VANESSA COUTO DE MAGALHÃES FERRAZ

Avaliação radiográfica, histomorfométrica e de função de vôo após fixação de osteotomias distais de úmero em pombas (*Columba livia*), com modelo inédito de fixador externo articulado. Estudo comparativo de fixador transarticular dinâmico e estático

São Paulo

2008

VANESSA COUTO DE MAGALHÃES FERRAZ

**Avaliação radiográfica, histomorfométrica e de função de voo
após fixação de osteotomias distais de úmero em pombas
(*Columba livia*), com modelo inédito de fixador externo
articulado. Estudo comparativo de fixador transarticular
dinâmico e estático**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária
da Faculdade de Medicina Veterinárias e
Zootecnia da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Medicina Veterinária

Departamento:

Cirurgia

Área de Concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Cássio Ricardo Auada Ferrigno

São Paulo

2008

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

8/9/08
BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2034
FMVZ

Ferraz, Vanessa Couto de Magalhães

Avaliação radiográfica, histomorfométrica e de função de voo após fixação de osteotomias distais de úmero em pombas (*Columba livia*), com modelo inédito de fixador externo articulado. Estudo comparativo de fixador transarticular dinâmico e estático / Vanessa Couto de Magalhães Ferraz. – São Paulo : V. C. M. Ferraz, 2008.

124 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2008.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.
Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Cássio Ricardo Auada Ferrigno.

1. Pombos. 2. Ortopedia. 3. Fraturas umerais. 4. Fixador articulado. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação radiográfica, esterológica e de função de vôo após fixação de osteotomias distais de úmero em pombas (*Columba Livia*), com modelo inédito de fixador externo articulado. Estudo comparativo de fixador transarticular dinâmico e estático", protocolo nº 889/2006, utilizando 14 (catorze) pombas, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Cássio Ricardo Auada Ferrigno, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Radiographic, stereologic and of flight function evaluation, after distal osteotomies of ulnerus in rock pigeons (*Columba livia*), with articulated external fixator model. Comparative study of dynamic and static transarticular fixator", protocol number 889/2006, under the responsibility of Prof. Dr. Cássio Ricardo Auada Ferrigno, utilizing 14 (fourteen) pigeons, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting).

São Paulo, 08 de agosto de 2006

Prof. Dr. José Luiz Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética-FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Vanessa Couto de Magalhães Ferraz

Título: Avaliação radiográfica, histomorfométrica e de função de vôo após fixação de osteotomias distais de úmero em pombas (*Columba livia*), com modelo inédito de fixador externo articulado. Estudo comparativo de fixador transarticular dinâmico e estático

Dissertação 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 Mestre em Medicina Veterinária

Data ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura _____

Julgamento: _____

“A grandeza de uma nação pode ser julgada pelo modo que seus animais são tratados.”

Mahatma Gandhi

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo o amor e dedicação com que me guiaram, sempre me apontando na direção certa, e ao Cássio; meu mestre, meu melhor amigo, meu maior amor!

AGRADECIMENTOS

Não há palavras para agradecer à todas as pessoas que usaram seu tempo e dividiram seus conhecimentos, sem esperar nada em troca, para me ajudarem a compor este projeto, pedacinho por pedacinho. Não só me auxiliaram com meus experimentos, mas com certeza me ensinaram muito mais do que eu poderia supor aprender quando decidi me dedicar a conquistar este título.

Ao Professor Luiz Augusto Coppi Maciel e à sua equipe por pacientemente me ensinarem sobre Estereologia, me explicarem o funcionamento do laboratório, e me ajudarem com o experimento, ainda que eu não tenha podido utilizar os resultados obtidos lá.

Aos técnicos da radiologia, Sr. Hugo Idalgo, Sr. Reginaldo Barbosa da Silva, Sra. Kátia Margareth Massoneto e Sr. Benjamin Ribeiro de Souza e à Dra. Silvana Maria Unruh por sempre arrumarem um tempinho para “encaixar” minhas aves, e sempre com muita simpatia.

Aos enfermeiro Sr. Jesus dos Anjos Vieira, Sr. Otávio Rodrigues dos Santos, Sr. Cledson Lelis dos Santos e Sr. José Miron Oliveira da Silva, por me ajudarem não somente com as cirurgias do experimento, mas por dedicarem tanto tempo e me ensinarem tanto com sua vasta experiência, aprendizado sem preço, que sempre levarei comigo.

Aos Drs. Rodrigo Benedetto e Dr. João Krummenerl que me ajudaram com os procedimentos anestésicos durante o experimento e fora dele, com tanta paciência, tantas vezes ficando até muito mais tarde do que deveriam.

Aos Srs. Geílson Atanázio da Silva e Gedeílson Jesus Atanázio por me ajudarem com a manutenção dos animais do experimento, e por sempre cuidarem dos meus animais com tanta dedicação e carinho!

Aos meus colegas e aos meus professores da Universidade da Florida, por tão pacientemente me aceitarem em seus laboratórios e em suas aulas, me ensinando tanto, em especial às enfermeiras do setor de animais exóticos, e à Dra. Debbie Meyers.

Às técnicas do laboratório do Prof. Dr. Wronski, Sras. Molly e Sarah, que me ensinaram e ativamente participaram do experimento, e sempre me divertiram durante longas horas no laboratório: espero que todos os seus desejos se realizem, sei que um dia serão ótimas profissionais nas suas áreas de estudo!

Ao Dr. José Saito, que me ajudou com sua grande experiência com implantes, na confecção dos fixadores desenvolvidos neste projeto.

Aos meus colegas e grandes amigos de laboratório LOTC: Kelly, Leandro, Dani e Marga, muito obrigada por tudo o que me ensinaram, e por todas as vezes que trabalharam dobrado para que eu pudesse ir à aulas ou fazer meu experimento. Excelentes profissionais, unidos por terem os mesmos princípios de trabalho e estudos, pela seriedade que tratam os casos e o carinho que tratam os pacientes, conquistaram o coração do professor e também o meu.

Aos meus queridos amigos incríveis, que me ensinaram tanto sobre a vida, e que estiveram comigo em alguns dos momentos mais felizes e também alguns dos mais difíceis. Que nunca me deixaram sozinha, estando perto ou longe.

Às minhas amigas queridas Tatiana (Lajes) e Daniele (Pans), que estiveram do meu lado, (às vezes na frente, me arrastando!) durante toda a faculdade e desde então, durante toda a minha vida. Que riram comigo e às vezes secaram minhas lágrimas, que sempre me apoiaram e nunca me julgaram. Você são minhas irmãs hoje e sempre!

À Professora Dra. Silvia Gaido Cortopassi, que não só gastou seu tempo anestesiando meus animais do projeto e tantos outros pacientes meus, como também me “adotou” provisoriamente. Obrigada por sua amizade!

Ao Professor Dr. Wronski, que mesmo sem me conhecer abriu as portas do seu laboratório, dividiu tantos conhecimentos e salvou parte do meu projeto. Ofereceu sua amizade, que eu sempre terei com muito carinho, e nunca esquecerei das sextas feiras, a cada quinze dias, pontualmente às 6 pm, no Market Street Pub!

Ao Professor Dr. Ramiro Isaza, que me recebeu na Universidade da Florida, e com isto abriu tantas portas para mim. Me ensinou tanto e se dispôs a co-orientar este projeto. Nunca me esquecerei daquele gavião, não só porque dele veio a inspiração para minha tese, mas porque aprendi muito sobre pacientes, e sobre como ser um bom professor. Meus sinceros agradecimentos!

À minha família, meus pais, irmãos e meu avô, meus melhores amigos, que sempre apoiaram todas as minhas decisões, muitas vezes sem concordar com elas. Que me ensinaram os valores e princípios que sempre levarei comigo. Que dividiram comigo muitas vitórias e também muitos fracassos, e que mesmo sem entender direito porque eu ainda levantava cedo e ia para a faculdade nos últimos três anos, apesar de já ter me formado, me estimularam até o fim. “Hoje é o primeiro dia do resto de nossas vidas!”

E por fim, ao Professor Dr. Cássio Ricardo Auada Ferrigno, meu orientador, desde o 3º. ano da faculdade, por me ensinar praticamente tudo o que sei em Medicina Veterinária, mas principalmente por me ensinar humildade, por me ensinar que nunca saberemos o suficiente, que sentar no chão e brincar com nossos pacientes não nos faz menos profissionais e sim mais humanos. Obrigada Cá, por partilhar minha vida, por estar ao meu lado, por acreditar em mim e sempre me estimular a seguir meus sonhos, onde quer que eles estejam.

RESUMO

FERRAZ, V. C. M. **Avaliação radiográfica, histomorfométrica e de função de voo após fixação de osteotomias distais de úmero em pombas (*Columba livia*), com modelo inédito de fixador externo articulado.** [Estudo comparativo de fixador transarticular dinâmico e estático. Radiographic, histomorphometric and of flight function evaluations after distal humeral osteotomies in pigeons (*Columba livia*), with inedit articulated external fixator. Comparative study of dynamic and static transarticular fixators]. 2008. 124 f. Dissertação (Mestrado de Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

O tratamento de fraturas umerais distais em aves impõe grande dificuldade, devido a córtices muito finas dos ossos. A artrodese com fixador externo da articulação úmero-rádio-ulnar é inviável para aves que se pretende reintroduzir ao meio ambiente. Doze animais foram divididos em dois grupos: cirurgias bilaterais com anquilose de uma asa (asa estática) e manutenção da articulação da outra (asa dinâmica) (grupo 1), e cirurgia unilateral, com manutenção da função da articulação (asa dinâmica), sendo a outra controle (asa intacta) (grupo 2). Foram feitas avaliações clínicas, radiológicas, morfológicas do osso, histomorfométricas (de ambos os grupos) e de capacidade de voo (grupo 2). A 6 semanas, todos os animais apresentavam fraturas consolidadas, com exceção de dois animais do grupo 1, que somente apresentaram consolidação das asas dinâmicas às 9 semanas e das estáticas às 12 semanas. Todos os animais do grupo 2 apresentaram capacidade de voo adequada, antes de 13 semanas após a cirurgia. No grupo 1 o úmero da asa dinâmica representava 99,1% do comprimento do da asa estática, e no grupo 2, estes eram 99,5% em relação à asa intacta. A amplitude da asa, no grupo 2, demonstrou que a relação da asa dinâmica/intacta foi de 93%, e no grupo 1 a relação asa dinâmica/estática foi de 105%. O volume do osso intacto foi de aproximadamente 29% da área estudada, enquanto o da asa estática foi de 19% e das asas dinâmicas, de 22%. Houve diferença entre o número de osteoblastos das asas intactas e dinâmicas, porém não houve diferença entre as asas estáticas e intactas e entre as dinâmicas e as estáticas, e também não houve diferença do número de osteoclastos entre nenhum tipo de asa. A razão da superfície óssea pelo volume ósseo indica a quantidade de áreas de reabsorção. Não houve diferença entre as asas estática e dinâmica, porém houve diferença entre estas e os controles. O método proposto de técnica para fixação de fraturas umerais distais, sem a anquilose da articulação úmero-rádio-ulnar, demonstrou ser efetivo em manter o comprimento ósseo, a amplitude da asa e assim, garantindo a capacidade de voo das aves tratadas, além de demonstrar ser equivalente histologicamente à técnica tradicional e mais estável de anquilose da articulação, para este tipo de fratura, e até mesmo, no período estudado, ser equivalente ao osso sã, sendo um método adequado para a reparação de fraturas distais de úmero em aves quando se pretende a reabilitação destes animais.

Palavras-chave: Pombos. Ortopedia. Fraturas Umerais. Fixador Articulado.

ABSTRACT

FERRAZ, V. C. M. Radiographic histomorphometric and of flight function evaluations after distal humeral osteotomies in pigeons (*Columba livia*), with inedit articulated external fixator. Comparative study of dynamic and static transarticular fixators. [Avaliação radiográfica, histomorfométrica e de função de vôo após fixação de osteotomias distais de úmero em pombas (*Columba livia*), com modelo inédito de fixador externo articulado. Estudo comparativo de fixador transarticular dinâmico e estático]. 2008. 124 f. Dissertação (Mestrado de Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

The treatment of humeral distal fractures in birds is very difficult, because these bones are very brittle. Ankylosis of the humeral-radio-ulnar joint with an external fixator is unviable for birds intended for re-habilitation and reintroduction. Twelve animals were used and they were divided in two groups: bilateral surgeries, with ankylosis of one wing (static wing) and maintenance of the joint function of the other wing (dynamic wing) (group 1), and unilateral surgery, with maintenance of the joint function of the wing (dynamic wing), and the other was used as control group (intact wing) (group 2). Clinical, radiographic, morphologic and histomorphometric evaluations of the wings and bones (of both groups) and of evaluations of flight capacity (in group 2) were made. At 6 weeks, all animals had healed fractures, except two animals in group 1, that only presented consolidation of the dynamic wing at 9 weeks and the static wings at 12 weeks. All animals in group 2 were capable of flying before 13 weeks after surgery. In group 1, the humerus of the dynamic wing was 99.1% the length of that of the static wing, and in group 2, these were 99.5% compared to the intact wing. Wing amplitude, in group 2, showed a dynamic/ intact ratio of 93%, and in group 1 the dynamic/ static wing ratio was 105%. The volume of the intact bone was approximately 29% of the studied area, while in the static wing it was of 19% and in the dynamic wing, 22%. There was a difference in the number of osteoblasts of the intact and dynamic wings, but there was no difference between static and intact, and between dynamic and static wings, and also, there was no difference in the numbers of osteoclasts between any wings. The bone surface/ volume ratio indicates the amount of resorption areas. There was no significant difference between static and dynamic wings, but there was a difference between static and intact wings. The proposed method of distal humeral fracture fixation technique, without ankylosis of the humerus-radius-ulna joint, demonstrated being effective in keeping bone length, wing amplitude e therefore, guaranteeing flight capacity of the birds treated, as well as being histologically equivalent to the tradicional, more stable, joint ankylosis technique, for thise kind of fracture, and even, for the studied period, being equivalent to healthy bone, being an adequate method for fracture repair for this kind of fracture in birds, when one intends rehabilitation of these animals.

