8 e no Gráfico 3, houve diferença estatística entre os grupos, contudo não houve diferença entre a deformação causada no extensômetro medial entre o grupo controle e o grupo quitosana ($P > 0,05$). Note que nos grupos controle e quitosana houve em média tração e no grupo mamona compressão na região avaliada.

5.1.5 Intensidade e direção da deformação do osso por extensômetro triaxial (roseta) aderido a superfície lateral do fragmento distal do osso

No caso dos resultados relativos à deformação do osso na roseta lateral, não houve tanta variação de peça para peça na média das triplicatas dos três grupos.

Como pode ser visto na tabela 9 e na figura 26, tanto para os valores de peça para peça como para a média geral, os valores de CV se mantiveram baixos nos três grupos, revelando boa precisão experimental. Nota-se que não há destaque para a linha dos valores mínimos e máximos nos gráficos em função da sua grandeza numérica. Outra característica que o gráfico auxilia na percepção, é que o padrão de variação não se manteve para as mesmas peças nos diferentes grupos. Tal fato é verificado pela forma de oscilação das medidas que se alterou bastante de um grupo para o outro. Como são as mesmas peças que foram usadas nos três grupos, essa característica se deve a uma possível diferença entre eles.

Tabela 9 - Resultados estatísticos referentes à deformação do osso na roseta lateral (μd) para cada grupo

Peça	ND-C		ND-M		ND-Q	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
1	53,79	0,29	-64,99	0,91	-213,82	0,65
2	45,53	1,23	-69,63	1,05	21,59	1,43
3	41,16	0,28	-89,92	0,23	-73,94	0,95
4	129,66	0,61	-115,32	1,11	33,31	1,31
5	36,82	2,54	-76,00	3,01	64,31	0,50
6	55,84	4,09	-127,44	0,70	-38,39	9,03
7	45,02	1,18	-28,80	1,72	17,45	1,16
8	48,29	0,64	-47,69	0,40	-108,41	0,65
9	31,22	2,39	-109,24	1,26	32,27	6,69
10	39,01	1,76	38,63	1,31	-67,95	6,21
Geral	-52,63	1,50	-69,04	1,17	-33,36	2,86

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: ND-C representa o grupo controle, ND-M representa o grupo mamona, e ND-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Figura 26 – Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da deformação mensurada por extensômetros triaxiais aderidos à superfície lateral do fragmento distal em cada peça

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de valores médios e extremos referente à roseta lateral por peça nas três repetições em cada grupo (abaixo de cada gráfico). A linha que une os pontos não significa uma tendência, apenas ilustra a região do gráfico onde os valores se encontram e a variação entre as peças. A dificuldade na visualização dos valores mínimo e máximo se dá pela pequena variação desses valores com relação à média. ND-C é grupo não destrutivo controle, ND-M é grupo não destrutivo mamona e ND-Q é grupo não destrutivo quitosana.

A tabela 10 ilustra os resultados que indicam se a hipótese de diferença entre os grupos experimentais se confirma.

Tabela 10 – Resultados da comparação entre grupos para roseta lateral (μd) pela ANOVA com dois fatores

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio	Valor P	Evidência
Grupo	2	39121	0,001	Há diferença significativa
Peça	9	2625	0,720	
Resíduo	18	3876		
Total	29			

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Considerando-se que há diferenças entre os grupos, o teste de comparações múltiplas de Dunett permitiu verificar se as diferenças em relação ao grupo Controle eram estatisticamente significativas, conforme ilustrado no Gráfico 4.

Gráfico 4 – Deformação aferida pelo extensômetro triaxial aderido à superfície lateral do fragmento distal durante o ensaio não destrutivo quando a carga compressiva chegou ao valor máximo de 1000N

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de colunas indicando os valores médios de deformação (em μd) de maior intensidade, aferidos pelo extensômetro triaxial aderido à superfície lateral do fragmento distal, dos grupos controle, mamona e quitosana durante a aplicação da carga máxima no ensaio não destrutivo. Os valores de P, com intervalo de confiança de 95% são relativos a avaliação dos grupos testados com o grupo controle. Os valores negativos indicam compressão.

Como observado na tabela 10 e no gráfico 4, houve diferença estatística entre os grupos, e entre cada grupo testado e o grupo controle ($P < 0,05$). Nota-se que no grupo controle houve em média tração e nos grupos mamona e quitosana houve compressão na região avaliada.

5.1.6 Intensidade e direção da deformação do osso por extensômetro triaxial aderido a superfície palmar do fragmento distal do osso

Os resultados gerais de CV que aparecem na tabela 11, assim como os gráficos ilustrados na figura 27 servem como evidências de que a precisão experimental foi satisfatória nos ensaios dos três grupos. Exceto pelo ensaio com a peça 10 no grupo Quitosana, cujo CV foi de 34,15%, os demais valores de CV mantiveram-se abaixo de 6,60%. É importante salientar que a faixa de variação dos valores medidos na roseta palmar se manteve bem próxima para os três grupos.

Tabela 11 - Resultados estatísticos referentes à deformação do osso na roseta palmar (μd) para cada grupo

Peça	ND-C		ND-M		ND-Q	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
1	-32,16	6,60	-39,16	2,00	-34,23	4,92
2	-110,74	0,52	-69,54	1,62	-103,59	0,71
3	-49,52	2,08	-25,29	2,83	-52,67	0,98
4	-139,07	0,50	-112,59	0,89	-131,17	1,42
5	-79,19	1,66	-87,23	0,54	-75,15	1,22
6	-128,64	2,17	-103,38	1,34	-158,17	1,51
7	-128,75	1,05	-97,50	1,84	-113,28	0,74
8	-165,52	0,79	-101,64	1,69	-129,70	0,77
9	-48,83	2,35	-79,95	0,90	-134,80	6,13
10	-67,86	1,60	-70,10	0,77	-31,69	34,15
Geral	-95,03	1,93	-78,64	1,44	-96,45	5,25

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: ND-C representa o grupo controle, ND-M representa o grupo mamona, e ND-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Figura 27 – Gráficos de pontos ilustrando a média, mínimo e máximo da deformação mensurada por extensômetros triaxiais aderidos à superfície palmar do fragmento distal em cada peça

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de valores médios e extremos referente à roseta palmar por peça nas três repetições em cada grupo. A linha que une os pontos não significa uma tendência, apenas ilustra a região do gráfico onde os valores se encontram e a variação entre as peças. A dificuldade na visualização dos valores mínimo e máximo se dá pela pequena variação desses valores com relação à média.

A tabela 12 ilustra os resultados que indicam que não houve diferenças entre os grupos e, por isso, não se realizou o teste de comparações múltiplas de Dunnett. O gráfico 5 ilustra apenas os valores médios das deformações máxima, mínima e ângulo da deformação de maior intensidade.

Tabela 12 – Resultados da comparação entre grupos para roseta palmar (μd) pela ANOVA com dois fatores

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio	Valor P	Evidência
Grupo	2	979,6	0,160	Não há diferença significativa
Peça	9	3947,1	0,001	
Resíduo	18	482,9		
Total	29			

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Gráfico 5 – Deformação aferida pelo extensômetro triaxial aderido à superfície palmar do fragmento distal durante o ensaio não destrutivo quando a carga compressiva chegou ao valor máximo de 1000N

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de colunas indicando os valores médios de deformação (em μd) de maior intensidade, aferidos pelo extensômetro triaxial aderido à superfície palmar do fragmento distal, dos grupos controle, mamona e quitosana durante a aplicação da carga máxima no ensaio não destrutivo. Os valores negativos indicam compressão.

Como observado na Tabela 12 e no Gráfico 5, não houve diferença estatística entre os grupos ($P > 0,05$). Nota-se que em todos os grupos houve compressão na região avaliada.