Key - words: Pigeons. Orthopedics. Humeral Fractures. Articulated Fixator.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Amplitude de asa (asa dinâmica / asa estática) do grupo 1	72
Gráfico 2 - Peso proporcional do osso (asa dinâmica / asa estática) grupo 1	72
Gráfico 3 - Peso proporcional do calo ósseo (asa dinâmica / asa estática) do grupo 1	73
Gráfico 4 - Amplitude de asa (asa dinâmica / asa intacta) do grupo 2	73
Gráfico 5 - Peso proporcional do osso (asa dinâmica / asa intacta) do grupo 2	74
Gráfico 6 - Peso proporcional do calo ósseo (asa dinâmica/ asa intacta) do grupo	74
Gráfico 7 - Razão entre o peso dos ossos das asas dinâmicas/estáticas do grupo 1 e dinâmica/ intacta do grupo 2	75
Gráfico 8 - Razão entre o peso dos ossos das asas dinâmicas/estáticas do grupo 1 e dinâmica/ intacta do grupo 2	75
Gráfico 9 - Comparação, em porcentagem, dos volumes ósseo, de tecido fibroso, de osteóide, de vasos sanguíneos e cartilagem nas asas intactas do grupo 2	79
Gráfico 10 - Comparação, em porcentagem, dos volumes ósseo, de tecido fibroso, de osteóide, de vasos sanguíneos e cartilagem nas asas estáticas do grupo 1	79
Gráfico 11 - Comparação, em porcentagem, dos volumes ósseo, de tecido fibroso, de osteóide, de vasos sanguíneos e cartilagem nas asas dinâmicas dos grupos 1 e 2	80
Gráfico 12 - Comparação, em porcentagem, das superfícies de osteoblastos e osteoclastos observados junto às superfícies ósseas, nas asas intactas dos animais do grupo 2	80
Gráfico 13 - Comparação, em porcentagem, das superfícies de osteoblastos e osteoclastos observados junto às superfícies ósseas, nas asas estáticas dos animais do grupo 1	81
Gráfico 14 - Comparação, em porcentagem, das superfícies de osteoblastos e osteoclastos observados junto às superfícies ósseas, nas asas dinâmicas dos animais dos grupos 1 e 2	81
Gráfico 15 - Média da razão superfície óssea / volume ósseo, nos três grupos de asas: intactas, estáticas e dinâmicas	82

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A, Figura 1	- Modelo experimental de fixador articulado.....	113
Apêndice B, Figura 2	- Colocação trans-cirúrgica do fixador, com a colocação da barra média do fixador sobre o úmero, da primeira articulação do fixador, sobre o cotovelo, e das barras menor e maior sobre a ulna, com a segunda articulação do fixador permitindo ajustes trans-cirúrgicos do fixador para cada animal	114
Apêndice C, Figura 3	- Exame radiográfico de pós-cirúrgico imediato de asa dinâmica (Animal 1, Grupo 2)	115
Apêndice D, Figura 4	- Exame radiográfico da asa dinâmica, seis semanas após a cirurgia (Animal 1, Grupo 2)	116
Apêndice E, Figura 5	- Exame radiográfico de asa dinâmica, à eutanásia (Animal 1, Grupo 2)	117
Apêndice F, Figura 6	- Exame radiográfico, asa estática, imediatamente após a cirurgia (Animal 2, Grupo 1)	118
Apêndice G, Figura 7	- Exame radiográfico de asa estática, seis semanas após a cirurgia (Animal 2, Grupo 1)	119
Apêndice H, Figura 8	- Exame radiográfico de asa estática, à eutanásia (Animal 2, Grupo 1)	120
Apêndice I, Figura 9	- Úmero após dissecação, do animal 4, grupo 2 – asa dinâmica.....	121
Apêndice J, Figura 10	- Úmero após dissecação, do animal 4, grupo 2 – asa intacta	122
Apêndice K, Figura 11	- Úmero do animal 1, grupo 1 – asa dinâmica, após dissecação	123
Apêndice L, Figura 12	- Úmero do animal 1, grupo 1 – asa estática, após dissecação	124

LISTA DE FIGURAS

- Figura 13 - Calo ósseo de asa dinâmica, (animal 1, grupo 1) Mostrando osso cortical organizado, com diversos gaps de reabsorção, dentro dos quais se pode observar camada de osteóide (lilás) recobrindo as margens internas destes, e camada de osteoblastos (roxo escuro) recobrindo a anterior. (TF): Tecido fibroso em margem periostal, com fina camada de osteóide em toda a sua superfície (lilás) recoberta de osteoblastos (roxo escuro) e osteoblastos e células indiferenciadas entremeadas no tecido fibroso. Rachaduras de falha de técnica por todo o osso 84
- Figura 14 - Osso cortical de asa dinâmica (animal 3, grupo 1), com gaps de reabsorção menores e mais numerosos em margem endostal e coalescência de gaps, formando gaps maiores em margem periostal. Camada fina de osteóide (lilás) em fase avançada nas superfícies internas dos gaps, recoberta de camada de osteoblastos (azuis): ambas as camadas são maiores em região periostal. Grande área de reabsorção com larga camada de osteoblastos (roxo) em margem periostal..... 85
- Figura 15 - Osso cortical da asa dinâmica (animal 4, grupo 1). Cortical óssea com poucos grandes gaps de reabsorção, com superfícies internas revestidas de camada de osteóide e pequena camada de osteoblastos. Gaps repletos de células indiferenciadas. Em superfície endostal, formação de osso desorganizado (esquerda) e grande volume de tecido cartilaginoso (TC) em fase de mineralização (em preto, entremeando a cartilagem) 86
- Figura 16 - Asa dinâmica (animal 5, grupo 2) em que foi observado calo ósseo volumoso. Osso cortical desorganizado com muitos gaps de reabsorção de diversos tamanhos e finas camadas de osteóide em fase inicial, recobertas por camadas de osteoblastos em apenas alguns gaps. Grande quantidade de células indiferenciadas dentro dos gaps e ao redor do osso. Intersecção de tecido cartilaginoso (TC) e início de mineralização do mesmo, com formação óssea. Algumas rachaduras do material por falha da técnica 87
- Figura 17 - Úmero (animal 5, grupo 2): asa dinâmica 87
- Figura 18 - Osso cortical (animal 1, grupo 1). Detalhe de trabéculas ósseas (T), com tecido cartilágneo formando osso (células cartilágneas entremeadas em cortical desorganizada). Fina camada de osteóide (lilás) recobrindo trabéculas e larga camada de osteoblastos (Ob) sobre a anterior. Muitos sinusóides (Ss) presentes. Grande quantidade de células indiferenciadas entremeando as trabéculas 89
- Figura 19 - Asa estática (animal 3, grupo 1) em que foi observado calo ósseo avantajado. Osso cortical desorganizado com grandes gaps de reabsorção e formação óssea, recoberto por larga camada de

	osteóide (O)(lilás), contendo muitos osteócitos (Ot), e recoberta por larga camada de osteoblastos (Ob). Células indiferenciadas no interior dos gaps. Alguns sinusóides (Ss)dentro dos gaps	90
Figura 20 -	Úmero (animal 3, grupo 1); asa estática	90
Figura 21 -	Osso cortical (animal 3, grupo 2) com baixa porosidade e baixa celularidade. Observa-se pouca alteração tanto endostal quando periosteal	91
Figura 22 -	Demonstração de como foi realizada a técnica de histomorfometria. A imagem de cada lâmina foi observada em tela de computador, utilizando-se de placa para digitalização e mouse, para delinear as áreas recobertas por osso (em azul), cartilagem (em cor salmão), tecido fibroso (em verde), etc., sendo que este traçado foi feito em cada quadrado menor (por exemplo: A 1), e ao final, o programa de computador OsteoMeasure [®] calculou valores totais para cada lamina	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação radiográfica dos animais do grupo 1, segundo escala adaptada de Silva (1998) 1 - Fratura completa com irregularidade nas linhas dos fragmentos. 2 - Ponte cortical/ linha radiotransparente na falha entre os fragmentos. 3 - Ponte cortical completa/ sem linha radiotransparente. 4 - Início de remodelação	65
Tabela 2 - Avaliação radiográfica dos animais do grupo 2 segundo escala adaptada de Silva (1998): 1 - Fratura completa com irregularidade nas linhas dos fragmentos. 2 - Ponte cortical/ linha radiotransparente na falha entre os fragmentos. 3 - Ponte cortical completa/ sem linha radiotransparente. 4 - Início de remodelação	66
Tabela 3 - Grupo 1. Comprimento do úmero em cm, relação do comprimento do úmero de asa dinâmica dividido pela asa estática (ad/ae). Peso do úmero em gramas divididas pelo comprimento em centímetros, relação desta valor para asa dinâmica dividido pelo valor da asa estática (ad/ae). Peso apenas do calo ósseo em gramas dividido pelo comprimento em centímetros e relação entre asa dinâmica e asa estática (ad/ae) deste valor. Amplitude da asa, medida entre a porção proximal do úmero e a mais distal da ulna, em linha reta, e relação deste valor entre asa dinâmica e asa estática (ad/ae)	70
Tabela 4 - Grupo 2 Comprimento do úmero em cm, relação do comprimento do úmero de asa dinâmica dividido pela asa estática (ad/ae). Peso do úmero em gramas divididas pelo comprimento em centímetros, relação desta valor para asa dinâmica dividido pelo valor da asa estática (ad/ae). Peso apenas do calo ósseo em gramas dividido pelo comprimento em centímetros e relação entre asa dinâmica e asa estática (ad/ae) deste valor. Amplitude da asa, medida entre a porção proximal do úmero e a mais distal da ulna, em linha reta, e relação deste valor entre asa dinâmica e asa estática (ad/ae)	71
Tabela 5 - Porcentagens de volume ósseo, volume de tecido fibroso, superfície de osteoblastos próximos ao osso, volume de osteóide, volume de vasos sanguíneos, volume de cartilagem, superfície de osteoclastos e razão da superfície óssea pelo volume ósseo em mm^2/mm^3 , nas asas intactas dos animais do grupo 2	76
Tabela 6 - Porcentagens de volume ósseo, volume de tecido fibroso, superfície de osteoblastos próximos ao osso, volume de osteóide, volume de vasos sanguíneos, volume de cartilagem, superfície de osteoclastos e razão da superfície óssea pelo volume ósseo em mm^2/mm^3 , nas asas estáticas dos animais do grupo 1	77
Tabela 7 - Porcentagens de volume ósseo, volume de tecido fibroso, superfície de osteoblastos próximos ao osso, volume de osteóide, volume de vasos sanguíneos, volume de cartilagem, superfície de osteoclastos e razão da	

superfície óssea pelo volume ósseo em mm^2/mm^3 , nas asas dinâmicas dos animais dos grupos 1 e 2	78
Tabela 8 - Relação entre asa estática e intacta, entre asa estática e dinâmica e entre asa intacta e dinâmica, nos diferentes aspectos avaliados, com nível de significância de 5%	94

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVOS	22
2.1	Hipóteses	22
2.2	Limitações	22
3	REVISÃO	24
3.1	Função e fisiologia óssea em aves	25
3.2	Princípios de ortopedia em aves	27
3.3	Processos de consolidação óssea em aves	28
3.4	Técnicas ortopédicas em aves	33
3.4.1	Fixadores externos em aves	35
3.5	Fraturas umerais	37
3.6	Complicações de fraturas em aves	39
3.7	Estado da arte do tratamento de fraturas ósseas em aves	40
3.8	Técnicas de avaliação de consolidação óssea	44
3.8.1	Radiologia	44
3.8.2	Histomorfometria	44
4	MATERIAL E MÉTODO	47
4.1	Animais	48
4.2	Preparação pré-experimental	48
4.3	Protótipo experimental	48
4.4	Delineamento experimental	49
4.4.1	Técnica anestésica	50
4.4.2	Preparação cirúrgica	51
4.4.3	Técnica cirúrgica	51
4.4.4	Tratamento pós cirúrgico	52
4.4.5	Analgesia e cuidados pós operatórios	52
4.5	Avaliação radiográfica	53
4.6	Avaliação clínica	54
4.7	Avaliação da função	54
4.8	Avaliação da morfologia óssea	55
4.9	Histologia	55
4.9.1	Fixação do tecido ósseo	55

4.9.2	Processo de emblocamento de osso não descalcificado	56
4.9.2.1	<i>Soluções de emblocamento</i>	56
4.9.2.2	<i>Preparação de lâminas gelatinizadas</i>	58
4.9.3	Seccionamento	59
4.9.4	Coloração	59
4.9.4.1	<i>Corante de tetracromo</i>	59
4.9.4.2	<i>Protocolo de coloração</i>	60
4.9.5	Procedimentos de osteomensuração	61
4.10	Análise Estatística	61
5	RESULTADOS	63
5.1	Clínicos e radiológicos	64
5.2	Avaliação de vôo	67
5.3	Morfologia óssea	67
5.3.1	Comprimento do úmero	67
5.3.2	Peso do úmero	67
5.3.3	Peso do calo ósseo	68
5.3.4	Amplitude de asa	68
5.4	Análise histomorfométrica	83
5.4.1	Asas Dinâmicas	83
5.4.2	Asas Estáticas	88
5.4.3	Asas Intactas	91
5.5	Estatística	93
5.5.1	Morfometria	93
5.5.2	Osteometria	93
6	DISCUSSÃO	95
7	CONCLUSÕES	106
	REFERÊNCIAS	108
	APÊNDICES	112

1 INTRODUÇÃO

O processo pelo qual os ossos das aves crescem ou se remodelam, é comumente extrapolado dos conhecimentos que se tem de mamíferos. Tully (2002) procurou explicitar as principais diferenças entre estas duas classes tão distintas de animais. Ele salienta que o conhecimento da anatomia e fisiologia do sistema ósseo das aves é fundamental para o tratamento, prognóstico para cura, e função e até mesmo para a educação de proprietários, no tratamento de lesões ortopédicas.

Os princípios gerais de ortopedia se aplicam às aves, tais como fixação rígida, alinhamento anatômico do osso, retorno precoce à função e baixa morbidade. As aves apresentam algumas características importantes quanto à reparação ortopédica: seus ossos apresentam córtices finos e frágeis, o que resulta em menor fixação óssea de implantes; menos tecidos moles cobrindo os ossos, sendo que os suprimentos sanguíneo e nervoso apresentam lesões, após fraturas ósseas, mais comumente do que em mamíferos; e as fraturas normalmente são expostas, sendo a porção exposta do osso geralmente não-viável, e, se incorporada à fixação, pode causar seqüestro ósseo; enxertia é pouco usada, pois há pouco osso esponjoso disponível; e, por fim, em fraturas de membros posteriores deve-se restituir o apoio rapidamente, já que os animais são bipedais. (HELMER; REDIG, 2006).

Martin e Ritchie (1994) afirmam que há poucos estudos sobre os processos de consolidação óssea após fraturas em aves, porém geralmente denota-se que a taxa de consolidação depende do deslocamento dos fragmentos, da abrangência da lesão vascular, da presença de agentes infecciosos e da mobilidade da fratura. Fraturas estabilizadas com placas ósseas, ou seja, com estabilidade absoluta, apresentaram calo ósseo mínimo, como é também visto em mamíferos. Fraturas bem estabilizadas e alinhadas nas aves tendem a consolidar mais rapidamente do que em mamíferos.

Fraturas pobremente alinhadas apresentam poucas mudanças entre quatro e doze semanas, enquanto fraturas bem estabilizadas remodelam rapidamente no mesmo período de tempo. Vetores mínimos de força causam níveis indetectáveis de movimentos, que podem lesar o crescimento de leitos capilares, retardando a consolidação da fratura, sendo que esta tem menor probabilidade de ocorrer em fraturas altamente cominutivas (MARTIN; RITCHIE, 1994).

Segundo Bush (1983), um bom método para fixação de fraturas ósseas em aves de médio e grande porte é a utilização de fixadores externos. As vantagens da fixação externa incluem diminuição do tempo cirúrgico e anestésico, facilidade de colocação e extração, menor lesão vascular, menor taxa de infecção, menor necessidade de materiais especializados, fixação rígida, cuidados pós operatórios mínimos, ajustes de tensão e alinhamento são possíveis em alguns tipos de fixadores, retorno precoce à função, além de praticamente não causar interferência no foco de fratura.

Os fixadores externos promovem calo endostal, o que é benéfico, pois calo ósseo periostal muito desenvolvido pode afetar a atividade muscular, evitando o retorno ao vôo. Este tipo de fixação também permite retorno à função em algumas fraturas de úmero, não interferindo na amplitude do movimento das articulações, mantendo assim função da asa e comprimento do osso (BUSH, 1983).

Fraturas em porção distal de úmero, ou seja, até dois a três diâmetros de cortical de distância dos côndilos, devido à sua anatomia, apresentam encavalamento, e, portanto necessitam de intervenção cirúrgica, não sendo suficientes, técnicas não invasivas, na maioria das vezes. (COLES, 1996, HELMER; REDIG 2006).

Há poucos trabalhos na literatura estudando osteossíntese ou até mesmo os processos fisiológicos que levam à consolidação óssea em aves, e não há trabalhos que estudem a manutenção funcional do uso da asa em tratamento de fraturas distais de úmero.

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram avaliar se o novo fixador articulado leva à consolidação de fraturas distais de úmero em aves, se após este tratamento, a função de vôo é recobrada e comparar a consolidação óssea com o uso deste fixador em fixação instável, constituída de fixador externo trans articular dinâmico (mantendo a movimentação articular), em comparação à anquilose da articulação usando o mesmo tratamento, porém usando o fixador de maneira estática (sem a manutenção da movimentação articular).

2.1 Hipóteses

- Se o fixador articulado é viável para a osteossíntese em asas
- Se o fixador articulado leva à consolidação em fraturas distais de úmero
- Se os animais tratados com fixador articulado adquirem capacidade de vôo após a retirada do implante.
- Se os resultados observados são iguais ou melhores para o tratamento com fixador articulado em comparação ao estático

2.2 Limitações

- O teste de vôo foi realizado em espaço limitado não havendo a possibilidade de real mensuração quantitativa do vôo, apenas qualitativa.
- Tomografia computadorizada do osso para análise da densidade óssea teria sido de grande valia para a análise do calo ósseo.
- As fraturas foram realizadas experimentalmente, sob a forma de osteotomias trans-cirúrgicas, mimetizando um cenário ideal para a consolidação. Não se pode avaliar quão próximos os resultados seriam de situações reais de fraturas.

- O tipo de lesão estudado é comum em aves de rapina. O modelo utilizado neste estudo foram pombos, porém não se pode precisar a evolução de fraturas tratadas desta maneira para outras espécies.

Revisão Bibliográfica

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Função e fisiologia óssea em aves

O sistema ósseo das aves tem duas funções básicas: a de suporte para a musculatura e a de reservatório para cálcio e fósforo. A porção mineral do osso é responsável pela resistência a forças de compressão, enquanto a fibra orgânica suporta forças de torção e arqueamento. O remodelamento ósseo ocorre de maneira semelhante ao dos mamíferos, garantindo que, depois de formados, os ossos mantenham sua forma e tamanho, enquanto contribuem para a homeostasia de minerais (TULLY, 2002).

Os ossos longos das aves se desenvolvem pela ossificação endocondral. A camada pericondral é composta de fibroblastos, mais externos, que formam tecido conjuntivo, e de células mesenquimais, mais internas, em multiplicação. Estas células hipertrofiam, e com o tempo acumulam glicogênio, produzindo matriz extracelular que aumenta o osso mineralizado pela expansão osteoblástica. Ocorre desenvolvimento simultâneo da vascularização óssea e diferenciação celular pericondral. A calcificação ocorre devido à secreção de fosfatase alcalina pelos condrócitos e esta é essencial para o processo de mineralização, enquanto sua inibição interrompe o processo de calcificação. Os osteoclastos agem sobre a cartilagem calcificada, e esta é preenchida por células que formarão a medula óssea, e osteoblastos. Uma vez formada, a cavidade medular permanece inalterada, enquanto o perióstio é eternamente remodelado (TULLY, 2002).

Nas aves, o principal regulador do crescimento ósseo é o hormônio do crescimento (GH); este estimula a liberação de fator de crescimento insulina dependente 1 (IGF-1), que age principalmente em condrócitos em divisão, e em células totipotentes. Este fator também estimula a síntese de colágeno e proteoglicanas. Outros fatores envolvidos neste processo incluem o fator de crescimento fibroblástico, e fator de crescimento transformador β , e estes, conjuntamente estimulam a proliferação e diferenciação de condrócitos (TULLY, 2002).

O osso é formado por colágeno, impregnado com cristais de hidroxiapatita, conferindo a esta proteína e conseqüentemente ao osso, dureza capaz de suportar grande carga compressiva. As fibras de colágeno variam em diâmetro, dependendo da espécie animal, e

da área do osso em que se encontram. Em animais mais velhos, as fibras normalmente tornam-se mais largas em diâmetro e encontram-se agrupadas. A deficiência de ácido ascórbico causa a formação de colágeno defeituoso. Quando o colágeno é formado de maneira adequada, o osteóide se transforma em osso totalmente mineralizado. De uma a duas semanas, o colágeno formado na fratura de galinhas é o do tipo I, que contém três vezes mais hidroxilisina do que é encontrado no osso normal de aves adultas. Após oito semanas da fratura, a hidroxilisina cai para níveis normais. O colágeno do tipo I pode ser produzido por osteoblastos de aves adultas e de animais jovens, em crescimento (TULLY, 2002).

Osteoblastos são células fibroblásticas, que compõe uma única camada na superfície óssea. Nas áreas de grande formação de matriz óssea, eles se apresentam colunares e agrupados, enquanto em áreas de quiescência, apresentam-se compactos. Durante o desenvolvimento ósseo, os osteoblastos produzem matriz desmineralizada (osteóide ou colágeno tipo I). Esta matriz é composta principalmente de colágeno (90% do conteúdo orgânico) e posteriormente torna-se mineralizada, porém sempre existe uma fina camada de matriz não mineralizada entre osso e osteoblastos (TULLY, 2002).

Os osteoclastos agem reabsorvendo a matriz mineral do osso remodelando-a. Os hormônios relacionados à remodelação óssea nas aves são; o paratormônio, peptídeo de paratormônio e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Demonstrou-se que durante a reparação de fraturas em galinhas, os níveis plasmáticos de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ estão diminuídos, enquanto os níveis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ no tecido do calo estão aumentados (TULLY, 2002).

Os hormônios que inibem a reabsorção óssea são a calcitonina e a proteína relacionada ao gene de calcitonina. Os estrógenos, glicocorticoides e retinóides também representam papel importante na remodelação óssea. Aves com fraturas, que foram concomitantemente tratadas com estrógenos, apresentaram calo ósseo mais fraco e de maior diâmetro, devido à instabilidade do sítio de fratura (TULLY, 2002).

Apesar de haver controle genético da configuração da córtex, influências externas e internas podem alterar sua largura, a quantidade de osso esponjoso ou de trabéculas e a quantidade de osso membranoso no crânio (TULLY, 2002).

3.2 Princípios de ortopedia em aves

Os princípios gerais de ortopedia se aplicam às aves, sejam eles, fixação rígida, alinhamento anatômico, retorno precoce à função e baixa morbidade. As principais diferenças observadas na reparação ortopédica nas aves são o fato de seus ossos apresentarem córtices finos e frágeis, o que resulta em menor fixação óssea de implantes; menos tecidos moles cobrindo os ossos, o que significa que os suprimentos sanguíneo e nervoso são mais comumente lesados; e as fraturas normalmente são expostas, sendo a porção exposta do osso geralmente não-viável, e, se incorporada à fixação, pode causar seqüestro ósseo; enxertia é pouco usada, pois há pouco osso esponjoso disponível; e, por fim, em fraturas de membros posteriores deve-se restituir o apoio rapidamente, já que os animais são bipedais (HELMER; REDIG, 2006).

Problemas que normalmente não se aplicam aos animais domésticos devem ser considerados no tratamento de aves, especialmente aves selvagens, e estes incluem; contenção, seja ela física ou química, anestesia, higidez, na maioria das vezes os animais estão debilitados, onde e como este animal será mantido após o ato cirúrgico, infecções, instrumentos adequados, localização da fratura, sendo que muitas fraturas ocorrem próximas às articulações, artrodese de articulações nas asas, como é comum em mamíferos, não é plausível quando se pretende retorno à função, deformidades na porção distal do úmero sofrem magnificação na ponta da asa, experiência do cirurgião e cuidados pós operatórios (HELMER; REDIG, 2006).

A reabilitação pós operatória é vital, porém há poucas informações confiáveis sobre este assunto, mesmo que possa ser o fator decisivo para o sucesso da cirurgia. Aumentos progressivos na amplitude de movimento e exercícios devem ser encorajados quando se pretende o retorno à vida livre. Para garantir a re-vascularização local, melhorando tecidos lesados e a consolidação óssea, técnicas ativas e passivas de reabilitação devem ser utilizadas assim que possível após a cirurgia. Fisioterapia deve ser instituída, incluindo exercícios voltados para aumentar a capacidade cardiovascular, aumentar amplitude de movimento de articulações e para aumentar a flexibilidade e tônus musculares (MARTIN; RITCHIE, 1994).

Adesões de ligamentos e tendões podem causar limitação do vôo, mesmo quando a fratura se resolveu por completo, isto ocorre principalmente quando as articulações são

imobilizadas por períodos prolongados. A natureza das fraturas também pode ser um fator determinante no prognóstico, sendo que em aves, diversas fraturas são cominutivas, devido à estrutura frágil de seus ossos. Mais de uma fratura ou ferimento: muitas injúrias são causadas por trauma, que resulta em lesões múltiplas (WITHROW, 1982; HELMER; REDIG, 2006).

3.3 Processos de consolidação óssea em aves

Martin e Ritchie (1994) afirmam que há poucos estudos sobre os processos de consolidação óssea após fraturas em aves, porém geralmente denota-se que a taxa de consolidação depende do deslocamento dos fragmentos, da abrangência da lesão vascular, da presença de agentes infecciosos e da mobilidade da fratura. Os autores citam que fraturas estabilizadas com placas ósseas, ou seja, com estabilidade absoluta, apresentaram calo ósseo mínimo, como é também visto em mamíferos, e concluem que a formação de calo é similar em aves e mamíferos. Fraturas bem estabilizadas e alinhadas nas aves tendem a consolidar mais rapidamente do que em mamíferos.

O suprimento sanguíneo dos ossos das aves origina-se no perióstio (vindo da musculatura e tecidos moles), canal medular e vasos metafisários e epifisários (MARTIN; RITCHIE, 1994).

Tully (2002) citam que há poucos estudos sobre as propriedades anatômicas e fisiológicas da reparação de fraturas ósseas em aves. Alguns dos estudos realizados procuraram determinar a morfologia durante a reparação, histomorfometria e análise angiográfica da recuperação óssea, e análises histológicas de diferentes métodos de reparação foram feitas. O tempo necessário para a cura total de fraturas ósseas em aves é inversamente proporcional à rigidez da imobilização feita.

A recuperação óssea é única, pois quando ocorre fratura, por trauma ou por osteotomia cirúrgica, o osso lesado regenera sua geometria estrutural e integridade biomecânica originais. O processo pelo qual a fratura se recupera é dividido em quatro fases: 1 – resposta inflamatória, 2 – recrutamento e diferenciação de células mesenquimais, levando à formação de cartilagem e osso, 3 – reabsorção de cartilagem e formação óssea primária, 4 – formação óssea secundária e remodelamento, no qual calo recém formado é moldado para

restaurar a estrutura anatômica e suportar cargas mecânicas. Após a lesão, é iniciada a resposta inflamatória. Os mediadores de receptores hematopoiéticos/ inflamatórios causam três ondas de reabsorção e remodelamento que ocorrem durante o curso da reparação óssea. Imediatamente após a lesão, ocorre influxo massivo de macrófagos e outras células associadas à resposta imune, quando a lesão necrótica e o hematoma começam a desaparecer (GERSTENFELD; EINHORN, 2006).

Os fatores inflamatórios são todos induzidos nos três primeiros dias. Após isto, os mediadores estão associados ao final da fase endocondral, quando a cartilagem mineralizada é removida, e se inicia a fase de deposição de osso primário. A próxima fase ocorre após a deposição de osso desorganizado, quando começa o remodelamento. A recuperação óssea resulta em aumento do fluxo sanguíneo para tecidos adjacentes (GERSTENFELD; EINHORN, 2006).

Há estudos que demonstram que forças de torção ou deslizamento introduzidas no local da fratura seletivamente levam à condrogênese e não à osteogênese, portanto instabilidade mecânica leva à persistência de cartilagem no foco de fratura. Também foi demonstrado que o tempo de recuperação bem como se uma fratura tenderá à união, são muito afetados por movimentos no foco e estabilidade da fixação, e também há dados que comprovam que alguns aspectos de estimulação mecânica promovem consolidação (GERSTENFELD; EINHORN, 2006).

O osso cortical é dividido em dois tipos anatômica e funcionalmente diferentes: endostal e periostal. O osso endostal tem maior atividade de remodelamento, possivelmente resultante de maior tensão mecânica que sofre. O osso periostal sofre crescimento aposicional e é importante na reparação de fraturas. A remodelação óssea ocorre em ciclos, e no osso cortical, estes se iniciam pela ativação de precursores de osteoclastos, de se tornam multinucleados e começam a reabsorção. Ao final desta fase, há invasão de preosteoblastos que se diferenciam e formam nova matriz, que eventualmente torna-se mineralizada. No osso esponjoso, o processo tende a ser mais lento, e este período foi descrito para humanos com uma fase de aproximadamente sete dias de reabsorção osteoclástica e 36 dias de reabsorção mononuclear, seguidas de migração de preosteoblastos que se diferenciam. A formação de osteóide ocorre por 15 dias antes do início da mineralização (ERIKSEN; AXELROD; MELSEN, 1994).

West et al. (1995) descrevem as alterações histológicas observadas em fraturas umerais em pombas tratadas apenas com bandagem em oito, da seguinte maneira:

- *4 dias após a fratura:*

- Endósteo: grossa camada de tecido conectivo solto com aumento substancial de arteríolas e vênulas. Celularidade marcadamente aumentada.

- Córtex: Neovascularização, originando da circulação extra medular.

- Periósteo: grossa camada de tecido conectivo fibroso com áreas de cartilagem hialina e fibrocartilagem. Celularidade aumentada. Vascularização levemente aumentada em relação ao normal.

- *7 dias após a fratura:*

- Cavidade intramedular: repleta de tecido conectivo e arteríolas e vênulas.

- Endósteo: celularidade aumentada e osso não modelado presente.

- Córtex: Presença de grandes lacunas de reabsorção / formação, contendo suprimentos sanguíneo notável e muitos osteoblastos com pouco osteoclastos.

- Periósteo: camada de tecido conjuntivo fibroso com maior vascularização. Próximo ao calo, áreas de cartilagem hialina e osso não modelado. Aumento do suprimento sanguíneo extra medular.

- *14 dias após a fratura:*

- Endósteo: vascularização extensiva. Osso não modelado presente. Vastos números de osteoblastos acompanhados de osteoclastos.

- Córtex: atividade aumentada, com osso lamelar e muitos ósteons. Grandes superfícies de reabsorção, com osteoblastos, osteoclastos e suprimento vascular.

- Periósteo: cercado por grossa camada de tecido conjuntivo fibroso vascularizado. Próximo ao córtex, presença de calo cartilaginoso (hialino) com pouca celularidade, porém numerosos osteoblastos, e pouca vascularização.

- *21 dias após a fratura:*

- Endósteo: grossa camada de tecido conjuntivo adjacente a áreas de osso não modelado recém formado. Numerosos osteoclastos e osteoblastos e grande vascularização.

- Córtex: Aumento no número de canais de reabsorção / formação, com pouca evidência de vasos transcorticais e presença de células osteoespecializadas.

- Periósteo: áreas esparsas de osso não modelado sem cartilagem, com muitos osteoclastos e osteoblastos e circulação abrangente.

- *28 dias após a fratura:*

- Cavidade intramedular: camada altamente vascularizada de tecido conjuntivo. Quantidade moderada de osso não modelado com numerosos osteoclastos e osteoblastos.

- **Córtex:** Aumento na celularidade e vascularização. Grandes espaços de reabsorção, contendo osteoblastos e osteoclóstos.

- **Periosteio:** Ausência de calo cartilaginoso. Tecido conjuntivo fibroso com extensa vascularização e celularidade.

- *45 dias após a fratura:*

- **Endosteio:** Ausência de osso não modelado. Presença de osteoclóstos e osteoblóstos

- **Cavidade intramedular** ainda com alta taxa de vascularização, porém sem calo.

Ocorrência de pontes ósseas.

- **Córtex:** Poucas células osteoespecializadas, sem vascularização, com números moderados de ósteon primário.

- **Periosteio:** Osso trabecular. Cercado de tecido conjuntivo fibroso altamente vascularizado com muitos osteoblóstos. Ausência de osso não modelado e calo cartilaginoso.

Quando avaliaram a vascularização do rádio e da ulna da mesma asa, observaram baixa vascularização quando comparados aos mesmos ossos de pombos clinicamente normais.

Os autores perceberam maior remodelamento cortical do endosteio e formação de camada fibrosa no periosteio, o que sugere baixa oxigenação do tecido, apesar da alta vascularização observada, possivelmente devido à instabilidade do foco de fratura, comum no tratamento com bandagem. Em momento algum, observaram circulação intramedular contínua entre os dois segmentos, porém observaram formação de ponte óssea, e sugeriram que possivelmente a circulação intramedular intacta não seja essencial para a formação do calo. Concluíram que se a osteossíntese não for estável, a ave não pode usar a asa precocemente durante o período de recuperação. A anquilose da articulação, perda muscular e tecido cicatricial resultantes de imobilização vão prevenir o voo adequado a normalmente levar à eutanásia. Portanto retorno precoce à função é imperativo para o sucesso da cirurgia (WEST et al., 1995).