5.1.7 Rigidez

Para se certificar de que os dados avaliados para o cálculo da rigidez encontravam-se na parte linear do gráfico calculou-se, pelo próprio programa de avaliação de dados, o coeficiente de determinação (R^2) da porção do gráfico onde se imaginava ser linear. De forma geral, o coeficiente de determinação avalia a porcentagem dos pontos do gráfico que se encontram na reta. Esse coeficiente deve ter o valor mais próximo de 1 (um). O valor médio do coeficiente de determinação para o cálculo de rigidez em todos os grupos foi superior a 0,99, que comprova que o cálculo de rigidez se deu na porção linear da curva.

A rigidez foi outra variável cujos resultados se mantiveram com boa precisão experimental, a constar pelos baixos valores de CV calculados para todas as peças

em todos os grupos, os quais se mantiveram abaixo de 4% de forma geral, conforme exposto na tabela 13.

Tabela 13 - Resultados estatísticos referentes à rigidez (N/mm) para cada grupo

Peça	ND-C		ND-M		ND-Q	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
1	723,84	0,52	3.052,43	0,93	3.678,99	1,07
2	797,47	0,46	3.565,27	1,32	5.331,51	1,37
3	536,65	0,68	2.575,81	2,15	3.961,84	0,38
4	721,72	0,77	3.403,05	1,01	4.386,03	2,94
5	625,54	0,97	2.714,48	0,66	4.154,14	1,78
6	702,59	0,58	3.377,58	2,05	4.568,81	1,32
7	706,68	0,90	2.527,87	2,15	4.758,56	0,96
8	533,90	1,53	2.353,71	1,01	4.237,19	1,11
9	988,44	2,11	2.620,68	0,72	3.595,16	3,71
10	656,92	0,49	2.862,90	0,96	4.077,11	2,65
Geral	699,38	0,90	2905,38	1,29	4274,93	1,73

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: ND-C representa o grupo controle, ND-M representa o grupo mamona, e ND-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

A figura 28 também permite essa visualização na medida em que não chega a ser perceptível a linha da amplitude para a maioria dos pontos assinalados no gráfico.

Outro resultado que vale salientar no gráfico é que a faixa de variação das médias do grupo Controle ficou em um patamar bem distinto dos grupos Mamona e Quitosana, refletindo a menor rigidez das peças. Já para o grupo Mamona a rigidez média dá um salto bem significativo e para o grupo Quitosana ainda mais.

Figura 28 – Gráficos de pontos ilustrando a rigidez das peças em cada grupo

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de valores médios e extremos referente à rigidez por peça nas três repetições em cada grupo. A linha que une os pontos não significa uma tendência, apenas ilustra a região do gráfico onde os valores se encontram e a variação entre as peças. A dificuldade na visualização dos valores mínimo e máximo se dá pela pequena variação desses valores com relação à média. ND-C é grupo não destrutivo controle, ND-M é grupo não destrutivo mamona e ND-Q é grupo não destrutivo quitosana.

A partir da análise de variância ANOVA, pode-se notar que realmente houve diferença entre os grupos experimentais, conforme ilustrado na tabela 14.

Tabela 14 – Resultados da comparação entre grupos para rigidez (N/mm) pela ANOVA com dois fatores

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio	Valor P	Evidência
Grupo	2	32544584	0,001	Há diferença significativa
Peça	9	236262	0,090	
Resíduo	18	113945		
Total	29			

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Considerando-se que há diferenças entre os grupos, o teste de comparações múltiplas de Dunett permitiu verificar se as diferenças em relação ao grupo Controle eram estatisticamente significativas, conforme ilustrado no Gráfico 6.

Gráfico 6 – Gráfico de coluna ilustrando a média da rigidez média de cada grupo

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráficos de colunas para diferença de médias, acrescidos de valores P com intervalo de confiança (95%) e para as comparações entre grupo Mamona e Controle e Quitosana e Controle, associados à variável rigidez (N/mm).

Como observado na tabela 14 e no gráfico 6, houve diferença estatística entre os grupos, e entre cada grupo testado e o grupo controle ($P < 0,05$). Nota-se que o grupo com maior rigidez foi o grupo quitosana.

5.2 ENSAIOS DESTRUTIVOS

Nos ensaios destrutivos cada grupo era composto por peças diferentes, já que após cada ensaio havia dano estrutural nas peças ensaiadas. Dessa maneira, a distribuição das peças foi fundamental, de modo a tornar os grupos homogêneos quanto à área de osso cortical na região da falha óssea, que é o local por onde é transmitida a carga entre os fragmentos ósseos pelo biomaterial que preenche a falha. Desta forma, foi realizado teste estatístico para avaliar se realmente houve homogeneidade entre os grupos.

Nos ensaios destrutivos foram avaliadas também força e deformação no limite elástico, além de força e deformação no ponto de ruptura, chamados de força e deformação máximas.

Na análise dos dados experimentais dos ensaios destrutivos foram efetuados cálculos de estatísticas descritivas; intervalos de confiança de 95% para variância e desvio padrão; testes de Levene para comparação das variâncias entre grupos; teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre grupos e teste de comparação múltipla não paramétrico.

5.2.1 Homogeneidade entre os grupos

Diferentemente dos grupos Mamona e Quitosana, onde há a transmissão de forças pela falha óssea, no grupo Controle há apenas a transmissão de forças pela placa, que foi o mesmo modelo utilizado em todos os grupos. Dessa forma a homogeneidade dos grupos, considerando a área do córtex na região da falha, se torna fundamental entre os grupos Mamona e Quitosana.

A análise estatística da homogeneidade entre os grupos experimentais enfocou as medidas de dispersão como desvio padrão (s), variância (s^2) e amplitude (a). Estimativas para tais medidas com relação à área de corte estão mostradas na tabela 15.

Os dados da área de corte das peças que compuseram o grupo Controle apresentaram maior dispersão do que os demais, quando observadas as estatísticas

s e s². Porém, a amplitude foi menor no grupo Controle do que nos grupos Mamona e Quitosana.

Tabela 15 – Medidas de dispersão relativas à área de corte nos três grupos experimentais

<i>Grupo</i>	<i>Nº</i>	<i>s</i>	<i>s²</i>	<i>a</i>	<i>IC(95%)</i>	<i>Valor P (teste de Levene)</i>
D-C	6	1,79	3,22	3,95	(1,02; 5,61)	0,918
D-M	7	1,71	2,91	4,77	(1,00; 4,63)	
D-Q	7	1,77	3,14	5,02	(1,04; 4,81)	

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: D-C representa o grupo controle, D-M representa o grupo mamona, e D-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Sobre a composição dos grupos, vale salientar que a área de corte para as duas peças oriundas do mesmo animal (uma do grupo Mamona e outra do grupo Quitosana) apresentaram dispersão destacada em relação ao restante das peças que compuseram tais grupos. Este fato provocou o aumento substancial nas estimativas da tabela 15. Quando tais medições foram removidas da análise, por deixarem a suspeita de que elas poderiam afetar a homogeneidade entre os grupos quanto a área de corte, ficou evidente a mudança nas estimativas, conforme pode-se verificar na tabela 16.

Os valores das áreas de corte para as referidas peças foram de 10,7 cm² e 10,8 cm². As figuras 29 e 30 mostram os intervalos de confiança para os desvios padrão em ambos os casos, com e sem os dados descartados, respectivamente. Embora haja uma aparente diferença entre as amplitudes dos desvios padrão calculados para os três grupos, o resultado do teste de Levene sugere que não há falta de homogeneidade entre os grupos em ambas as situações, uma vez que o valor é P=0,918 para a amostra completa e P=0,146 após descarte dessas peças.