Aparentemente os ossos apresentam consolidação clínica entre duas e três semanas anteriores a consolidação radiográfica, que ocorre em aproximadamente três a seis semanas. Em pombos, a consolidação de fraturas instáveis foi caracterizada por radiolucência aumentada do canal medular e, calos endostal e periosteal, presentes histologicamente em nove semanas (MARTIN; RITCHIE, 1994).

Fraturas pobremente alinhadas apresentaram poucas mudanças entre quatro e doze semanas, enquanto fraturas bem estabilizadas remodelam rapidamente no mesmo período

de tempo. Vetores mínimos de força causam níveis indetectáveis de movimentos, que podem lesar o crescimento de leitos capilares, impedindo a estabilização da fratura, e esta tem menor probabilidade de ocorrer em fraturas altamente cominutivas (MARTIN; RITCHIE, 1994).

Bush (1977), explicando a reparação óssea em aves cita trabalhos comparando esta à de mamíferos, através de estudos radiográficos e histológicos. O autor ventila que o principal calo ósseo nas aves é intramedular, e este provê um suporte rápido e rígido, em fratura bem alinhada e estável. Aparentemente o calo ósseo periosteal provê suporte secundário e não é tão extenso quanto o anterior. West et al. (1995) sugerem que a porção periosteal é mais ativa do que as outras na consolidação da fratura, sendo responsável pela estabilidade, enquanto o endóstio é responsável pelo remodelamento. Eles atribuem a maior parte da formação do calo ao perióstio.

Fraturas não estáveis ou por técnica de reparação que interferem com a formação de calo ósseo endosteal, como é o caso do pino intramedular ou do cimento ósseo intramedular retardam a consolidação óssea em aves (BUSH, 1977, 1983; WITHROW, 1982; LIND et al.; 1988; TULLY, 2002).

A cicatrização de fraturas em aves apresenta taxa similar à dos mamíferos, com médias de três semanas em fraturas bem alinhadas e estabilizadas (BUSH, 1977), há oito semanas. Estas taxas variam com estabilidade, aporte sanguíneo e infecção. Os achados radiográficos também são semelhantes aos de mamíferos, com formação de calo ósseo visível em duas a três semanas. Ossos pneumáticos, especialmente o úmero consolidam em tempo menor do que ossos medulares, como o rádio e a ulna. No atinente ao conceito de ossos pneumáticos fraturados liberarem ar contaminado nos tecidos e causando osteomielite é infundado, porém fraturas umerais podem causar enfisema subcutâneo, e este se resolve em 24 horas (WITHROW, 1982), conceito questionado por Coles (1996), que por sua vez, relata que o canal medular do úmero é conectado ao divertículo do saco aéreo clavicular, em sua porção proximal e fraturas múltiplas ou intervenções cirúrgicas realizadas nesta região podem levar à infecção de saco aéreo ou enfisema.

3.4 Técnicas ortopédicas em aves

Fixadores de Kirshner –Ehmer (K-E) podem causar fissuras nos córtices frágeis das aves, e, por conseguinte migração dos pinos e hastes, devido à perda da interface osso-implante, e infecções ascendentes. Estes também não devem ser usados para fraturas próximas à articulação nem em fraturas altamente cominutivas.

Outras técnicas de fixação menos rígidas, como o uso de talas e pinos podem apresentar bons resultados em aves de pequeno porte, porém podem tornar-se ineficazes em aves de grande porte, pois podem evitar o movimento da articulação, além da necessidade de imobilização prolongada, possíveis hematomas e a formação de calo ósseo exuberante inerentes a estas técnicas, resultam em aderências musculares, atrofia e anquilose da articulação, que impedem a amplitude de movimento da asa (BUSH, 1977; WITHROW, 1982).

Métodos para a fixação de fraturas em aves dependem do tipo de fratura. Fraturas de dígitos ou do tipo galho verde, em filhotes, podem ser tratadas simplesmente com o repouso dentro de gaiola. Em alguns poucos casos, pode-se utilizar talas e bandagens, pois, apesar de serem menos dispendiosas, o retorno à função é prolongado ou até mesmo nunca atingido, porém West et al. (1995) não recomendam o uso de bandagem em “oitos” para fraturas umerais. Elas podem ser utilizadas quando o retorno integral à função não for necessário, quando as fraturas são patológicas, devido a alterações metabólicas, quando os ossos são muito maleáveis e, portanto incapazes de ancorar implantes, quando o paciente é muito pequeno para a intervenção cirúrgica ou quando o risco anestésico ou cirúrgico é muito grande (MARTIN; RITCHIE, 1994; HELMER; REDIG, 2006).

A imobilização por pinos intramedulares apresenta grandes desvantagens, como por exemplo, se passado de forma retrógrada, o sítio de fratura deverá ser aberto, podendo acometer ainda mais o aporte sanguíneo para a região. Além disto, os ossos pneumáticos, como o úmero, apresentam canal medular extremamente largo, necessitando de um pino grande, ou vários menores, tornando a fixação pesada demais. Também a constituição óssea das aves representa dificuldade adicional, pois as porções proximal e distal dos ossos não são densas suficiente para o apoio dos pinos, portanto há a necessidade de outro apoio para evitar rotação do osso, tal como cerclagens ou hemicerclagens, apoios externos ou talas. Além disto, pinos intramedulares também podem prevenir ou evitar mecanicamente a

formação de calo ósseo intramedular, o mais importante nas aves (BUSH, 1977, 1983; WITHROW, 1982).

As placas e parafusos já foram usados em algumas ocasiões, porém a constituição muito leve e fina dos ossos das aves, além de seu tamanho diminuto na maioria das vezes, impede seu uso. Além disto, a lesão causada iatrogênicamente é muito maior, e requer que o animal permaneça sob anestesia durante um período muito mais longo de tempo do que para outras técnicas (BUSH, 1977).

Técnicas comuns como bandagens, pinos intramedulares e fixadores externos apresentam como desvantagens aplicação limitada para fraturas muito proximais ou distais de asa e causam tempo de convalescença pós-cirúrgica muito longo, culminando em até um ano em cativeiro. Hastes de polímero não eliminam instabilidade rotacional, sendo necessários outros métodos adicionais de fixação como cerclagens, talas e fixadores externos. Estudos demonstram que fraturas tratadas com fixadores externos têm resolução mais lenta que as tratadas com pino intramedular. O uso de cimento ósseo injetado no canal medular para tratamento de fraturas tem como vantagens seu peso leve e posicionamento e estabilidade imediatos. As desvantagens incluem necrose térmica, infecção e inibição da formação de calo ósseo (LIND; GUSHWA; VANEK, 1988) além de ser invasiva, determinando a permanência do implante (REDIG, 2000). As aves de até 500g tratadas por este método apresentaram vôo em seis a doze semanas (LIND; GUSHWA; VANEK, 1988).

Wander et al. (2000) descreveram o uso de pinos feitos a partir de osso cortical xenógrafo de aves (avestruzes) e de mamíferos (cães) para a fixação de fraturas umerais em aves, como forma de substituição de implantes não biodegradáveis. Obtiveram resultados semelhantes aos observados com o uso de pinos intramedulares comuns, que usaram nos membros contralaterais dos mesmos animais, como forma de controle quanto ao tempo de consolidação e biomecanicamente, porém com maior reação inflamatória nos membros com o implante ósseo xenógrafo, que, porém, não pareceu afetar a consolidação. Esta parece ser uma alternativa adequada para o uso de implantes internos que necessitam de um segundo ato cirúrgico para sua remoção.

3.4.1 Fixadores externos em aves

Segundo Bush (1983) um bom método para fixação de fraturas ósseas em aves de médio e grande porte é a utilização de fixadores externos uni ou bipolares, sendo que a segunda opção é preferencial. Fixadores externos apresentam barra principal à qual são presos os pinos, por diferentes meios, sejam eles; fibra de vidro, poliuretano ou clamps. Eles também podem se constituir de tubo preso aos pinos, que é então preenchido por metil metacrilato. A maior vantagem dos clamps é que ajustes podem ser feitos após a cirurgia, quando necessário. O peso do fixador deve ser consistente com o peso do paciente, e o tamanho do aparelho deve ser mínimo e este deve ser mantido o mais próximo da pele possível, e este deve ser protegido de algumas aves com bicos pontentes que podem destruí-lo (MACCOY, 1992).

As vantagens da fixação externa incluem diminuição do tempo cirúrgico e anestésico, facilidade de colocação e extração, menor lesão vascular, menor taxa de infecção, menor necessidade de materiais especializados, fixação rígida, cuidados pós operatórios mínimos, ajustes de tensão e alinhamento são possíveis em alguns tipos de fixadores, retorno precoce à função, além de praticamente não causar interferência no foco de fratura (BUSH, 1983). Segundo Alievi et al. (2001) as aves apresentam boa adaptação ao aparelho de fixação esquelética externa o que possibilita sua utilização por estes animais, sem prejuízos funcionais.

Os fixadores externos promovem calo endostal, o que é benéfico, pois calo ósseo periostal muito desenvolvido pode afetar a atividade muscular, evitando o retorno ao vôo. Este tipo de fixação também permite retorno à função em algumas fraturas de úmero, não interferindo na amplitude do movimento das articulações, mantendo assim função da asa e comprimento do osso (BUSH, 1983).

As desvantagens incluem o peso do aparelho e pinos e barras externos à pele, podendo causar lesões em tecidos moles do animal, incluindo fixação muscular (WITHROW, 1982; BUSH, 1983, MACCOY, 1992).

Usando manopla de Jacobs, os pinos devem ser inseridos através das corticais medulares com cuidado para evitar novas fraturas longitudinais no osso, e estes devem ser no máximo 20% o diâmetro do osso (MACCOY, 1992). O pino deve ser colocado perpendicularmente ao osso, fazendo-se várias rotações e mantendo-o sempre no mesmo

eixo. A colocação perpendicular é preferencial em aves, diferentemente do que se utiliza para mamíferos, devido à facilidade de alinhamento e compressão dos segmentos fraturados (WITHROW, 1982).

Nas montagens unipolares, o pino deve atingir a segunda cortical (WITHROW, 1982). Este método pode ser combinado com o uso de pino intramedular, tala de coaptação ou gesso sintético. No úmero, fixador externo deve ser unipolar e colocado em posição dorsal/lateral. Em algumas situações pode-se usar fixador híbrido: uni e bipolar. No antebraço, os pinos devem ser fixados na ulna, ao contrário de cães, nos quais o rádio é utilizado. Neste caso o fixador pode ser uni ou bipolar, ou ainda híbrido, dependendo da estabilidade necessária e do peso do aparelho. Em alguns casos é necessário o uso de fixador externo bipolar tipo II, como é o caso de fixações no aspecto medial de fraturas proximais do úmero e no aspecto medial em fraturas do fêmur. Opta-se pelo uso de pelo menos dois pinos de cada lado da fratura. Assepsia deve ser feita adequadamente em ambas as superfícies, no caso de fixadores bipolares. Os dois primeiros pinos devem ser posicionados distantes da fratura, proximal e distalmente e os próximos pinos serão colocados adjacente à fratura. Se for impossível alinhar os pinos com uma única barra, barras adicionais podem ser utilizadas (BUSH, 1977, 1983). Devido à cortex fina dos ossos das aves, os pinos devem ser posicionados a 45° graus de angulação entre pinos em um fragmento, para minimizar o risco de os pinos retrocederem, e os pinos próximos à articulação devem ser posicionados paralelos a esta (MACCOY, 1992). Pode se fazer fixadores híbridos, em que um ou mais pinos são colocados de maneira bipolar, atravessando ambas as corticais e se ligando à segunda barra e um ou mais pinos prendem-se a duas corticais, porém não atingem a segunda barra (BUSH, 1983).

As pontas dos pinos, bem como clamps ou outras partes da montagem que possam ferir o animal devem ser acolchoadas, especialmente se estas estiverem no aspecto medial do membro. Todos os implantes devem ser removidos para garantir aerodinamicidade correta, quando se pretende a reabilitação do animal (WITHROW, 1982).

3.5 Fraturas umerais

Fraturas umerais são comuns em aves, e geralmente ocorrem de terço médio a distal. Fraturas proximais muitas vezes são cominutivas. Fraturas distais apresentam encavalamento dos fragmentos com compressão de vasos e nervos adjacentes (MACCOY, 1992).

O úmero das aves pode ser dividido em três zonas para a avaliação de fraturas e seleção do tipo de fixação a ser usado. A zona proximal se estende dos tubérculos à crista peitoral; a porção diafisária, que se estende da porção distal da crista peitoral até o ápice da curvatura distal; e o terço distal envolve a porção curva do úmero distal, adjacente ao cotovelo (REDIG, 2003; HELMER; REDIG 2006).

O tipo de fixação em fraturas de úmero depende principalmente do local destas. Fraturas proximais, protegidas por musculatura abundante, são facilmente corrigíveis apenas com bandagem e restrição de espaço. Uma alternativa para o tratamento de fraturas de terço proximal de úmero, com pouco desvio de eixo ósseo é o uso de bandagem em oito, imobilizando a asa contra o corpo, porém para aumentar as probabilidades de retorno à função no caso de grande desvio do eixo, o uso de fixação interna é necessário, com pinos intramedulares e bandas de tensão (HELMER; REDIG, 2006).

As fraturas diafisárias são de simples solução, a menos que haja cominuição grave ou exteriorização extensa de fragmentos ósseos. A maioria das fraturas diafisárias é oblíqua, e, geralmente, o fragmento proximal tende a se exteriorizar para a porção dorsal da asa, enquanto o fragmento distal tende a se exteriorizar pela superfície ventral da asa, ou está contraído em direção ao rádio e ulna, pelos músculos extensores do carpo. O nervo radial cruza da porção caudal até a cranial, na parte média do osso, e durante uma cirurgia de reparação óssea nesta região, deve-se prestar máxima atenção a este nervo. O tendão do tríceps corre distalmente no aspecto caudal do osso, envolvendo o côndilo distal e se fixando finalmente ao olecrano. Sua porção dorsal deve ser identificada quando na colocação de pinos, pois esta deverá ser retraída e protegida. O músculo tríceps é extremamente forte, e sua força de arqueamento deve ser neutralizada pelo tipo de fixação utilizado (REDIG, 2003; HELMER; REDIG, 2006). Métodos apropriados para fixação de fraturas diafisárias incluem pinos intramedulares, metilmetacrilato intramedular com fixação de shuttle, fixação externa, cerclagens ou bandas de tensão e pinos impactados

(COLES, 1996; REDIG, 2000), porém Redig (2000) conclui que o melhor tipo de fixação para o úmero das aves é o sistema de “tie-in”, ou seja, combinação de pino intramedular, ligado a fixador externo. Esta técnica provê estabilidade longitudinal e rotacional para fraturas de úmero.

Fraturas em porção distal de úmero, ou seja, até dois a três diâmetros de cortical de distância dos côndilos, devido à sua anatomia, apresentam encavalamento, e, portanto necessitam de intervenção cirúrgica, não sendo suficientes, técnicas não invasivas, na maioria das vezes (COLES, 1996; HELMER; REDIG, 2006).

Para reparação com fixador externo em úmero de aves, deve-se primeiramente colocar o pino no fragmento distal; uma pequena incisão é feita exatamente acima do côndilo lateral e o pino é passado em direção ao côndilo medial, até que no mínimo uma rosca tenha atravessado sua cortical. Então, dobra-se a asa contra o corpo para que a fratura seja alinhada adequadamente. Palpa-se a zona média da crista peitoral, procurando-se seu ponto mais alto. O pino é passado paralelamente ao pino distal até que ambas as córtices tenham sido atingidas (HELMER; REDIG, 2006). O pino do fixador externo não deve ser colocado sobre a incisão primária ou lesão aberta, o que evita que os pinos causem infecção no sítio cirúrgico. Deve-se evitar grandes massas musculares na inserção destes, pois isto minimiza sua soltura, e os orifícios devem ser feitos com broca antes da colocação dos pinos (MARTIN; RITCHIE, 1994).

Coloca-se três a quatro pinos em cada fragmento da fratura, porém um mínimo de dois pinos é necessário para garantir boa fixação, sem rotação. A colocação de pinos lisos em ângulos de 35 a 55°. previne que o fixador deslize, porém esta técnica não é tão efetiva quanto pinos rosqueados. A barra de conexão dos pinos deve estar o mais próxima à pele, aumentando a força do implante (MARTIN; RITCHIE 1994).