Tabela 16 – Medidas de dispersão relativas à área de corte nos três grupos experimentais após descarte das peças 13D e 13E

<i>Grupo</i>	<i>Nº</i>	<i>s</i>	<i>s²</i>	<i>a</i>	<i>IC(95%)</i>	<i>Valor P (teste de Levene)</i>
D-C	6	1,79	3,22	3,95	(1,02; 5,61)	0,146
D-M	6	0,43	0,19	1,01	(0,25; 1,36)	
D-Q	6	0,48	0,23	1,18	(0,27; 1,51)	

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: D-C representa o grupo controle, D-M representa o grupo mamona, e D-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Figura 29 – Gráficos dos valores individuais da área de corte por grupo experimental (dotplot), e de Intervalo de confiança de 95% para desvio padrão

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de pontos (dotplot) que permite avaliar a dispersão dos dados. A: gráfico com intervalos de confiança, B: gráfico dos valores individuais

Figura 30 – Gráficos dos valores individuais da área de corte por grupo experimental (dotplot), após descarte das peças 13D e 13E, e dos Intervalos de confiança de 95% para desvio padrão

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Gráfico de pontos (dotplot) que permite avaliar a dispersão dos dados. A: gráfico com intervalos de confiança, B: gráfico dos valores individuais

5.2.2 Força e deformação no Limite elástico

O limite elástico é definido como o momento em que se iniciam as alterações estruturais e graficamente pode ser expresso como o ponto em que a curva deixa de ser linear. A determinação desse momento é imprecisa e existem diferentes formas de se estimar esse valor. No presente estudo foi utilizado o Método de Johnson.

Durante a avaliação dos resultados pode-se notar a presença de valores extremos (máximo e mínimo muito diferentes) e, portanto, a avaliação da média dos

resultados tornar-se-ia não representativa do conjunto de valores, e, dessa forma, optou-se pela avaliação e ilustração da mediana nos gráficos e tabelas. A mediana representa o valor central quando distribuímos todos os valores do conjunto de dados, ou seja, metade dos valores do conjunto são maiores ou iguais a mediana e consequentemente, metade dos valores do conjunto são menores ou iguais a mediana.

5.2.2.1 Força no limite elástico (FLE)

A força no limite elástico é a carga suportada no momento em que se iniciaram as alterações estruturais no conjunto peça/implantes.

O gráfico 7 ilustra os valores de mediana da força no limite elástico aferidos pela célula de carga da máquina de ensaios biomecânicos.

Gráfico 7 – Força avaliada no limite elástico

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Valores de mediana da força em Newtons (N) no limite elástico dos diferentes grupos, avaliados pela célula de carga da máquina de ensaios biomecânicos

Os cálculos apresentados na tabela 17 são indicativos de que a Força no limite elástico (FLE) difere estatisticamente de um grupo para outro. Notamos que as diferenças entre as medianas são bem expressivas, e que a variação das medidas dentro de cada grupo medida pela diferença entre valores máximo e mínimo também

é acentuada, o que faz com que o poder de distinção entre os grupos diminua. Apesar disso, foi constatada diferença significativa entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis ($P=0,0003$).

A tabela 18 sintetiza as evidências decorrentes das comparações múltiplas (entre grupos com referência ao grupo controle). Enquanto a diferença entre os grupos Mamona e Controle não foi significativa ($P>0,05$), entre Quitosana e Controle houve maior distinção nas medições de FLE ($P<0,05$).

Tabela 17 – Valores da mediana, mínimo e máximo para FLE (N) em cada grupo e Valor P relativo ao teste de Kruskal-Wallis

<i>Grupo</i>	<i>Nº</i>	<i>Mediana</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Valor P (Teste de Kruskal-Wallis)</i>
D-C	6	1008	763	1473	0,0003
D-M	7	4653	2193	7496	
D-Q	7	8804	6584	13471	

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: D-C representa o grupo controle, D-M representa o grupo mamona, e D-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Tabela 18 – Evidências decorrentes das comparações múltiplas para dados de FLE.

<i>Grupos comparados</i>	<i>Evidência</i>	<i>Valor P</i>
D-C / D-M	Não há diferença	$P>0,05$
D-C / D-Q	Há diferença	$P<0,05^*$

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: D-C representa o grupo controle, D-M representa o grupo mamona, e D-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Como observado na tabela 18 e no gráfico 7, houve diferença estatística entre os grupos, contudo apenas o grupo quitosana diferiu do grupo controle, suportando maior carga no momento em que se iniciam deformações plásticas ($P < 0,05$).

5.2.2.2 Deformação no limite elástico (DLE)

O gráfico 8 a seguir ilustra os valores de mediana da deformação no limite elástico entre os diferentes grupos.

Gráfico 8 – Deformação avaliada no limite elástico

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Valores de mediana da deformação em milímetros (mm) no limite elástico, avaliados pelo deslocamento do eixo da máquina de ensaios biomecânicos.

Como observado no gráfico 8, os diferentes grupos apresentaram valores distintos numericamente, contudo o grupo quitosana apresentou valores próximos de deformação aos do grupo controle.

Os cálculos apresentados na tabela 19, para DLE indicam que no teste de Kruskal-Wallis houve diferença significativa entre os grupos ($P=0,038$) e as comparações múltiplas sinalizam que o grupo Mamona diferiu estatisticamente do grupo Controle ($P<0,05$), enquanto o grupo Quitosana não diferiu ($P>0,05$). De fato, a diferença entre as medianas foi maior entre Mamona e Controle (1,64 mm e 1,26 mm respectivamente) do que entre Quitosana e Controle (1,26 mm e 1,38 mm respectivamente).

A tabela 20 sintetiza as evidências decorrentes das comparações múltiplas (entre grupos com referência ao grupo controle). Enquanto a diferença entre os grupos Quitosana e Controle não foi significativa ($P>0,05$), entre Mamona e Controle houve maior distinção nas medições de FLE ($P<0,05$).

Tabela 19 – Valores da mediana, mínimo e máximo para DLE (mm) em cada grupo e Valor P relativo ao teste de Kruskal-Wallis

<i>Grupo</i>	<i>Nº</i>	<i>Mediana</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Valor P (Teste de Kruskal-Wallis)</i>
D-C	6	1,64	1,29	2,00	0,038
D-M	7	1,26	0,98	1,48	
D-Q	7	1,38	0,93	1,62	

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: D-C representa o grupo controle, D-M representa o grupo mamona, e D-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Tabela 20 – Evidências decorrentes das comparações múltiplas para dados de DLE

<i>Grupos comparados</i>	<i>Evidência</i>	<i>Valor P</i>
D-C / D-M	Há diferença	P<0,05*
D-C / D-Q	Não há diferença	P>0,05

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: D-C representa o grupo controle, D-M representa o grupo mamona, e D-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

5.2.3 Força e deformação máximas

A carga e a deformação máximas do conjunto peça/implantes foram aferidas no momento em que a peça anatômica deixou de apresentar resistência conforme a deformação causada com a aplicação de carga pela máquina de ensaios biomecânicos. Na prática, isso ocorre quando o valor de força deixa de aumentar enquanto que a deformação continua aumentando.

Em duas peças isso não ocorreu. Em uma delas esse valor foi determinado pelo momento em que as duas corticais se encostaram e, a partir daí o valor encontrado não mais apresentaria aplicabilidade clínica. Na outra peça o valor foi o limite de carga aplicado pela máquina de ensaios.

5.2.3.1 Força máxima no ponto de ruptura (Fmax)

O Gráfico 9, a seguir, ilustra os valores médios de força máxima no momento de ruptura entre os diferentes grupos.

Gráfico 9 – Força avaliada no ponto de ruptura

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Valores de mediana da força em Neltons (N) no ponto de ruptura, avaliados pela célula de carga da máquina de ensaios biomecânicos

Na sequência, as tabelas 21 e 22 sintetizam evidências relativas às medidas de força máxima (Fmax) as quais também apresentaram diferença entre os grupos ($P=0,003$) pelo teste de Kruskal-Wallis. Os grupos Mamona e Quitosana diferiram do grupo Controle conforme exposto na tabela 22. A resistência das peças à carga na condição Controle é bem inferior do que nas demais condições experimentais (1660N para Controle, 15187N para Mamona e 11012N para Quitosana) e as estatísticas apresentadas na Tabela 21 indicam que no grupo Mamona a variação das medidas foi maior (entre 7172 N e 18739N), apesar da mediana superior sugerir que pode ser uma condição cuja resistência à carga seja maior.

Tabela 21 – Valores da mediana, mínimo e máximo para Fmax (N) em cada grupo e Valor P relativo ao teste de Kruskal-Wallis

Grupo	Nº	Mediana	Mínimo	Máximo	Valor P (Teste de Kruskal-Wallis)
D-C	6	1660	1470	2114	0,003
D-M	5	15187	7172	18739	
D-Q	7	11012	9680	17923	

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: D-C representa o grupo controle, D-M representa o grupo mamona, e D-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Tabela 22 – Evidências decorrentes das comparações múltiplas para dados de Fmax.

Grupos comparados	Evidência	Valor P
D-C / D-M	Há diferença	$P<0,05^*$
D-C / D-Q	Há diferença	$P<0,05^*$

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: D-C representa o grupo controle, D-M representa o grupo mamona, e D-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

5.2.3.2 Deformação máxima no ponto de ruptura (Fmax)

O gráfico 10 a seguir ilustra os valores de mediana da deformação máxima no momento de ruptura entre os diferentes grupos.

Gráfico 10 – Deformação avaliada no ponto de ruptura

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Legenda: Valores de mediana da deformação em milímetros (mm) no ponto de ruptura, avaliados pelo deslocamento do eixo da máquina de ensaios biomecânicos.

A tabela 23 mostra os resultados relativos à deformação máxima – Dmax - provocada no conjunto peça/implantes. A amplitude entre o valor mínimo e máximo ressalta a variação nas medições de Dmax para o grupo Mamona (entre 1,85 N/mm e 13,34 N/mm), bem superior a dos demais grupos. Além disso, também nesse grupo ocorreram duas situações em que o deslocamento atingido foi extremo, sendo descartado para não distorcer a composição do grupo e por não fazer sentido prático. Neste sentido, as medições realizadas no grupo Quitosana se mostraram as mais homogêneas entre os três grupos, sendo aquele cujas medições de Dmax ficaram entre 1,71 mm e 3,02 mm. Como mencionado acima, verificamos diferença significativa no padrão de variação de um grupo para outro no caso do deslocamento máximo.

A diferença de Dmax entre os grupos foi estatisticamente significativa pelo teste de Kruskal-Wallis ($P=0,017$). Porém, quando comparados ao grupo Controle,

dois a dois, não se verificou diferença entre Mamona e Controle ($P>0,05$), mas, sim, entre Quitosana e Controle ($P<0,05$), conforme tabela 24. Tal aspecto pode ser explicado pela alta variação no grupo Mamona, com peças apresentando baixo deslocamento e outras com muito deslocamento máximo, e pelo fato do grupo Quitosana apresentar dados numa faixa estreita, de baixo deslocamento e inferior a do grupo Controle.

Tabela 23 – Valores da mediana, mínimo e máximo para Dmax em cada grupo e Valor P relativo ao teste de Kruskal-Wallis

<i>Grupo</i>	<i>Nº</i>	<i>Mediana</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Valor P</i> <i>(Teste de Kruskal-Wallis)</i>
D-C	6	5,40	3,97	6,32	0,017
D-M	5	11,98	1,85	13,34	
D-Q	7	2,16	1,71	3,02	

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: D-C representa o grupo controle, D-M representa o grupo mamona, e D-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

Tabela 24 – Evidências decorrentes das comparações múltiplas para dados de Dmax.

<i>Grupos comparados</i>	<i>Evidência</i>	<i>Valor P</i>
D-C / D-M	Não há diferença	$P>0,05$
D-C / D-Q	Há diferença	$P<0,05^*$

Fonte: (MOREIRA, R. C., 2014)

Nota: D-C representa o grupo controle, D-M representa o grupo mamona, e D-Q representa o grupo quitosana, todos dos ensaios não destrutivos

6 DISCUSSÃO

A presente pesquisa teve como método o estudo biomecânico em laboratório, que nos possibilitou algumas avaliações. Contudo apresentou limitações quanto ao comportamento desses biomateriais *in vivo*. Seus resultados nos trazem informações importantes, que dão suporte para futuros estudos aplicados. Dessa forma, a partir desses resultados, pode-se fazer sugestões com relação à sua aplicabilidade clínica.

6.1 METODOLOGIA

Como descrito anteriormente, as amostras de ossos foram coletadas de cadáveres, imediatamente após a morte ou eutanásia dos animais, e os ensaios biomecânicos foram realizados posteriormente. As amostras necessitaram ser armazenadas sem que ocorresse perda de suas propriedades biomecânicas. Para isso, foi utilizado o congelamento da amostra embebida em solução NaCl 09%, como descrito por An e Bensen (2000), e descongeladas em temperatura ambiente e submersas em solução salina isotônica. Esse método de armazenamento possibilitou a otimização da preparação das peças e da realização dos ensaios biomecânicos.

O osso o terceiro metacarpiano de equinos se mostrou de fácil utilização no presente estudo por vários motivos.

Como observado por Les et al. (1998), para mimetizar em estudo biomecânico, em laboratório, a carga compressiva aplicada ao terceiro metacarpiano quando o equino apresenta-se ao passo, deve-se aplicar a carga compressiva no centro do eixo ósseo, ou a 0,5cm medial ao centro do eixo. Devido a esse fato e a morfologia, semelhante a um cilindro, e ao dispositivo de fixação criado, pode-se fazer a aplicação da carga da maneira sugerida. Contudo é importante ressaltar que, por mais que o terceiro metacarpiano de equinos apresente sua morfologia semelhante a um cilindro, não é perfeitamente cilíndrica, e houve variação entre as diferentes peças utilizadas, impossibilitando a determinação matemática do eixo ósseo e, por

esse motivo, a determinação do local de aplicação da carga foi ajustada visualmente.

A morfologia do terceiro metacarpiano também facilitou a aplicação da placa bloqueada na face dorsal do osso, contudo devido às variações individuais, já citadas, o alinhamento da placa também foi visual. Nesse aspecto, é importante ressaltar que durante uma osteossíntese o alinhamento da placa ao eixo ósseo também é feito desta maneira.

Alguns estudos biomecânicos, como o realizado por Rocha (2003), utilizaram modelos ósseos perfeitamente cilíndricos, que evitam essas variações individuais, contudo, nesse estudo optou-se pela utilização de extensômetros aderidos à superfície óssea e para ter uma real avaliação das cargas aplicadas à superfície óssea com os extensômetros, deve-se utilizar o tecido ósseo, já que esse apresenta características biomecânicas próprias, diferentes dos modelos ósseos.

O uso da placa bloqueada permitiu que a mesma fosse implantada ao osso antes mesmo da confecção da falha. Devido a fixação dos parafusos às placas, no momento da criação das falhas não ocorreu perda do alinhamento entre os fragmentos e, dessa forma, o ensaio biomecânico pôde ser realizado de modo que a carga aplicada no fragmento ósseo fosse transmitida ao biomaterial com a mesma intensidade por toda a superfície de contato entre eles.

O uso dos extensômetros permitiu a avaliação das deformações aplicadas em diferentes locais do osso, bem como na placa utilizada. Dessa forma, ao saber o módulo de elasticidade do material da placa e do tecido ósseo nas regiões avaliadas, foi possível determinar a carga aplicada nessas regiões.

Como observado por Moreira (2008), para se determinar o módulo de elasticidade dos materiais é necessário a avaliação biomecânica desses materiais, utilizando-se corpos de prova com formato determinado e metodologia padronizada, contudo não foi o objetivo desse estudo. O mesmo autor avaliou o módulo de elasticidade do tecido ósseo de diferentes regiões do terceiro metacarpiano de equinos, o que possibilitou estimar as cargas aplicadas à superfície óssea com o uso de extensômetros.