Polimetilmetacrilato pode ser utilizado para fortalecer o implante, sendo colocado, quando ainda em sua forma semi-líquida, onde os pinos encontram-se com a barra de conexão. Há a possibilidade de uso de uma barra de metal leve, com diversos orifícios, por onde os pinos são passados. A barra é então dobrada de maneira a prender firmemente os orifícios (MARTIN; RITCHIE 1994).

No tratamento de fraturas umerais, deve-se ter cautela com possíveis lesões do patágio, pois estas podem resultar em perfuração ou dilaceração e geralmente estas causam contração da pele, alterando a conformação e restringindo extensão da asa (HELMER; REDIG, 2006).

3.6 Complicações de fraturas em aves

As principais complicações observadas em fraturas ósseas em aves incluem a amputação do membro, mau-união ou não união, artrite séptica por continuidade ou por via hematogena, “bumblefoot”, principalmente do membro contralateral (MARTIN; RITCHIE, 1994; HELMER; REDIG, 2006,) e osteomielite, sendo que a manipulação excessiva de tecidos moles e ossos levam a taxas mais altas de infecção, mais adesões e não-uniões avasculares. Fraturas infectadas frequentemente apresentam seqüestro medular. As aves apresentam poucos se algum sinal sistêmico com a osteomielite. Exsudato nestes animais tende a ser branco amarelado e caseoso (WITHROW, 1982). Os antibióticos mais comumente usados incluem a lincomicina e a clindamicina (HELMER; REDIG, 2006).

Os tipos de mau-união são similares aos apresentados por mamíferos, sendo estes: mal-união viável, com suprimento sanguíneo suficiente; mal-união hipertrófica, com calo abundante e boa vascularização, fraturas com fibro cartilagem, causadas por fixação inadequada ou apoio prematuro; mal-união oligotrófica, sem evidência de calo, com fragmentos hipervascularizados, bordas descalcificadas e arredondadas, porém biologicamente com possibilidade de resolução; e, por fim, as mal-uniões não viáveis, com suprimento sanguíneo insuficiente (MARTIN; RITCHIE, 1994; HELMER; REDIG, 2006,).

Também podem ocorrer deformidades ósseas após a fixação de fraturas, especialmente quando estas são reduzidas de maneira fechada. Porém no trabalho de Alievi et al. (2001) as aves apresentaram utilização normal do membro, e eles acreditam que isto ocorreu devido à grande habilidade que as aves possuem para compensar este problema.

3.7 Estado da arte do tratamentos de fraturas ósseas em aves

O uso de enxerto xenólogo congelado de osso esponjoso de avestruzes foi testado experimentalmente em fraturas em não-união de rádios de pombas, que não foram estabilizados e, apesar de união óssea não ter sido atingida, observou-se neo formação óssea marcada no sítio de fratura, concluindo-se que este tipo de enxertia pode ser benéfica em fraturas estáveis e em fraturas com falha óssea pequena (MATHEWS et al., 2003).

O rádio e a ulna de pombas, após fratura e fixação interna, apresentaram evidência radiográfica de calo ósseo, após cinco semanas, e que após fixação externa, houve formação de calo ósseo após oito semanas (TULLY, 2002).

Em variação deste estudo, testou-se fixação interna e externa em fraturas de rádio, com a ulna íntegra, e observaram a formação de um calo ósseo em três semanas. Nenhum movimento foi notado à palpação quando foi usada fixação externa (TULLY, 2002).

Resultados semelhantes foram encontrados quando ambos, rádio e ulna foram fraturados, porém somente a ulna sofreu fixação, conseguida com um pino de Kirshner. Neste caso eles notaram que o rádio sofreu consolidação antes da ulna, mesmo esta estando fixada e o rádio não, sendo que o rádio formou osso cortical e a ulna formou osso esponjoso. Quando ambos os ossos foram imobilizados internamente, estes apresentaram união perfeita em quatro meses, restando apenas a remodelação óssea. Por outro lado, seu trabalho demonstrou que apesar da ossificação ocorrer mais rapidamente na fixação interna, a função da asa era mais bem recuperada em ossos cuja fixação havia sido externa. Ele salienta que a fixação externa não lesa tecidos moles ou articulações, que poderiam prejudicar a função do membro. Notou-se que fraturas cominutivas tinham melhores chances de cura quando os fragmentos apresentavam suprimento sanguíneo adequado que nutre o periósteo (TULLY, 2002).

Degernes, Roe e Abrams. (1998) compararam a força usada para puxar quatro tipos diferentes de pinos de ossos de aves, usando quatro cadáveres e doze gaviões vivos para o experimento. Os quatro tipos usados incluíam: pino liso, com rosca positiva, e rosqueado pegando em uma ou duas corticais. Foram usados úmeros e tibiotarsos, após a remoção de partes moles dos cadáveres. Nos animais vivos foram usados apenas tibiotarsos. Nestes, os pinos foram inseridos tanto manualmente quanto com furadeira à baixa rotação.

Todos os pinos com rosca apresentavam maior força de agarre do que os lisos. Os córtices de tibiotarsos eram mais grossos do que os de úmeros, já que os últimos são ossos pneumáticos. Houve poucas diferenças das forças de agarre entre ossos diferentes e dentre os mesmos ossos. Não houve diferenças entre os pinos colocados com furadeiras e os colocados manualmente. Houve pouca diferença entre os tipos de roscas dos pinos, em relação à força de agarre. Eles concluíram que os pinos com rosca possuem maior força de agarre, e podem ser usados com sucesso para a montagem de fixadores externos das aves (DEGERNES, ROE; ABRAMS, 1998).

Meij, Hazewinkel e Westerhof (1996) usaram fixadores externos em oito aves com fraturas traumáticas de tibiotarso e em quatro aves com deformidade angular de membro pélvico. O fixador externo consistia de pinos de Kirschner dobrados, e um sistema conectante de polimetil metacrilato. Em quatro das aves com fratura de tibiotarso, foram usados concomitantemente pinos intramedulares. Eles notaram consolidação da linha de fratura em sete das aves com fratura de tibiotarso, em apenas dez semanas. A artrodese da articulação intertársica foi considerada boa alternativa para a osteotomia do tibiotarso, nas correções de deformidades angulares. A artrodese estava cicatrizada após treze semanas de cirurgia.

Em descrição de caso clínico de uma cacatua com luxação traumática de joelho, Rosenthal, Hillyer e Mathiessen (1994) optaram pela artrodese do mesmo através do uso de fixador externo. Múltiplos pinos de Kirshner foram colocados no aspecto lateral do fêmur e do tibiotarso, e com uma barra de polímero acrílico compuseram o fixador externo tipo I. No quarto dia pós cirúrgico, o animal apresentava apoio, após sete meses houve fusão articular. Os autores inferem que o uso de fixadores externos para a reparação da articulação femoro-tibiotarso-patelar oferece as vantagens de não representar um implante permanente, uso do membro durante a recuperação e retorno precoce à função.

Bush (1977) descreveu três casos clínicos de fraturas em ossos longos de aves de médio a grande porte, em que ele utilizou fixadores externos unipolares, bipolares ou combinados. Ele observou retorno à função em aproximadamente quatro dias, nos três casos e consolidação das fraturas em três a cinco semanas. Ele também notou que com maior rigidez do foco de fratura os animais apresentavam calo ósseo periostal discreto e calo ósseo intramedular exuberante; ele alega que o uso de pinos intramedulares poderia ter inibido a formação de tal calo.

Lind, Gushwa e Vanek (1988) utilizaram hastes de polímero de alta densidade como pinos intramedulares em duas corujas, sendo um indivíduo juvenil com fratura proximal cominutiva de uma semana do úmero esquerdo e o outro, um animal adulto, com fratura proximal do úmero, envolvendo a crista do deltóide.

Uma haste de polímero foi inserida no canal medular e este foi preenchido com cimento ósseo com antibiótico e após a cirurgia, bandagens tradicionais foram colocadas e removidas entre sete a dez dias. Em avaliação radiográfica após duas semanas da cirurgia, ambos animais apresentaram início de formação de calo ósseo. Em um mês, o calo ósseo formado era extensivo e aos 45 dias o calo ósseo apresentou redução significativa em

tamanho e extensão. Aos dois meses após a cirurgia, o animal juvenil foi considerado saudável e pronto para reabilitação. O animal adulto, após seis semanas ainda não havia demonstrado capacidade de voar perfeitamente, acredita-se que devido à lesão no patágio, que evitava abertura completa da asa (LIND; GUSHWA; VANEK, 1988).

Lind, Gushwa e Vanek (1988) lembram que as fraturas em úmero em aves estão entre as mais difíceis de estabilizar e citam que em um estudo com 51 rapinantes apenas 12 atingiram capacidade total de vôo após fixação cirúrgica do úmero. Um longo período de convalescença pode impedir recuperação ótima, independentemente do tipo de fixação utilizada. Em geral, o tempo observado para retorno de vôo variou entre 21 dias para pombos de laboratório até 12 meses em rapinantes. Este tempo de hospitalização prolongado pode levar a outros problemas como “bumblefoot” ou morte relacionada ao estresse.

Redig (2000) descreve o uso de fixador externo tipo “tie-in” na fixação de fraturas de ossos longos de vinte e sete aves de rapina, vinte das quais envolviam o úmero. Dezesseis delas foram inteiramente reparadas e oito destes pacientes se recuperaram apropriadamente, voltando à função completa do membro. Ele explica que tanto o tempo de recuperação quanto o de reabilitação das aves foi mais curto em relação a outros métodos usados previamente pelo autor, sendo que alguns se recuperaram em até dez dias e a maioria entre três a quatro semanas, sem uso de qualquer outro método de estabilização, como bandagens, etc. Ele lembra que há poucos experimentos científicos que estudam a taxa de sucesso ou mesmo as causas de falência de implantes específicos em cirurgias ortopédicas em aves.

Kusma e Hunter (1989) descrevem osteotomia distal de úmero em urubu jovem, que foi apresentado com mal-união de fratura antiga desta região, com fixação com polimetilmetacrilato injetado no canal intramedular e posterior fixação com placa óssea. Observaram união satisfatória do úmero dois meses depois, removendo a placa 10 meses após a cirurgia. O animal não era capaz de voar devido a alterações articulares ocorridas antes da cirurgia, e este método foi considerado uma alternativa adequada para fixação de fraturas em aves.

A técnica cirúrgica deve seguir preceitos básicos de assepsia. Antibioticoterapia preventiva também deve ser considerada. Penas imediatamente adjacentes ao sítio cirúrgico devem ser arrancadas e não cortadas, e se possível rêmiges primárias devem ser preservadas, e este procedimento deve ser feito sob anestesia. Pode-se minimizar as perdas

de penas se uma área aptérica for usada como centro da incisão ou se solução lubrificante estéril for aplicada às penas próximas ao sítio cirúrgico (MACCOY, 1991). O ponto de entrada e ponto de saída dos pinos na pele devem ser preparados cirurgicamente: uma solução aquosa pode manter as penas fora do campo cirúrgico e limpeza da pele deve ser feita de maneira convencional, tomando-se cuidado para não lesar a pele sensível e fina das aves. Panos de campo transparentes e adesivos permitem melhor visualização do paciente, além de serem mais leves (WITHROW, 1982; BUSH, 1983; LIND; GUSHWA; VANEK, 1988; MACCOY, 1991).

A abordagem do úmero é iniciada com o arrancamento das penas no aspecto dorsal da asa e esterilização com álcool. O autor reafirma a importância de incisão cuidadosa, pois logo abaixo da pele observa-se imediatamente o nervo radial, que atravessa por cima do úmero em direção caudo-ventral, desaparecendo por baixo do músculo tríceps braquial. Ele também lembra que muitas vezes esta área é de difícil visualização, devido à presença de gordura subcutânea (COLES, 1996).

Recomenda-se abordagem dorsal do úmero, para evitar a transecção da artéria e veia braquial e do nervo medianolular, que se encontram no aspecto ventral do osso. Porém deve-se ter cuidado com o nervo radial, que se encontra no aspecto dorsal. A abordagem geralmente deve ser aberta, pois a contração dos músculos peitoral e bíceps braquial causam retração o fragmento ósseo distal proximal mente. O úmero é visualizado imediatamente após a incisão da pele, e proximalmente os músculos bíceps e deltóide recobrem o úmero. Para a inserção de pinos para fixadores externos na ulna, deve-se usar a abordagem dorsal da ulna, cranialmente à incisão das rêmiges secundárias (MARTIN; RITCHIE, 1994). A sutura deve ser realizada com fios de pequeno calibre, absorvíveis, e deve-se tomar cuidado especial com a tensão aplicada à pele, pois esta pode se romper (WITHROW, 1982). O método de bandagem da asa deve ser a clássica bandagem em oito (COLES 1996).

Os objetivos para o sucesso na cirurgia de recuperação de fraturas em aves são; uma fixação rígida, bom alinhamento, ausência de infecção e breve retorno à função, com tempo mínimo de cirurgia, menor interferência no foco de fratura e um método de fixação tolerado pela ave (BUSH, 1977; MACCOY, 1991).

3.8 Técnicas de avaliação de consolidação óssea

Para a avaliação da consolidação óssea, a radiologia é técnica clássica, e pode-se valer dos conhecimentos utilizados para mamíferos. A histomorfometria é a mensuração de componentes morfológicos, e possibilita a avaliação da consolidação em espécimes ósseos, para pesquisa.

3.8.1 Radiologia

Radiografias pós cirúrgicas são necessárias para um diagnóstico preciso (COLES, 1996) para a avaliação do desenvolvimento de calo ósseo periosteal e união cortical (WANDER et al., 2000) e devem ser tiradas a intervalos de duas a quatro semanas. As mudanças radiográficas observadas são a reação periosteal, esclerose e aumento da radiodensidade do canal medular (MARTIN; RITCHIE, 1994).

3.8.2 Histomorfometria

Histomorfometria óssea é a mensuração de componentes morfológicos, tais como número de células, estimativas de superfícies, profundidade de erosão, a largura do osteóide e a grossura da parede óssea; estas são variáveis estáticas que são medidas diretamente. Há a possibilidade de se utilizar marcadores fluorescentes, administrados em intervalos de tempo, que se integram na formação óssea, e com isto pode-se avaliar a aposição mineral ocorrida em um dado intervalo de tempo; estas são as variáveis quinéticas.

A análise histomorfométrica requer o uso de secções não-descalcificadas de osso, quando também se pretende a avaliação da porção mineral. Antes do seccionamento, a amostra tem que ser emblocada em plástico duro e seccionada com um microtomo que suporte a rigidez óssea. As secções são então coradas para prover detalhamento celular suficiente e separação de osteóide de osso mineralizado. A análise microscópica quantitativa é feita com microscópio de luz normal, polarizada ou fluorescente, sistemas de enquadramento e equipamentos de digitalização computadorizada, o que é usado para

quantificar o tamanho e o número de estruturas em osso cortical e esponjoso (ERIKSEN; AXELROD; MELSEN, 1994).

Um fixador adequado deve evitar o encolhimento do tecido, sendo a solução de Karnovsky modificada, infundida por vasos, adequada para este fim (NYENGAARD; MARCUSSEN, 1993). Após a fixação, o material deve ser desidratado seguindo protocolo adequado, e emblocado com material plástico. Yingling et al. (2007) descrevem o uso de formalina neutra a 10% para a fixação do material, e éter monoetil glicol etileno para a desidratação, para o estudo de tíbias descalcificadas de camundongos. Após a coloração, fizeram a análise da massa e arquitetura ósseas através do uso do sistema OsteoMeasure® (Osteometrics, Atlanta, GA, USA). As propriedades estruturais (estáticas) pesquisadas foram: área óssea, perímetro ósseo e área total de tecido, e com isto acessaram os valores de diâmetro, e porcentagem de trabéculas ósseas (YINGLING et al., 2007).

Em estudo sobre a modulação do “turnover” ósseo pela força mecânica, em camundongas ovariectomizadas, o seguinte protocolo para a fixação e emblocamento para posterior seccionamento e avaliação histomorfométrica de fêmures, foi utilizado: os fêmures congelados foram fixados em etanol 70% por no mínimo dois dias, desidratados em série ascendente de concentrações crescentes de etanol, emblocados não descalcificados em mistura de metil metacrilato/ 2-hidroxietil metacrilato (12.5:1), e seccionados em largura indicada de cinco μm . Procedimentos histomorfométricos dos fêmures foram feitos com o uso de um sistema de análise de imagem semi-automático SMI-Microcomp (Southern Micro Instruments, Atlanta) consistindo de um computador Compaq com software Microcomp interconectado com um microscópio e sistema de análise de imagem. Neste sistema, uma câmera de alta resolução montada em um microscópio Olympus H-2 mostrava a imagem do espécime em um monitor colorido. O movimento de uma caneta em uma plataforma gráfica super-impunha o traçado do espécime em questão na tela de vídeo. Por este método, a região de interesse era traçada, e o comprimento da linha e área formados pelo traçado foram calculados. Os sítios amostrais do fêmur distal consistiam da epífise ($12 \text{ mm}^2/\text{osso}$) e da área imediatamente distal à placa de crescimento, estendendo 7 mm para enquadrar a metáfise inteira (35 mm^2) (WESTERLIND et al., 1997).

O presente trabalho foi realizado em conjunto com a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP e com a University of Florida e visou o estudo da utilização inédita de fixador externo articulado para a estabilização de fraturas distais de úmero, evitando a

anquilose da articulação do cotovelo, e portanto mantendo viável a função de vôo; usando como modelo experimental, pombas (*Columba livia*).

Material e Método

4 MATERIAL E MÉTODO

Doze pombos adultos sofreram cirurgias, sendo divididos em dois grupos: grupo 1, com uma asa dinâmicas e uma asa estática e grupo 2: com uma asa dinâmica e uma intacta (controle). Foram avaliados quanto à capacidade de vôo e clinicamente, através de radiografias, e após eutanasia, avaliou-se os úmeros quanto à morfologia e a histomorfometria óssea.

4.1 Animais

Foram utilizados 12 pombos (*Columba livia*), adultos (com mais de seis meses de idade).

Os animais foram mantidos em gaiolas de 60x60x60cm, sendo oferecida ração comercial para pombos, duas vezes ao dia e água *ad libidum*. Os animais permaneceram em luz artificial durante oito horas por dia e a temperatura variou entre 17°C e 23°C na sala.

4.2 Preparação pré-experimental

Os animais foram mantidos por três meses previamente ao experimento, visando a eliminação dos animais doentes ou que apresentassem quaisquer outras alterações que comprometessem sua participação no experimento previamente, além de ambientá-los ao local e alimentação a que seriam submetidos posteriormente ao experimento. Eles foram tratados preventivamente com Ivermectina a 0,2mg/Kg por via oral, dose única, com antecedência de um mês antes do início do experimento.

Foi realizado exame radiográfico prévio à cirurgia para avaliação do comprimento e largura de úmero e ulna.

4.3 Protótipo experimental

O desenho do protótipo do fixador externo dinâmico foi concebido e desenvolvido por: Vanessa Couto de Magalhães Ferraz e Professor Doutor Cássio Ricardo Auada Ferrigno. O fixador externo articulado é constituído de três barras de titânio de seis mm de diâmetro, com articulações entre elas, sendo uma maior de 3,5cm, uma média de 3,0cm, com 5 e 4 perfurações, respectivamente, atravessando da face dorsal para a ventral do implante, todas equidistantes, com exceção do primeiro orifício e segundo orifícios a partir do dispositivo articular, que se localizam mais próximos entre si, e uma terceira barra menor, de 2,5cm, apresentando apenas uma perfuração, articulada entre as duas outras barras. Por estes orifícios foram passados os pinos que se inseriam nos ossos.

As barras são unidas por dois dispositivos articulares, que são constituídos por parafuso e rosca que podem ser presos ou afrouxados quando necessários movimentos articulares: o dispositivo articular principal, a ser disposto sobre a articulação úmero-rádio-ulnar da ave, e o dispositivo articular secundário, a ser disposto sobre a ulna da ave, com o intuito de melhor adaptar o fixador às diferentes curvaturas das ulnas das aves estudadas. Além disto, exatamente à altura das perfurações, há furos com rosca, por onde são passados parafusos que fixam os pinos ao fixador (Apêndice A, figura 1).

O peso total do fixador articulado era de 9,5g e o peso do fixador juntamente com os pinos já cortados era 14,0g

4.4 Delineamento experimental

Foram realizadas cirurgias em ambas as asas dos animais do grupo 1, sendo que uma, escolhida aleatoriamente, sofreu artrodese de sua articulação úmero-rádio-ulnar, não se permitindo o movimento da articulação do fixador, sendo esta asa usada como controle, e chamada didaticamente de “asa estática”. À asa contralateral foi permitido o movimento da peça articular do fixador para impedir a anquilose articular, sendo denominada “asa dinâmica”. Ao final do experimento, estes animais foram eutanaziados, fixados, ambos os úmeros foram coletados e posteriormente foram emblocados, para que fosse realizada

avaliação histológica da articulação e do calo ósseo, de ambas as asas. Os animais do grupo 2 sofreram cirurgia de apenas uma asa, escolhida aleatoriamente, à qual foi permitido o movimento articular, sendo, ao final do experimento testados quanto à sua habilidade de vôo.

Grupo 1

Os animais sofreram intervenção cirúrgica bilateral no mesmo ato operatório. Após a cirurgia foram feitas bandagens convencionais “em oito” em ambas as asas, com imobilização das articulações. Uma das asas de cada animal foi escolhida aleatoriamente para que sofresse artrodese de sua articulação umero-rádio-ulnar, sendo mantida rígida a articulação do implante, até o final do experimento. A asa dinâmica foi mantida fixa através da bandagem em “oito”, porém a articulação do fixador foi mantida móvel e a asa foi liberada após 3 dias, para que o animal pudesse utilizá-la livremente. Os fixadores foram mantidos durante nove semanas ou até a formação de calo ósseo, quando foram retirados

Grupo 2

Os animais sofreram intervenção cirúrgica unilateral. Após a cirurgia foi feita bandagem convencional em “oito”, com imobilização da articulação, e esta foi retirada após três dias, quando a articulação do fixador permaneceu móvel. Uma das asas foi escolhida aleatoriamente para a cirurgia, sendo chamada de asa dinâmica. Após nove semanas foram retirados os fixadores externos de todos os animais.

4.4.1 Técnica anestésica

Depois de adequada contenção física, os animais receberam por meio da via intramuscular, butorfanol na dose de 2,0 mg/kg. Decorridos 15 a 20 minutos, a indução da anestesia foi realizada com a administração intramuscular (i.m.) de quetamina, na dose de 20 mg/kg. Uma vez que o animal apresentou a perda do reflexo de endireitamento, interdigital e laringotraqueal, foi realizada a entubação orotraqueal com uma sonda endotraqueal 2,5 sem balonete. A mesma foi acoplada ao circuito sem reinalação (Maplessen D), onde os animais receberam isoflurano em fluxo de oxigênio de 1,5L/min. A anestesia foi avaliada por meio dos seguintes parâmetros: frequência cardíaca (batimentos por minuto) e frequência respiratória (respiração por minuto), concentração de

dióxido de carbono inspirado e expirado (mmHg), concentração de isoflurano inspirado e expirado (%). No pós-operatório imediato, os animais receberam carprofeno na dose de 5 mg/kg i.m.

4.4.2 Preparação cirúrgica

O local da cirurgia foi preparado com colchão moldável, garantindo melhor posicionamento do animal, e foi colocada sobre este, bolsa térmica aquecida, coberta por panos. O animal foi então posicionado sobre estes.

Preceitos básicos de assepsia foram seguidos para a cirurgia, porém procurou-se evitar o arrancamento desnecessário de penas, já que estes animais seriam testados quanto ao vôo, aproximadamente dois meses após a cirurgia. As penas do sítio cirúrgico, em área de aproximadamente 4cm², foram arrancadas, e este foi esterilizado com clorexidine. As rêmiges primárias foram mantidas e envolvidas em Vetrap® esterilizado. As penas adjacentes ao sítio cirúrgico foram umedecidas com clorexidine e contidas com esparadrapo, evitando que ocupassem o sítio cirúrgico e a asa foi então coberta por luva cirúrgica estéril, com corte de aproximadamente 3cm de comprimento, expondo a área a ser operada. O campo cirúrgico consistiu-se de pano cirúrgico em volta do animal e plástico transparente sobre ele, sendo o último esterilizado por óxido de etileno, para que a ave pudesse ser monitorada durante toda a cirurgia.

4.4.3 Técnica cirúrgica

Os animais foram mantidos em jejum hídrico e alimentar de no mínimo duas horas e no máximo quatro horas, antes do ato cirúrgico.

Com o uso de material cirúrgico de tamanho apropriado, foi feita abordagem dorsal do úmero. Realizou-se incisão de aproximadamente 1cm de comprimento, em direção crânio-caudal, sobre o úmero distal até exposição do côndilo lateral. Com serra oscilatória (Projeto FAPESP: 02/10674-4), foi realizada osteotomia do úmero, diretamente cranial ao côndilo

lateral, realizando fratura transversa, completa do osso. A pele foi suturada com nylon 4-0, com padrão simples, separado.

O primeiro pino foi passado através do epicôndilo lateral, atingindo o epicôndilo medial, e o fixador externo articulado foi posicionado sobre este, de maneira que o dispositivo articular principal ficasse diretamente a cima do epicôndilo lateral. A barra média deste foi posicionada sobre o úmero, alcançando toda sua extensão. Novos pinos foram então passados, através das perfurações remanescentes desta barra, transfixando a pele e inserindo-se no úmero, de maneira a atingirem ambas as corticais, num total de três pinos no úmero, dois proximais e um distal ao foco de fratura. A barra menor, articulada entre as outras duas, ficou posicionada na parte proximal da ulna, e a barra maior ficou posicionada na extensão distal da ulna, com os pinos passando através das perfurações da barra (Apêndice B, figura 2), num total de dois a três pinos na ulna; um na barra pequena e um ou dois na barra longa. Após a cirurgia, foi feita bandagem em “oito” de modo a manter rígida a articulação da asa, com as barras formando ângulo agudo entre si, aproximando o úmero da ulna de forma anatômica.

4.4.4 Tratamento pós cirúrgico

Foram feitas bandagens em oito, prendendo a asa ao corpo do animal. As bandagens se constituíram de gaze e Vetrap®, sendo o último utilizado, pois evita aderência de cola de esparadrapo nas penas, e é de mais fácil manipulação.

Foi realizada antibioticoterapia preventiva da seguinte forma: Os animais receberam Amoxicilina, 50mg oral, a cada vinte e quatro horas, a partir do primeiro dia cirúrgico, e durante os seis dias posteriores, segundo tratamento indicado por Pollock, Carpenter e Antinoff (2005).

4.4.5 Analgesia e cuidados pós operatórios

Após o termino da cirurgia, foi administrada oralmente, água com açúcar, visando diminuir os efeitos deletérios do jejum prolongado. Foi administrado carprofeno intramuscular para analgesia pós cirúrgica imediata.

Durante os três dias consecutivos à cirurgia, era administrada uma gota de dipirona sódica por via oral aos animais, a bandagem era retirada; a pele, incisão e local das transfixações, bem como o fixador externo articulado eram higienizados com gaze umedecida e secos, com gaze seca. Ao final de cada sessão, foram recolocadas bandagens de acolchoamento em “oito”, constituídas de gaze e Vetrap®.

Após o terceiro dia, não foram mais realizadas bandagens nas asas dinâmicas e estas foram mantidas nas asas estáticas, sendo que os fixadores das asas dinâmicas foram mantidos completamente soltos, e os animais poderiam movimentar as asas livremente dentro da gaiola.

4.5 Avaliação radiográfica

Foi realizada avaliação radiográfica imediatamente prévia e imediatamente posterior à cirurgia (Anexos C e F, figuras 3 e 6), com análise da redução de ambas as asas dos animais do grupo 1 e das asas operadas dos animais do grupo 2.

As três, seis (Anexos D e G, figuras 4 e 7) e nove semanas pós operatórias, foi realizada nova radiografia das asas operadas, para avaliação do calo ósseo, bem como das articulações. E nos casos necessários, foram realizadas às 12 semanas. Também foram realizadas radiografias no dia da eutanasia (Anexos E e H, figuras 5 e 8).

Foi utilizada a seguinte técnica radiográfica:

kV = 35,

mA = 100,

distância = 90cm

tempo de exposição = 0,016s.

Sendo as posições avaliadas: dorso – ventral e caudo – cranial.

A análise da imagem radiográfica foi feita sob critério padronizado, pelo mesmo operador, considerando-se os seguintes parâmetros: tempo e intensidade da reação periostal, presença ou ausência de calo ósseo e radiotransparência na falha entre os fragmentos.

Foi utilizada classificação qualitativa de acordo com a evolução da consolidação óssea, considerando-se a seguinte adaptação da escala estabelecida por Silva (1998), mais adequada para o tempo de consolidação óssea em aves:

- 1 – Fratura completa com irregularidade nas linhas dos fragmentos.
- 2 – Ponte cortical/ linha radiotransparente na falha entre os fragmentos.
- 3 – Ponte cortical completa / sem linha radiotransparente.
- 4 – Início de remodelação

4.6 Avaliação clínica

Imediatamente antes das intervenções cirúrgicas, todas as asas foram avaliadas quanto à sua amplitude, através do uso de goniômetro.

Durante os cuidados pós operatórios, as asas foram avaliadas diariamente quanto à presença de edema, secreções, fixação dos pinos aos ossos, e do fixador.

Quando foi observada a consolidação radiológica das fraturas, o fixador articulado foi removido, sem remoção dos pinos, para avaliação clínica da fratura, realizada através de palpação. Neste momento o fixador poderia ser reposicionado se necessário, ou retirado por completo, em caso de consolidação clínica.

Imediatamente após eutanásia as asas foram novamente avaliadas quanto à amplitude de movimento, através do uso de goniômetro (denominado *Amplitude da asa*).

4.7 Avaliação da função

Os animais do grupo 2 foram avaliados quanto à sua capacidade de vôo, sendo que após a retirada do fixador permaneceram em gaiola por 5 semanas, quando foram então deixados em sala de 2,5x2,5x3,0m, com livre acesso às gaiolas, posicionadas tanto no chão quanto

em diferentes alturas, até 2m podendo exercitar sua capacidade de vôo segundo suas próprias capacidades. Alimentação foi oferecida em diversas alturas, desde o chão até a altura máxima de 2m. Foram avaliados durante as quatro semanas seguintes, ao final das quais, foram eutanasiadas.

4.8 Avaliação da morfologia óssea

Depois de dissecados e descarnados, os ossos foram medidos quanto ao seu comprimento, da porção mais proximal da articulação da cabeça do úmero, até o côndilo distal (denominado *Comprimento do osso*) e pesados em balança de alta precisão (denominado *Peso do osso*). Então, através da inspeção, foi determinada a abrangência do calo, e este foi ostectomizado e pesado (denominado *Peso do calo*).

4.9 Histologia

A histomorfometria é a mensuração de componentes morfológicos, e possibilita a avaliação da consolidação em espécimes ósseos, para pesquisa.

4.9.1 Fixação do tecido ósseo

Às nove semanas os animais do grupo 1 foram eutanasiados através da injeção de butorfanol e quetamina, até que se atingisse a parada cardíaco-respiratória. A morte foi confirmada através da auscultação cardíaca.

Foi feita incisão da pele e musculatura de cavidade celomática e o gradil costal foi rebatido para exposição do coração. O átrio esquerdo foi incisado, e foi injetada no ventrículo esquerdo, solução fisiológica contendo 2% de heparina para lavagem dos vasos sanguíneos, aproximadamente 8% do peso do animal até que não fossem mais observados traços de sangue na solução que era expelida pelo átrio esquerdo.