Segundo Oh et al. (2010) o fator que mais influencia na resistência biomecânica de uma osteossíntese com falha óssea é a proporção da área de contato entre os fragmentos ósseos e não a distância entre os fragmentos. Dessa maneira, optou-se pela criação de uma falha completa, sem nenhum contato entre

os fragmentos. A distância utilizada de 1cm possibilitou a criação da falha e, também o preenchimento com os biomateriais utilizados sem dificuldades técnicas

6.2 ENSAIOS NÃO DESTRUTIVOS

6.2.1 Validação do método de ensaios não destrutivos

Por se tratar de um estudo biomecânico, onde são feitas análises matemáticas, é necessário que o método utilizado exclua ao máximo a quantidade de variáveis, como por exemplo, as encontradas em um estudo *in vivo*. Nesse aspecto, os ensaios não destrutivos permitiram avaliações repetidas de modo a melhorar a confiabilidade dos dados coletados. Para que isso acontecesse fundamental que durante o ensaio não ocorressem deformações permanentes, o que resultaria no ensaio subsequente resultados bastante distintos do anterior e; para que não ocorresse deformações permanentes, o ensaio biomecânico foi interrompido antes de atingir o limite elástico.

Segundo Nordin e Frankel (2001), por definição, o limite elástico é o momento em que se iniciam as deformações plásticas no material quando esse é submetido a uma carga, contudo a determinação desse exato momento não é precisa. Existem alguns métodos para se estimar esse momento. No presente estudo foi utilizado o método de Johnson, que mostrou-se mais adequado para os ensaios utilizando diferentes materiais que compuseram o objeto testado, que neste estudo foi a peça anatômica com placa, parafusos, falha óssea e biomateriais. Há de se ressaltar que trata-se de uma estimativa, já que o valor calculado para limite elástico para o grupo controle foi de 1008,497N, que é um valor próximo ao valor de 1000N determinado para os ensaios não destrutivos e que, com a avaliação da repetitividade dos ensaios não destrutivos, em todas as grandezas estudadas os resultados se repetiram nos ensaios da mesma peça dentro do mesmo grupo, comprovando que não houve deformação plástica.

Ainda considerando o método utilizado, pôde-se observar que mesmo estipulando, anteriormente aos ensaios não destrutivos, o limite de carga máxima

em 1000N, houve uma variação na carga observada pela célula de carga, de modo que apenas o grupo controle teve os valores de carga estatisticamente iguais ao valor de 1000N. Esse fato ocorreu, provavelmente, devido ao equipamento necessitar de um determinado tempo para poder paralisar a máquina e quanto mais rígido é esse objeto ensaiado maior é a variação da carga observada. Isso ocorre, pois, materiais muito rígidos suportam cargas mais elevadas para que ocorra uma deformação em sua forma e um pequeno deslocamento da máquina leva a aferição de cargas mais elevadas.

Essa maior rigidez da peça com falha preenchida por quitosana, observada, provavelmente se deve à maior rigidez da quitosana, assim como observado por Van De Graaf (2012) quando avaliou biomecanicamente a quitosana e a poliuretana de mamona individualmente.

6.2.2 Deformações observadas

Apesar dos extensômetros avaliarem apenas as deformações relativas de um material no determinado local onde são fixados, a intensidade dessas deformações esta diretamente relacionada com a intensidade da carga em que é submetido esse mesmo material.

Como as placas utilizadas foram de mesma marca e modelo, foram confeccionadas com o mesmo material e, dessa forma, foi possível, com o uso de extensômetros, comparar as deformações entre todas as peças, contudo não foi possível extrapolar os valores obtidos para outros estudos com placas confeccionadas com outro material.

Como citado por Currey (2003), segundo lei de Wolff, o osso se adapta às cargas a ele aplicadas alterando sua arquitetura e seu material. Dessa forma, ossos de diferentes indivíduos apresentam diferentes propriedades mecânicas, impossibilitando sua comparação. Considerando esse fato, no presente estudo, utilizou-se, no ensaio não destrutivo, a mesma peça para os diferentes grupos, evitando, assim, as variações individuais das propriedades biomecânicas.

Como sugerido por Nixon (1996), um dos fatores de grande importância que leva aos baixos índices na consolidação de fraturas em equinos é a falha dos

implantes e, segundo Oh et al. (2010), as falhas ósseas influenciam diretamente na resistência e estabilidade de uma osteossíntese. Dessa forma, animais de grande porte com fraturas com perda de contato entre os fragmentos, representam um grande desafio para se chegar ao sucesso na consolidação dessa fratura. Desta maneira, entende-se que seria de fundamental importância o preenchimento dessas falhas, e nesse estudo tanto a mamona quanto a quitosana mostraram-se benéficas quanto à diminuição das deformações na placa, que reduziram cerca de 85% e 96% respectivamente quando aplicamos cargas de até 1000N.

Quando um animal de elevado peso corpóreo apoia seu peso em um membro fraturado, esse peso é transmitido pelos fragmentos através do contato entre eles e pelo implante utilizado para a osteossíntese. Quando não existe contato suficiente entre os fragmentos, a carga é transmitida apenas pelo implante que, tende a se deformar, levando a movimentação no foco da fratura que, segundo Hak et al. (2010), influencia negativamente na consolidação. Dessa forma, o preenchimento da falha óssea tanto com poliuretano de mamona quanto com quitosana levou a redução nas deformações para 14% e 3% respectivamente quando aplicamos cargas de até 1000N, quando comparados com o não preenchimento da falha. Desta maneira, se considerarmos apenas a biomecânica, o preenchimento de falhas ósseas com esses biomateriais pode trazer benefícios à consolidação óssea.

Quando avaliou-se as deformações ósseas ocorridas nas faces lateral e medial do fragmento distal pôde-se observar, que houve uma transmissão de forças pela falha aumentando a intensidade e modificando o sentido das deformações nessas regiões próximas à falha. Nesse aspecto sugere-se que para utilizar um biomaterial para o preenchimento de falhas ósseas, seria importante avaliar a integridade dos fragmentos ósseos próximos à falha, pois como há transmissão dessas forças, a superfície óssea próxima a falha é submetida a cargas que, sem o preenchimento da falha, não seria exigida.

Segundo Moreira (2008), o módulo de elasticidade médio do tecido ósseo compacto nas superfícies lateral e medial do osso terceiro metacarpiano são em média iguais a 6093,73MPa. Dessa forma, pode-se estimar que, com a carga de 1000N as superfícies lateral e medial do osso onde foram fixados os extensômetros apresentaram tensões máximas de 0,31N/mm² e 0,16N/mm² respectivamente no grupo controle, 0,42N/mm² e 0,40N/mm² no grupo mamona e 0,20N/mm² e 0,03N/mm² no grupo quitosana.

Ainda considerando as deformações ocorridas no fragmento distal, pôde-se notar que as deformações aferidas pelo extensômetro palmar nos grupos testados, que se localizava entre o 3º e 4º parafusos, aproximadamente a 5,5cm da falha, não diferiram das do grupo controle, o que sugere que as cargas transmitidas através da falha pelos biomateriais não chegaram a causar alterações nesse local, devido à distância da falha ou à presença dos parafusos, o que reforça a ideia de que a transmissão de cargas pelo material de preenchimento tem maior influência no osso próximo à falha.

6.3 ENSAIOS DESTRUTIVOS

Os ensaios não destrutivos permitiram uma avaliação qualitativa do preenchimento da falha óssea com os biomateriais testados, contudo deve-se considerar que ao se trabalhar com animais de grande porte, que têm elevado peso corporal e não compreendem a importância de evitar excesso de carga sobre o membro acometido, é necessário que se faça também avaliações quantitativas a respeito da resistência desse preenchimento das falhas com os biomateriais. Nesse sentido, os ensaios destrutivos forneceram informações quanto a essa resistência, que serão discutidas a seguir.