Foi injetado, também no ventrículo esquerdo fixador de Karnovsky modificado: (Glutaraldeído a 5% e Formaleído a 1% em tampão de Cacodilato), aproximadamente 8% do peso do animal, ou até que a musculatura esquelética se enrijecesse. Ambos os úmeros foram desarticulados das escápulas; sendo removidos penas, pele, músculos, vasos e nervos. A ulna foi desarticulada do úmero de cada animal, e estes foram colocados em potes individuais para cada ave, imersos integralmente no mesmo fixador, sendo então refrigerados a 4°C e assim permanecendo por aproximadamente dois meses (Anexos I a L, figuras 9 a 12).

Após este período, os calos ósseos foram excisados do úmero, e estes foram pesados e separados em frascos individuais sendo todo e cada um identificado. O material foi processado seguindo protocolo abaixo relacionado:

4.9.2 Processo de emblocamento de osso não descalcificado

Os ossos foram desidratados Segundo o seguinte protocolo. Todas as soluções abaixo, exceto o xileno, foram mantidas em refrigerador antes da adição de ossos, e todos os ossos enquanto em solução, foram armazenados em refrigerador

- EtOH 70%	1 – 2 dias
- EtOH 95%	2 dias
- EtOH 100%	1 dia
- EtOH 100%	1 dia
- Xileno	1 dia

Cada porção do calo ósseo foi colocada em frasco de vidro, e então o seguinte protocolo foi utilizado:

4.9.2.1 *Soluções de emblocamento:*

Preparação das seguintes soluções para infiltração e emblocamento do tecido ósseo foi realizada sob capela. Pellets de cloreto de cálcio suficientes para encherem um becker de 200 mL (aproximadamente 2 colheres) foram colocados em um grande recipiente de Nalgene tampado firmemente. Esta era quantidade suficiente de cloreto de cálcio para remover a água (aproximadamente 25 – 35 mL) de 400 mL de metil metacrilato. O recipiente foi misturado vigorosamente por 15 segundos e então se deixou descansar por 30 segundos. A quantidade desejada foi filtrada em cilindro graduado e a quantidade necessária de ptalato de dibutil e peróxido de benzoila foi medido e adicionado ao metil metacrilato e colocados em frasco, que foi coberto com parafilme e mexido segundo o seguinte protocolo de infiltração, no qual o osso sofre uma série de trocas de diferentes soluções.

MM = metil metacrilato

PD = ptalato de dibutil (n-butil)

PB = peróxido de benzoila

Solução I

MM: 8,5 mL por osso

PD: 1,5 mL por osso

A solução foi mexida por aproximadamente 2 horas sob capela e então refrigerada por 2 dias.

Solução II

MM: 8,5 mL por osso

PD: 1,5 mL por osso

PB: 0,1 g por osso

A solução foi mexida por aproximadamente 4 horas e então refrigerada por 2 dias.

Solução III

MM: 8,5 mL por osso

PD: 1,5 mL por osso

PB: 0,25 g por osso

A solução foi mexida por pelo menos 4 horas e então refrigerada por 2 dias.

Solução IV

MM: 15,3 mL por osso

PD: 2,7 mL por osso

PB: 0,45 g por osso

A solução foi mexida por no mínimo 5 horas, em temperatura ambiente e sacudida por 15 segundos e então deixada repousar por 30 segundo. Esta solução foi então filtrada e a quantidade apropriada de MM foi despejada em frasco. A quantidade apropriada de PD foi adicionada ao frasco e PB foi adicionado quando necessário. Após a mistura das soluções, elas foram despejadas em frascos contendo o espécime e estes foram colocados em câmara fria.

Após a troca da solução 4, os ossos foram colocados em aspirador / dissecador, desencapados, durante aproximadamente 6 horas, com o vácuo sendo liberado em intervalos de 30 minutos. Ao final do dia, os ossos foram re-arranjados no frasco para a posição desejada para secção: ao centro do frasco de emblocamento, e cobertos com tampas com orifícios. Os frascos foram então colocados em banho maria, com a temperatura mantida a 42.C, e permaneceram em banho maria durante a noite. Para checar a solidificação de polímero de MM, uma probe foi utilizada, e a camada líquida na superfície do frasco não poderia exceder 2 mm. Neste momento, os frascos foram colocados em câmara fria.

4.9.2.2 Preparação de lâminas gelatinizadas

Seis laminas de cada vez foram colocadas em bandeja de lâminas, sem tocar uma à outra, e passaram pela seguinte série de 5 soluções, por 2 minutos cada:

Etanol 70%

Etanol 95%

Etanol 95%/HCl (50 ml HCl por 450 mL, Etanol95%)

Etanol 95%

Etanol 95%

E então foram colocadas em estufa, durante a noite, para secar.

A solução gelatinosa (Adesivo de Houpt) para aproximadamente 100 lâminas foi feito, misturando-se 600 mL de água destilada e 10,5g de gelatina de bloom 300 (Sigma). Esta solução foi misturada enquanto sendo aquecida a 60°C, por 5 minutos, então 30 mL de glicerina foram adicionados. As lâminas pré-limpas foram colocadas em jarras de Coplin (8 lâminas por jarra). A solução de Houpt foi adicionada a estas e deixou-se descansar por 1 hora. As lâminas então foram removidas das jarras e colocadas em bandejas de secagem (10 lâminas por bandeja), cobertas com papel toalha e deixadas para secarem.

4.9.3 Seccionamento

Os frascos de vidro eram quebrados, e o bloco de polímero propriamente marcado. Para o seccionamento, o bloco foi firmemente colocado no osteótomo. Para evitar enrugamento, a superfície do bloco de onde as secções seriam retiradas foi saturada com EtOH a 40%, com a ajuda de um pincel comum. Aproximadamente 12 a 15 secções de 5µm foram escolhidas a cada 3 secções feitas. Estas eram colocadas em uma lâmina gelatinizada, o excesso do corte (porções sem tecido) foi cortado, a superfície foi alisada, com ajuda de um pincel saturado de EtOH a 40% para a remoção de bolhas de ar, e então o corte foi coberto com lamínulas plásticas. Deixou-se secar as lâminas por 15 minutos, os versos destas foram raspados (para remover o excesso de material gelatinoso), 12 a 15 lâminas foram colocadas entre duas lâminas limpas e estas, colocadas em prensa, que foi então posta em estufa, durante toda a noite. Na manhã seguinte, as lâminas foram removidas da prensa, as lamínulas plásticas retiradas então analisou-se sob microscópio para a seleção das quatro melhores de cada grupo. As informações destas lâminas foram registradas em caderno.

4.9.4 Coloração

A coloração foi realizada seguindo os seguintes protocolos

4.9.4.1 *Corante de tetracromo*

Para o processo de coração de 16 slides de cada vez, as seguintes soluções foram utilizadas no protocolo enumerado abaixo destas

Solução I: Solução de nitrato de prata: 3g de nitrato de prata foram misturados a 60mL de dH₂O. A solução foi mexida em um becker coberto com papel alumínio, e então filtrada quando completamente dissolvida.

Solução II: Solução de carbonato-formaldeído de sódio: 5g de carbonato de sódio anidro foram misturadas a 25mL de formaldeído e 75mL de dH₂O, e mexidas até completamente dissolvidas.

Solução III: soluções 3A e 3B.

3A: 10g de tiosulfato de sódio e 100mL de dH₂O foram misturados e mexidos até a dissolução completa.

3B: 1g de ferricianido de potássio e 10mL de dH₂O foram misturados e mexidos até dissolução completa.

50mL da solução 3A e 2,5mL da solução 3B foram misturados imediatamente antes do uso, já que esta solução é estável por apenas menos de 30 minutos.

Solução IV: Solução de tetracromo: 1,8g de solução de tetracromo e 60mL de dH₂O foram misturados e mexidos em um becker coberto com papel alumínio e então filtrados

4.9.4.2 *Protocolo de coloração*

1. As secções foram desplastificadas com acetato de metoxi-etil por 3 dias.

2. As lâminas foram colocados em bandeja de coração e estas em EtOH a 100% por 2 minutos, então em EtOH a 95% por 2 minutos, em EtOH 70% por 2 minutos, em EtOH 40% por 2 minutos e então em dH₂O
3. As secções foram colocadas a solução I por 15 minutos, no escuro.
4. Três mudanças de dH₂O de 1 minuto cada, foram feitas.
5. As secções foram colocadas na solução II para corar, por exatamente 2 minutos.
6. Duas trocas de dH₂O de um minuto cada foram feitas.
7. As lâminas foram colocados na solução III por exatamente 20 segundos, sendo o tempo muito crítico.
8. Então, os slides foram deixados sob água corrente por 20 minutos.
9. Duas trocas de dH₂O de um minuto cada foram feitas.
10. As lâminas foram colocados na solução IV por 1,5 minutos, no escuro.
11. Três trocas de dH₂O de um minuto cada foram feitas.
12. Uma troca de EtOH a 70% foi feita, por no mínimo 1 minuto.
13. Então as lâminas foram mantidos em EtOH a 100% por no mínimo 1 minuto.
14. Duas trocas de xileno, por 3 minutos cada, foram feitas.
15. Foram colocadas as lamínulas em cada lâmina, com permount, o excesso de permount foi eliminado, primeiramente com ajuda de lâmina e então com gaze saturada com xileno, e estas foram prensadas e permaneceram assim durante 24 horas, para garantir que a lamínula estivesse firmemente grudada à lâmina.

4.9.5 Procedimentos de osteomensuração

Para a análise das secções, o programa de computador: OsteoMeasure® foi utilizado. Um microscópio ótico com uma câmera especial anexada, e um mouse de computador para osteomensuração, em uma placa (Mercury 100) especial foram usados para delinear os parâmetros específicos para o estudo (Figura 22).

Cada secção medida foi nomeada segundo o animal específico a que pertencia, osso e qual asa (direita ou esquerda).

O microscópio, a luz e a câmera foram ajustados antes de cada mensuração e a área de interesse foi encontrada.

Os parâmetros medidos foram:

- Volume ósseo
- Tecidos fibrosos dentro da área de interesse
- Superfície de osteoblasto: superfície de osteoblastos próximos ao osso
- Volume de osteóide
- Volume de vasos sanguíneos
- Volume de cartilagem
- Superfície de osteoclastos
- Superfície óssea dividida pelo volume ósseo

Quando todos estes parâmetros foram medidos, os números totais foram escritos em papel e posteriormente inseridos no programa “Excel” e a análise estatística foi feita.

4.10 Análise Estatística

O teste *t Student* com nível de significância de 5% foi utilizado para a interpretação dos resultados obtidos nas avaliações radiográficas, clínicas e de teste de vôo neste experimento, procurando verificar possíveis diferenças significativas entre os dois tipos de fixação: com fixador rígido e anquilose da articulação (asa estática) e com fixador articulado e manutenção da articulação (asa dinâmica), e o controle.

Para a análise histomorfométrica, o software “StatView” foi utilizado, para acessar as diferenças entre os três grupos: asa intacta, asa estática e asa dinâmica, quanto ao volume ósseo, volume de tecido fibroso, superfície de osteoblastos, volume de osteóide, volume de vasos sanguíneos, volume de cartilagem, superfície de osteoclastos e relação superfície-volume ósseo, comparando valores entre os grupos e dentro de um mesmo grupo. Foi utilizado o teste de Fisher PLSD, com nível de significância de 5%.

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Clínicos e radiológicos

As asas de todas as aves estavam firmes à palpação imediatamente após a cirurgia e durante todo o tempo que estas permaneceram com o fixador, com avaliações diárias nos primeiros 7 dias e depois avaliações a cada 5 dias. Alguns animais demonstraram incômodo à manipulação da fratura, durante os 3 dias pós cirúrgicos, para a limpeza e retirada da bandagem. Todos os animais foram capazes de suportar o peso do aparato, apresentando leve queda da asa, que melhorou gradualmente durante as semanas do experimento.

Por diversas vezes não foi possível restringir a osteotomia a uma fratura transversa simples devido ao caráter frágil e delgado da cortical deste osso nas aves, sendo que em alguns casos (2 animais do grupo 1) a fratura apresentou bisel em sua formação. No animal 4 do grupo 1, observou-se fissura longitudinal do úmero, que aos 21 dias havia aumentado consideravelmente de tamanho, provocando separação parcial das duas corticais deste osso. Não obstante, às 6 semanas ocorreu consolidação completa do osso, apesar desta complicação. No animal 3 do grupo dois a fratura não apresentou alinhamento completo após a cirurgia.

Durante a cirurgia ocorreram fraturas iatrogênicas nas ulnas de 5 animais do grupo 1, quando da inserção dos pinos, o que foi confirmado posteriormente no exame radiográfico imediatamente pós cirúrgico. Nenhuma fratura foi observada nas ulnas dos animais do grupo 2.

Às 6 semanas, todos os animais do grupo 2 apresentavam fraturas consolidadas radiográfica (Anexos D e G, figuras 4 e 7) e clinicamente, sendo os fixadores removidos por completo neste momento. Quatro animais do grupo 1 apresentaram consolidação completa, radiográfica e clínica, de ambas as asas, às 6 semanas, quando foram retirados os fixadores. Dois animais do mesmo grupo não apresentaram consolidação de nenhuma das duas asas neste mesmo período, sendo reavaliados às 9 semanas, quando ambos apresentaram consolidação radiográfica e clínica da asa dinâmica, e consolidação radiográfica porém não clínica da asa estática. Foram retirados os fixadores das asas dinâmicas e mantidos os das asas estáticas até as 12 semanas, quando apresentaram

consolidação clínica destas, e foram retirados os fixadores, e às 15 semanas foram eutanasiados (Tabelas 1 e 2), sendo que um deles apresentou mal-união hipertrófica da asa estática, segundo classificação de Martin e Ritchie (1994) e Helmer e Redig (2006). Com exceção destes dois animais, as aves do grupo 1 foram eutanasiadas às 9 semanas, após 3 semanas da retirada dos fixadores.

Tabela 1: Avaliação radiográfica dos animais do grupo 1, segundo escala adaptada de Silva (1998) 1 – Fratura completa com irregularidade nas linhas dos fragmentos. 2 – Ponte cortical/ linha radiotransparente na falha entre os fragmentos. 3 – Ponte cortical completa / sem linha radiotransparente. 4 – Início de remodelação:

	Pós - cirúrgico	21 dias	6 semanas	9 semanas	12 semanas	15 semanas
1						
<i>asa dinâmica</i>	1#	2	3	3	-	-
<i>asa estática</i>	1#	2	2	3	3	3
2						
<i>asa dinâmica</i>	1	2	3	4	-	-
<i>asa estática</i>	1#	3	3	4	-	-
3						
<i>asa dinâmica</i>	1	2	3	4	-	-
<i>asa estática</i>	1#	3	3	4	-	-
4						
<i>asa dinâmica</i>	1#	3	3	4	-	-
<i>asa estática</i>	1	2	2	2	2	3
5						
<i>asa dinâmica</i>	1	2	3	4	-	-
<i>asa estática</i>	1#	2	3	4	-	-
6						
<i>asa dinâmica</i>	1	2	4	4	-	-
<i>asa estática</i>	1	3	4	4	-	-

Fratura de ulna

Tabela 2: Avaliação radiográfica dos animais do grupo 2 segundo escala adaptada de Silva (1998): 1 – Fratura completa com irregularidade nas linhas dos fragmentos. 2 – Ponte cortical/ linha radiotransparente na falha entre os fragmentos. 3 – Ponte cortical completa / sem linha radiotransparente. 4 – Início de remodelação:

	Pós - cirúrgico	21 dias	6 semanas	9 semanas	12 semanas	15 semanas
1						
<i>asa dinâmica</i>	1	3	3	4	-	-
2						
<i>asa dinâmica</i>	1	2	3	4	-	-
3						
<i>asa dinâmica</i>	1	2	3	4	-	-
4						
<i>asa dinâmica</i>	1	3	3	4	-	-
5						
<i>asa dinâmica</i>	1	2	3	4	-	-
6						
<i>asa dinâmica</i>	1	3	3	4	-	-

5.2 Avaliação de voo

Após a retirada dos fixadores, os animais do grupo 2 foram mantidos em gaiola por 5 semanas, quando foram soltos em sala maior para o voo. Foram mantidos assim por 4 semanas antes de serem eutanasiados. Todos os animais deste grupo apresentaram capacidade de voo adequada, levantando voo até 2m de altura, sendo capazes de subir e descer a diferentes alturas, após o quinto dia que foram liberados na sala, melhorando rapidamente seu equilíbrio e destreza no voo.