6.3.1 Limite elástico

Quando o equino apoia pequena parte de seu peso corpóreo em um membro fraturado submetido a osteossíntese, o conjunto osso/implante sofrerá deformação elástica e retornará a seu formato inicial, sem levar a quebra do implante ou perda do alinhamento ósseo, mas se o equino colocar uma carga mais elevada, poderá ocorrer falha no implante, fratura dos fragmentos ósseos ou perda do alinhamento ósseo. Contudo, o equino não tem consciência da necessidade evitar cargas elevadas e, muitas vezes, utiliza o membro de maneira mais intensa. Considerando esse fato, o preenchimento das falhas com quitosana possibilitou um aumento da

força, que o sistema peça/implante foi capaz de suportar aproximadamente 7,5 vezes, chegando à 880kg, sem que ocorresse deformações permanentes.

No caso da poliuretana de mamona, mesmo observando-se um aumento de 3,5 vezes, chegando à cargas de aproximadamente 460kg, não houve diferença estatística com o grupo controle. Esse fato ocorreu devido a grande variação dos resultados obtidos que, provavelmente se deveu ao fato da variação da quantidade de bolhas formadas durante a polimerização que, segundo Lima et al. (2008) leva a alteração nas propriedades biomecânicas. Essa característica deve ser considerada pelo cirurgião no momento da escolha do biomaterial, já que a poliuretana de mamona mostrou resultados variáveis quanto a sua resistência. Van De Graaf (2012) avaliou por meio de ensaios compressivos a poliuretana de mamona compacta e porosa e também observou variação maior nas propriedades biomecânicas devido a presença de bolhas.

Mesmo não diferindo estatisticamente quanto à força no limite elástico em relação ao grupo controle, o preenchimento da falha óssea com poliuretana de mamona trouxe benefício quanto ao alinhamento do eixo ósseo já que apresentou menor deformação.

Ao considerarmos que a consolidação óssea é capaz de prosseguir com deformações de no máximo 10% no foco de fratura (HAK et al. 2010), uma falha óssea de um centímetro (1cm) sem contato entre os fragmentos suportaria no máximo uma deformação de 1mm. Utilizando-se apenas uma placa, como no experimento, essa deformação ocorre com uma carga inferior aos 1008,497N (aproximadamente 102kg) que é a força no limite de escoamento, onde a deformação foi 16,4%.

Fazendo um calculo aproximado, considerando que, segundo Dyce et al. (1997), um equino adulto com aproximadamente 500kg sustenta 60% do seu peso nos membros torácicos, assim, pode-se considerar que cada membro torácico desse equino suporta em torno de 150kg (aproximadamente 1470N) quando esse animal apresenta-se em estação com os quatro membros apoiados. Dessa forma, mesmo sem considerar a movimentação do animal e outros fatores, o uso de uma placa, semelhante à utilizada no experimento, para uma fratura com falha óssea sem contato entre os fragmentos, seria incapaz de suportar o peso desse mesmo equino sem que ocorresse deformação permanente na placa. Utilizando-se do mesmo cálculo, pode-se imaginar que o uso da mesma placa e o preenchimento da falha

tanto com poliuretana de mamona quanto com quitosana associada a fosfato de cálcio teria potencial para suportar o peso do mesmo animal nas mesmas condições sem que ocorresse deformação permanente no sistema osso/implantes. Contudo, vale ressaltar, que não foram encontrados na literatura trabalhos que indiquem essas condições de carga sobre o osso terceiro metacarpiano com o cavalo em estação sem se movimentar. Sendo que, ao longo do dia o equino altera a intensidade e o padrão das cargas em cada membro, tornando esses cálculos insuficientes para uma avaliação real.

Segundo Lês et al. (1998) o osso terceiro metacarpiano é submetido a cargas de 7500N e 15000N quando o equino está em caminhada ou trote, respectivamente. Considerando esses valores, apenas o preenchimento com quitosana, de uma falha nas mesmas condições desse estudo, seria capaz de suportar a carga de um equino em caminhada sem que ocorresse dano estrutural osso/implante/biomaterial. Considerando esses valores de carga e a variação na carga suportada no limite elástico, seria fundamental o uso de algum tipo de suporte adicional no caso do preenchimento desse tipo de falha com a poliuretana de mamona, como por exemplo, gesso ou suspensão do animal, mesmo confinado em baia.

6.3.2 Fase de deformação plástica

Quando se aplica uma carga superior ao limite elástico do sistema osso/implante ocorrem deformações permanentes que podem resultar em perda do alinhamento ósseo ou então falha total do sistema osso/implante. Em todos os grupos, ocorreram apenas a perda do alinhamento ósseo, contudo mesmo após as deformações permanentes o sistema era capaz de suportar carga até seu ponto de ruptura. Nesse aspecto a poliuretana de mamona se destacou por ser capaz de suportar maior carga até seu ponto de ruptura mostrando-se um material mais dúctil quando comparado à quitosana, que se mostrou mais frágil, apesar de ser mais resistente até seu limite de elasticidade. Essa característica biomecânica da poliuretana de mamona sugere que na prática poderia ocorrer, mais facilmente, em cargas mais elevadas (maiores que o limite de escoamento) a perda do alinhamento ósseo, mas sem perda total da capacidade de suporte de carga, diferentemente da

quitosana que com uma carga pouco maior que seu limite de escoamento levaria a uma perda total da capacidade de suporte de carga. Esse comportamento biomecânico corroborou com os resultados obtidos por Van De Graaf (2012), que avaliou o comportamento biomecânico de diversas formulações de poliuretana de mamona e quitosana associada a fosfato de cálcio.

Em duas peças não foi possível a determinação dos valores de deslocamento máximo. Uma das peças com falha preenchida com poliuretana de mamona ocorreu deformação plástica muito grande e os fragmentos ósseos entraram em contato antes de ocorrer a ruptura, ilustrando a grande capacidade da poliuretana de mamona em suportar a aplicação de carga mesmo após seu limite de escoamento. Na outra peça, com falha preenchida com quitosana associada ao cimento de fosfato de cálcio, a carga suportada foi tão grande que excedeu o limite da máquina de ensaios biomecânicos de aproximadamente 4000kg, ilustrando a grande capacidade de suporte de carga por parte da quitosana.

7 CONCLUSÕES

- O preenchimento de falha óssea com os biomateriais utilizados trouxe benefícios biomecânicos à osteossíntese de modo que aumentaram a resistência e a rigidez do conjunto implante ortopédico/biomaterial/osso.
- O preenchimento da falha óssea permitiu também redução nas cargas em que o implante foi submetido, contudo levou a um aumento da carga sobre a superfície óssea próxima a falha.
- As propriedades biomecânicas do preenchimento das falhas com os biomateriais permitem sugerir que a quitosana apresenta possibilidade de trazer maior benefício no preenchimento de falhas ósseas de equinos.

REFERÊNCIAS

- ALHADLAQ, A.; MAO, J. J. Mesenchymal stem cells: isolation and therapeutics. **Stem Cells and Development**, v.13, n. 4, p. 436-448, 2004.
- AN, Y. H. DRAUGHN, R. A. **Mechanical testing of bone and the bone-implant interface**. New York: PRC Press, 2000. p. 87-102.
- AUER, J. A. Principles of fracture treatment. In: AUER, J. A; STICK, J. A. **Equine surgery**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2012. p. 1047-1080.
- AUER, J. A.; VON RECHENBERG, B.; BOHNER, M.; HOFMANN-AMTENBRINK, M. Bone grafts and bone replacements. In: AUER, J. A; STICK, J. A. **Equine Surgery**. 4th ed. St. Louis: Elsevier, 2012. p.1081-1095.
- BERTONE, A. L. Metacarpo e metatarso, In: STASHAK T. S. **Claudicação em equinos segundo Adams**. 5. ed. São Paulo: Roca, 2006. p. 749-779.
- BISCHOFBERGER, A. S.; FÜRST, A.; AUER, J.; LISCHER, J. Surgical management of complete diaphyseal third metacarpal and metatarsal bone fractures: Clinical outcome in 10 mature horses and 11 foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 41, n. 5 , p. 465-473, 2009.
- BOLSON, J.; SCHOSSLER, J. E.; ORNES, R. C.; MOTTIN, V.; ALBERTI, T. Análise clínica, radiológica, macroscópica e histológica do úmero de codornas domésticas (*Coturnix japonica*), submetido ao implante da poliuretana derivada do polímero de mamona (*Ricinus communis*). **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1123-1130, 2005.
- CALORI, G. M.; MAZZA, E.; COLOMBO, M.; RIPAMONTI, C. The use of bone-graft substitutes in large bone defects: Any specific needs? **Journal of Care Injured**, v. 42, p. 56-63, 2011.
- CELESTE, S. A.; RAHAL, S. C.; PEREIRA-JÚNIOR, O. C. M.; SEQUEIRA, J. L.; MELO, S. M. Resposta tecidual a implantes de discos de poliuretana de mamona nas formas pré-moldada ou biomassa moldada. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 12, p. 1089-1095, 2010.
- CERVANTES, C.; MADISON, J. B.; GARY, MILLER, G. J.; CASAR, R. S. An in vitro biomechanical study of a multiplanar circular external fixator applied to equine third metacarpal bones. **Veterinary Surgery**, v. 25, n. 1, p. 1-5, 1996.
- CORREIA, R. R. **Propriedades biomecânicas de dois padrões de sutura e dois tipos de fios aplicados às tenorrafias de equinos**. 2012. 69 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo 2012.
- CURREY, J. D. The many adaptations of bone. **Journal of Biomechanics**. v. 36 p. 1487–1495, 2003.

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, 2003.

DIMITRIOU, R.; JONES, E.; MCGONAGLE, D.; GIANNODIS, P. V. Bone regeneration: current concepts and future directions. **BMC Medicine**, v. 9, n. 66, p. 1-10, 2011

DORNBUSCH, P. T.; ARAUJO, I. G. R.; TASQUETTI, U. I.; PIMPÃO, C. T. PRADO, A. M. B.; HUSSNI, C. A. Avaliação radiográfica da aplicação do polímero de mamona em falhas ósseas induzidas em equinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 15, n. 1, p. 01-08, 2010.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSIND, C. J. G. **Tratado da anatomia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 446-475.

FERNEDA, A. B.; COSTA, R. R. C.; TITA, V.; PROENÇA, S. P. B.; CARVALHO, J.. PURQUERIO, B. M. Compression tests of castor oil polymer. **Materials research**, v. 9, n. 3, p. 327-334, 2006.

FERREIRA, M. P. **Comparação de osso cortical autógeno e implante ósseo cortical alógeno liofilizado, congelado a -70°C ou conservado em melna substituição de segmento diafisário do fêmur de gatos domésticos**. 2008. 139 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

FLORIN, M.; ARZDORF, M.; LINKE, B.; AUER, J. A. Assessment of stiffness and strength of 4 different implants available for equine fracture treatment: a study on a 201 oblique long-bone fracture model using a bone substitute. **Veterinary Surgery**, v. 34, p. 231-238, 2005.

GALIA, R. G.; ROSITO, R.; MELLO, T. M.; MACEDO, C. Uso de enxerto ósseo homólogo e heterólogo na diáfise femoral de ratos: comparação entre enxerto ósseo congelado e liofilizado. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 40, n. 3, p. 141-146, 2005

HAK, D. J.; TOKER, S.; YI, C.; TORESON, J. The influence of fracture fixation biomechanics on fracture healing. **Orthopedics**, v. 33, n. 10, 2010. Disponível em: <<http://www.healio.com/orthopedics/trauma/journals/ortho/%7Bb7c261a4-be60-4fb1-9c75-6ee2d395cdcf%7D/the-influence-of-fracture-fixation-biomechanics-on-fracture-healing#>>. Acesso em: 21 nov. 2013.

IGNÁCIO, H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; CHIERICHI, G. Uso da poliuretana derivada do óleo de mamona para preencher defeitos ósseos diafisários segmentares do rádio: estudo experimental em coelhos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 32, n. 10, p. 815-821, 1997.

IGNÁCIO, H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; CHIERICHI, G. utilização da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 32, n. 10, p. 815-821, 2002.

IM, G.; SHIN, Y. W.; LEE, K. B. Do adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have the same osteogenic and chondrogenic potential as bone marrow-derived cells?, **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 13, p. 845-853, 2005.

KHAN, Y.; YASZEMSKI, M. J.; MIKOS, A. G.; LAURENCIN, C. T. Tissue Engineering of Bone: Material and Matrix Considerations. **The Journal of Bone & Joint Surgery**, v. 90, n. 1 p. 36-42, 2008.

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

LARANJEIRA, M. C. M.; DE FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 187-191, 2009.

LEE, Y. M.; PARK, Y. J.; LEE, S. J.; KU, Y.; HAN, S. B.; CHOI, S. M.; KLOKKEVOLD, P. R.; CHUNG, C. P. Tissue engineered bone formation using chitosan/tricalcium phosphate sponges. **Journal of Periodontology**, v. 71, n. 3, p. 410-417, 2000.

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

LEVINE, D. G.; RICHARDSON, D. W. Clinical use of the locking compression plate (LCP) in horses: a retrospective study of 31 cases (2004–2006). **Equine Veterinary Journal**, v. 39, n. 5, p. 401-406, 2007.

LES, C. M.; STOVER, S. M.; TAYLOR, K. T.; KEYAKS, J. H.; WILLITSO, N. H. Ex vivo simulation of in vivo strain distributions in the equine metacarpus. **Equine Veterinary Journal**, v. 30, n. 3, p. 260-266, 1998.

LIMA, A. F. M.; RAHAL, S. C.; MULLER, S. S.; CORREA, M. C. E.; PADOVANI, C. R. Propriedades mecânicas do cimento ósseo e da poliuretana de mamona com e sem catalizador. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, p. 1061-1068, 2008.

LOPEZ, M. J.; MARKEL, M. D. Bone Biology and fracture healing. In: AUER, J. A.; STICK, A. J. **Equine surgery**. 4. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2012. p. 1025-1039.

MARKEL, M. D. Fracture biomechanics. In: NIXON, A. J. **Equine fracture repair**. Philadelphia: Saunders, 1996. p. 10-18.

MALTA, L. C.; SCARTON, R. B.; GOMES, A. G.; NÓBREGA, F. S.; BECK, C. A. C.; ALIEVI, M. M.; OLIVEIRA, L. O.; ROCHA, A. L. A.; FERREIRA, M. P. Atendimentos realizados na clínica de grandes animais no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande Do Sul no período de Janeiro de 2006 à dezembro de 2007. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008. Gramado. **Anais...** [S.l]: CONBRAVET, 2008.. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0408-1.pdf>. Acesso em: jul. 2013.

MARTINELLI JUNIOR, W. **Estudo histológico dos tecidos conjuntivo e osteóide em enxertos ósseos com polímero de mamona: estudo experimental em ratos**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Ciências Médicas - Universidade de Campinas, Campinas, 2011.

MARTINS, E. A. N.; INVERNIZZI, M. S.; CAMPOS, M. G. N.; TEODORO, P. A.; CONTIERI, M. B.; SILVA, L. C. L. C. Emprego de membrana de quitosana em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em equinos. **Ciência Rural**, v. 43, n. 10, p. 1824-1830, 2013.

MARTINS, E. A. N. **Estudo da biocompatibilidade do gel de quitosana associada ao fosfato de glicerol para reparação de defeitos osteocondrais induzidos experimentalmente na tróclea do talus de equinos**. 2010. 153 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

MCDUFFEE, L. A.; ANDERSON, G. I.; WRIGHT, G. M.; RYAN, D. A. J. In vitro heterogeneity of osteogenic cell populations at various equine skeletal sites. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 4, p. 277-284, 2006.

MEINEL, L.; KARAGEORGIOU, V.; FAJARDO, R.; SNYDER, B.; SHINDEPATIL, V.; ZICHNER, L.; KAPLAN, D.; LANGER, L.; VUNJAK-NOVAKOVIC, G. Bone tissue engineering using human mesenchymal stem cells: effects of scaffold material and medium flow annals of biomedical engineering. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 32, n. 1, p. 112-122, 2004.

MICLAU, T.; MARTIN, R. E. The evolution of modern plate osteosynthesis. *Injury* v. 28, n. 1, p. S-A3-S-A6, 1997.

MINITAB. **Minitab statistical software TM**. Release 16. [S.l]: MINITAB, 2012.

MOREIRA, R. C. **Estudo biomecânico do terceiro metacarpiano de equinos**. 2008. 55 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10137/tde-22042009-100210/>. Acesso em: 13 jul. 2010.

NANDI, S. K.; ROY, S.; MUKHERJEE, P.; KUNDU, B.; DE, D. K.; BASU, D. Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review. **Indian Journal Medical Research**, v. 132, p. 15-30, 2010.

NIXON, A. J. General considerations in selecting cases for fracture repair. In: NIXON, A. J. **Equine fracture repair**. Philadelphia: Saunders, 1996. p. 30-35.

NORDIN, M.; FRANKEL, V. H. Biomechanics of bone. In: BURSTEIN, A. H. **Basic biomechanics of the musculoskeletal system**. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001. 450 p.

NUNAMAKER, D. M. Basic principles of fracture treatment. In: FACKELMAN, G. E.; AUER, J. A.; NUNAMAKER, D. M. **Basic principles of equine osteosynthesis**. New York: Thieme, 1999. 743 p.

OH, J. K.; SAHU, D.; AHN, Y. H.; LEE, S. J.; TSUTSUMI, S.; HWANG, J. H.; JUNG, D. Y.; PERREN, S. M.; OH, C. W. Effect of fracture gap on stability of compression plate fixation: a finite element study. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 28, n. 4, p. 462-467, 2010.

OLIVIER, V.; FAUCHEUX, N.; HARDOUIN, P. Biomaterial challenges and approaches to stem cell use in bone reconstructive surgery. **Drug Discovery Today**, v. 9, n. 18, p. 803-811, 2004.

OLSSON, D. C.; PIPPI, N. L.; TORGOLI, G. K.; RAISER, A. G.;
Comportamento biológico de matriz scaffold acrescida de células progenitoras na reparação óssea. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2403-2412, 2008.

PARTRIDGE, K.; YANG, X.; CLARKE, N. M. P.; OKUBO, Y.; BESSHO, K.; SEBALD, W.; HOWDLE, S. M.; SHAKESHEFF, K. M.; OREFFO, R. O. C. Adenoviral BMP-2 transfer in mesenchymal stem cells: in vitro and in vivo bone formations on biodegradable polymer scaffolds. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 292, p. 144-142, 2002.

PIEREZAN, F.; RISSI, D. R.; RECH, R. R.; FIGHERA, R. A.; BRUM, J. S.; BARROS, C. S. L. Achados de necropsia relacionados com a morte de 335 eqüinos: 1968-2007. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 275-280, 2009.

PRIESTER, W. A.; MANTEL, N. Occurrence of tumors in domestic animals. data from 12 united states and canadian colleges of veterinary medicine. **Journal of National Cancer Institute**, v. 47, n. 6, p. 1333-1345, 1971.

REDDI, A. H. Morphogenesis and tissue engineering of bone and cartilage: inductive signals, stem cells, and biomimetic biomaterials. **Tissue Engineering**, v. 6, n. 4, p. 351-365, 2000.

REYES, M.; LUND, T.; LENVIK, T.; AGUIAR, D.; KOODIE, L.; VERFAILLIE, C. M. Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. **Blood**, v. 98, n. 9, p. 2615-2625, 2001.

RICHARDSON, D. W. Less invasive techniques for equine fracture repair and arthrodesis. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 24, n. 1, p. 177–189, 2008.

ROCHA, C. O. J. M. Comparação da **avaliação mecânica de compressão axial em seis modelos de fixadores esqueléticos externos confeccionados com barras estabilizadoras de polimetacrilato de metila ou de madeira e parafusos de aço inoxidável 304**. 2008. 63 p. (Dissertação, Mestrado em Medicina Veterinária) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Soropédica, 2008.

SOD, G. A.; MARTIN, G. S. An In vitro biomechanical comparison of a prototype intramedullary pin-plate with a dynamic compression plate for equine metacarpophalangeal arthrodesis. **Veterinary Surgery**, v. 33, p. 83-91, 2004.

SOD, G. A.; MITCHELL, C. F.; HUBERT, J. D.; MARTIN, G. S.; GILL, M. S. In vitro biomechanical comparison of locking compression plate fixation and limited-contact dynamic compression plate fixation of osteotomized equine third metacarpal bones. **Veterinary Surgery**, v. 37, n. 3, p. 283–288, 2008

SOUZA, V. F.; LIMA, L. M. C.; REIS, S. R. A.; RAMALHO, L. M. P.; SANTOS, J. N. Células-tronco: uma breve revisão. **Revista Ciências Médicas Biológicas**, v. 2, n. 2, p. 251-256, 2003

SPIN-NETO, R.; PAVONE, C.; FREITAS, R. M.; MARCANTONIO, R. A. C.; MARCANTONIO-JÚNIOR, E. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 37, n. 2, p. 155-161, 2008.

STATSOFT. **Statistica data analysis software system**. Version 8.0. [S.l]: STATSOFT, 2007.

SZIVEK, J. A.; GHARPURAY, V. M. Strain gauge measurements from bone surfaces. In: AN, Y. H.; DRAUGHN, R. A. **Mechanical testing of bone and the bone-implant surface**. Florida: CRF Press, 2000. p. 305 - 320.

TEIXEIRA, H. M.; KURAMAE, M.; RAMALHO, L. T. O. Reação à resina vegetal de mamona sem carbonato de cálcio durante o processo de reparo em defeitos ósseos induzidos no corpo da mandíbula. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 28, n. 1, p. 63-72, 1999.

TROSTLE, S. S.; WILSON, D. G.; STONE, W. C.; MARKEL, M. D. A study of the biomechanical properties of the adult equine linea alba: relationship of tissue bite size and suture material to breaking strength. **Veterinary Surgery**, v. 23, n. 6, p. 435-441, 1994.

ULIAN, V.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; MORO, C. A.; DE OLIVEIRA, L. A. A. Estabilização primária da diáfise umeral: estudo experimental de diferentes

métodos de osteossíntese. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 16, n. 1, p. 08-12, 2008.

VAN DE GRAAF, G. M. M. **Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes formulações de poliuretana de mamona com carbonato de cálcio e de quitosana com fosfato de cálcio**. 2012. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

VERHEYEN, K. L. P.; WOOD, J. L. N. Descriptive epidemiology of fractures occurring in British Thoroughbred racehorses in training. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, n. 2, p.167-173, 2004.

VIDAL, M. A.; KILROY, G. E.; JOHNSON, J. R.; LOPEZ, M. J.; MOORE, R. M.; GIMBLE, J. M. Cell growth characteristics and differentiation frequency of adherent equine bone marrow-derived mesenchymal stromal cells: adipogenic and osteogenic capacity. **Veterinary Surgery**, v. 35, p. 601-610, 2006.

ZANOTO, G. M. **Avaliação do hidrogel de quitosana/glicerol fosfato como matriz de suporte para células tronco de equinos**. 2012. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

ZHANG, Y.; ZHANG, M. Three-dimensional macroporous calcium phosphate bioceramics with nested chitosan sponges for load-bearing bone implants. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 61, n. 1, p. 1-8, 2002.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663 p.

ZOPPA, A. L. V.; SANTONI, B.; PUTTLITZ, C. M.; COCHRAN, K.; HENDRICKSON, D. A. Arthrodesis of the equine proximal interphalangeal joint: a biomechanical comparison of 3-hole 4.5 mm locking compression plate and 3-hole 4.5 mm narrow dynamic compression plate, with two transarticular 5.5 mm cortex screws. **Veterinary Surgery**, v. 40, p. 253–259, 2011.