5.3 Morfologia óssea

A morfologia óssea inclui a mensuração do comprimento e do peso do úmero, do peso do calo ósseo e da amplitude da asa.

5.3.1 Comprimento do úmero

Como se pode observar na tabela 3, os comprimentos dos úmeros da asa dinâmica (Apêndice K, Figura 11) e da asa estática (Apêndice L, Figuras 12 e 20) de cada ave do grupo 1 foram comparados, sendo que a asa dinâmica apresentou em média, 99,1% o tamanho da asa estática para cada ave. A mesma análise foi feita para os animais do grupo 2, porém neste caso, foram comparadas as asas dinâmicas (Apêndice I, Figuras 9 e 17) às asas intactas (Apêndice J, Figura 10), e essas representavam em média 99,5% o tamanho dos úmeros das asas intactas.

5.3.2 Peso do úmero

Para cada animal do grupo 1, observamos que em média, os ossos da asa dinâmica somavam 99% do peso dos ossos da asa estática de cada animal, sendo que para dois animais deste grupo esta relação era de 152,6% do peso da asa estática em relação à asa dinâmica, e para os outros animais esta relação era de 72,3%. Entre os animais do grupo 2, a relação entre o osso da asa dinâmica e o osso da asa intacta foi de 78,4% (Tabelas 3 e 4, Gráficos 2 e 5).

5.3.3 Peso do calo ósseo

Em relação ao calo ósseo, nos animais do grupo 1, este foi aproximadamente 132% maior na asa dinâmica do que na asa estática, ou seja, o osso da asa dinâmica era 32% mais pesado do que da asa estática. Para os animais do grupo 2, o calo do osso operado foi aproximadamente 47,8% o peso do calo do osso intacto (Tabelas 3 e 4, Gráficos 3 e 6).

5.3.4 Amplitude de asa

A amplitude da asa no grupo 2, demonstrou que a relação da asa dinâmica para a asa intacta foi de 0,93. O mesmo valor foi calculado para o grupo 1, e neste podemos notar que a relação foi de 1,05,. Durante todo o experimento foi possível observar que estes animais apresentavam dificuldade e dor na movimentação da asa, nunca sendo capazes de recolhê-las junto ao corpo, mostrando-se desequilibrados, e em dois casos, arrastando a asa junto ao solo. Nenhum animal do grupo 2 apresentou recolhimento completo da asa operada, porém eram capazes de apresentar postura ereta, com bom equilíbrio e recolhimento parcial a quase total da asa (Tabelas 3 e 4, Gráficos 1 e 4).

5.3.5 Observações

Através da observação dos gráficos é possível constatar que todos os valores para o grupo 2 se mantiveram mais constantes do que para o grupo 1

À cirurgia, um animal do grupo 1 sofreu fissuras longitudinais graves do úmero, que se transformaram em fraturas, e após quatro dias, foram retirados ambos os fixadores. Este animal foi desconsiderado do experimento e foi posteriormente eutanasiado.

Tabela 3: Grupo 1. Comprimento do úmero em cm, relação do comprimento do úmero de asa dinâmica dividido pela asa estática (ad/ae). Peso do úmero em gramas divididas pelo comprimento em centímetros, relação desta valor para asa dinâmica dividido pelo valor da asa estática (ad/ae). Peso apenas do calo ósseo em gramas dividido pelo comprimento em centímetros e relação entre asa dinâmica e asa estática (ad/ae) deste valor. Amplitude da asa, medida entre a porção proximal do úmero e a mais distal da ulna, em linha reta, e relação deste valor entre asa dinâmica e asa estática (ad/ae)

<i>Animal</i>	<i>Comprimento do osso (cm)</i>	<i>Relação ad/ae</i>	<i>Peso do osso (g/cm)</i>	<i>Relação ad/ae</i>	<i>Peso do calo (g/cm)</i>	<i>Relação ad/ae</i>	<i>Amplitude da asa (cm)</i>	<i>Relação ad/ae</i>
1								
<i>asa dinâmica</i>	4,9		0,4504		0,6337		7,1	
<i>asa estática</i>	4,9	1	0,569	0,7914	0,9743	0,6504	6,8	1,04
2								
<i>asa dinâmica</i>	4,6		0,4366		0,7842		6,4	
<i>asa estática</i>	4,4	1,0454	0,549	0,7953	0,4048	1,9373	7,2	0,89
3								
<i>asa dinâmica</i>	4,4		0,3065		0,309		7,5	
<i>asa estática</i>	4,2	1,0476	0,5303	0,5779	0,398	0,7762	6,5	1,15
4								
<i>asa dinâmica</i>	4,5		0,576		0,7458		6,7	
<i>asa estática</i>	4,9	0,9183	0,3677	1,5661	0,3513	2,1229	6,5	1,03
5								
<i>asa dinâmica</i>	4,4		0,6338		0,8767		6,8	
<i>asa estática</i>	4,6	0,9565	0,4265	1,486	0,4975	1,7623	8	0,85
6								
<i>asa dinâmica</i>	4,5		0,3338		0,3392		8,3	
<i>asa estática</i>	4,6	0,9782	0,4591	0,727	0,5099	0,6652	6,1	1,36
	4,55		0,4562		0,6148		7,1333	
media	4,6	0,991	0,4836	0,99064	0,5226	1,319	6,85	1,05

Tabela 4: Grupo 2 Comprimento do úmero em cm, relação do comprimento do úmero de asa dinâmica dividido pela asa estática (ad/ae). Peso do úmero em gramas divididas pelo comprimento em centímetros, relação desta valor para asa dinâmica dividido pelo valor da asa estática (ad/ae). Peso apenas do calo ósseo em gramas dividido pelo comprimento em centímetros e relação entre asa dinâmica e asa estática (ad/ae) deste valor. Amplitude da asa, medida entre a porção proximal do úmero e a mais distal da ulna, em linha reta, e relação deste valor entre asa dinâmica e asa estática (ad/ae)

<i>Animal</i>	<i>Comprimento do osso (cm)</i>	<i>Relação ad/ae</i>	<i>Peso do osso (g/cm)</i>	<i>Relação ad/ae</i>	<i>Peso do calo (g/cm)</i>	<i>Relação ad/ae</i>	<i>Amplitude da asa (cm)</i>	<i>Relação ad/ae</i>
1								
<i>asa dinâmica</i>	4,5		0,3895		0,2507		6	
<i>asa intacta</i>	4,5	1	0,3615	1,0774	0,2952	0,8494	7	0,86
2								
<i>asa dinâmica</i>	4,75		0,3698		0,2377		8	
<i>asa intacta</i>	4,7	1,0106	0,4116	0,8983	0,4322	0,5499	8,4	0,95
3								
<i>asa dinâmica</i>	4,4		0,3427		0,1965		8,2	
<i>asa intacta</i>	4,5	0,9777	0,3919	0,8746	0,36563	0,5374	6,9	1,19
4								
<i>asa dinâmica</i>	4,5		0,3439		0,1567		5	
<i>asa intacta</i>	4,6	0,9782	0,4012	0,8571	0,3952	0,3966	6	0,83
5								
<i>asa dinâmica</i>	4,7		0,3589		0,3243		6,6	
<i>asa intacta</i>	4,9	0,9591	0,83	0,4324	1,1279	0,2875	8,3	0,8
6								
<i>asa dinâmica</i>	4,9		0,32		0,1671		7,7	
<i>asa intacta</i>	4,7	1,0425	0,5636	0,5678	0,6756	0,2473	8,3	0,93
	4,625		0,3541		0,2222		6,9166	
media	4,65	0,9947	0,4933	0,7846	0,5486	0,478	7,3928	0,93

Gráfico 1 - Amplitude de asa (asa dinâmica / asa estática) do grupo 1

Gráfico 2 - Peso proporcional do osso (asa dinâmica / asa estática) grupo 1

Gráfico 3 - Peso proporcional do calo ósseo (asa dinâmica / asa estática) do grupo 1

Gráfico 4 - Amplitude de asa (asa dinâmica / asa intacta) do grupo 2

Gráfico 5 - Peso proporcional do osso (asa dinâmica / asa intacta) do grupo 2

Gráfico 6 - Peso proporcional do calo ósseo (asa dinâmica/ asa intacta) do grupo

Gráfico 7 - Razão entre o peso dos ossos das asas dinâmicas/estáticas do grupo 1 e dinâmica/ intacta do grupo 2

Gráfico 8 - Razão entre o peso dos ossos das asas dinâmicas/estáticas do grupo 1 e dinâmica/ intacta do grupo 2

5.4 Análise histomorfométrica

A histomorfometria foi realizada para as asas dinâmicas, estáticas e intactas de todos os animais, estando representadas nas tabelas 5, 6 e 7.

Tabela 5: Porcentagens de volume ósseo, volume de tecido fibroso, superfície de osteoblastos próximos ao osso, volume de osteóide, volume de vasos sanguíneos, volume de cartilagem, superfície de osteoclastos e razão da superfície óssea pelo volume ósseo em mm^2/mm^3 , nas asas intactas dos animais do grupo 2

Grupo 2/ Asa intacta	Volume ósseo (%)	Volume de tecido fibroso (%)	Superfície de osteoblastos (%)	Volume de osteóide (%)	Volume de vasos sanguíneos (%)	Volume de cartilagem (%)	Superfície de osteoclastos (%)	Superfície óssea / volume ósseo (mm^2/mm^3)
Pombo 2	36,88	0	0	0	2,17	0	0	20,39
Pombo 5	35,44	0	4,54	0,08	0,53	0	0	28,83
Pombo 1	21,27	0,06	21,86	0	1,03	0	0,18	29,35
Pombo 3	22,74	0	0,13	0	2,47	0	0	28,92
Pombo 4	24,39	0,64	19,35	0,1	4,68	0	0	35,47
Pombo 6	35,81	0	4,37	0	1,12	0	0	20,95
Média	29,42167	0,116667	8,375	0,03	2	0	0,03	27,31833
Desvio Padrão	7,335801	0,257501	9,707355	0,046904	1,503888	0	0,073485	5,726871

Tabela 6: Porcentagens de volume ósseo, volume de tecido fibroso, superfície de osteoblastos próximos ao osso, volume de osteóide, volume de vasos sanguíneos, volume de cartilagem, superfície de osteoclastos e razão da superfície óssea pelo volume ósseo em mm^2/mm^3 , nas asas estáticas dos animais do grupo 1

Grupo 1 / Asa estática	Volume ósseo (%)	Volume de tecido fibroso (%)	Superfície de osteoblastos (%)	Volume de osteóide (%)	Volume de vasos sanguíneos (%)	Volume de cartilagem (%)	Superfície de osteoclastos (%)	Superfície óssea / volume ósseo (mm^2/mm^3)
Pombo 3	7,54	0,11	65,74	3,11	1,05	0	0,73	121,73
Pombo 1	24,18	6,17	42,35	0,95	1,55	0,5	2,42	75,35
Pombo 2	16,04	2,04	17,06	0,21	0,78	0	0,28	64,98
Pombo 4	18,66	0	1,32	0	0	0	0	39,64
Pombo 5	29,41	0	8,14	0	0,49	0	0	31
Pombo 6	19,78	0,01	35,35	1,06	0,84	0	0,33	48,67
Média	19,26833	1,388333	28,32667	0,888333	0,785	0,083333	0,626667	63,56167
Desvio Padrão	7,424092	2,47701	24,12276	1,183848	0,521872	0,204124	0,918731	32,79878

Tabela 7: Porcentagens de volume ósseo, volume de tecido fibroso, superfície de osteoblastos próximos ao osso, volume de osteóide, volume de vasos sanguíneos, volume de cartilagem, superfície de osteoclastos e razão da superfície óssea pelo volume ósseo em mm^2/mm^3 , nas asas dinâmicas dos animais dos grupos 1 e 2

Grupos 1 e 2 / asas dinâmicas	Volume ósseo (%)	Volume de tecido fibroso (%)	Superfície de osteoblastos (%)	Volume de osteóide (%)	Volume de vasos sanguíneos (%)	Volume de cartilagem (%)	Superfície de osteoclastos (%)	Superfície óssea / volume ósseo (mm^2/mm^3)
Pombo 1 / G 1	13,81	4,06	33,93	0,48	1,65	0	0,36	65,7
Pombo 2 / G 1	37,35	0	11,32	0,19	0	0	0	20,92
Pombo 3 / G 1	17,78	1,17	42,83	2,02	1,3	0	0	52,98
Pombo 4 / G 1	26,15	14,17	55,17	1,47	0,24	0,22	1,15	42,2
Pombo 5 / G 1	21,94	2,96	8,26	0,78	0	0	0,1	93,42
Pombo 6 / G 1	15,1	0,27	16,56	0,39	0,29	0	0	98,7
Pombo 1 / G 2	32,56	1,29	27,5	0	0,07	0	0	27,07
Pombo 2 / G 2	46,43	5,1	30,1	0,65	0,58	0	1,48	25,13
Pombo 3 / G 2	15,58	0	0	0	1,63	0	0	31,24
Pombo 4 / G 2	18,04	6,36	40,67	0,73	8,45	0,09	8,13	68,26
Pombo 5 / G 2	13,3	19,81	44,47	5,39	2,25	9,88	3	115,01
Pombo 6 / G 2	16,81	5,59	29,89	0,23	0,69	0	0,05	43,97
Média	22,90417	5,065	28,39167	1,0275	1,429167	0,849167	1,2025	57,05
Desvio Padrão	10,63184	6,1158	16,55362	1,497259	2,335172	2,844738	2,381471	31,49999

Gráfico 9 - Comparação, em porcentagem, dos volumes ósseo, de tecido fibroso, de osteóide, de vasos sanguíneos e cartilagem nas asas intactas do grupo 2

Gráfico 10 - Comparação, em porcentagem, dos volumes ósseo, de tecido fibroso, de osteóide, de vasos sanguíneos e cartilagem nas asas estáticas do grupo 1

Gráfico 11 - Comparação, em porcentagem, dos volumes ósseo, de tecido fibroso, de osteóide, e vasos sanguíneos e cartilagem nas asas dinâmicas dos grupos 1 e 2

Gráfico 12 - Comparação, em porcentagem, das superfícies de osteoblastos e osteoclastos observados junto às superfícies ósseas, nas asas intactas dos animais do grupo 2

Gráfico 13 - Comparação, em porcentagem, das superfícies de osteoblastos e osteoclastos observados junto às superfícies ósseas, nas asas estáticas dos animais do grupo 1

Gráfico 14 - Comparação, em porcentagem, das superfícies de osteoblastos e osteoclastos observados junto às superfícies ósseas, nas asas dinâmicas dos animais dos grupos 1 e 2

Gráfico 15 - Média da razão superfície óssea / volume ósseo, nos três grupos de asas: intactas, estáticas e dinâmicas

5.4 Análise histomorfométrica

Apresentam-se descrições e figuras histológicas de ossos dos três diferentes métodos de tratamento utilizados.

5.4.1 Asas Dinâmicas

De maneira geral, observou-se nas asas dinâmicas tecido composto de grande área de calcificação com alguns gaps de reabsorção, em geral pequenos e mais numerosos em camada endostal, e maiores e coalescentes em camada periostal, ou desorganizadamente por todo o tecido. Camada de osteóide, recobrindo as superfícies dos gaps, e larga camada de osteoblastos desorganizados sobre a anterior, com muitas células indiferenciadas à sua volta. No interior de muitos dos gaps, presença de vasos sanguíneos, passando transversalmente. Em superfície periostal, camadas de osteóide recobertas por osteoblastos puderam ser observadas em quase todas as superfícies. Número moderado de osteoclastos causando reabsorção nas margens externas. Osteócitos puderam ser observados entremeados na camada de osteóide. Muitas células indiferenciadas em região endostal ou em grandes gaps. Envolvendo o osso, material fibroso abundante, com diversos sinusóides e muitos osteoblastos desorganizados pelo tecido. Em algumas lâminas pôde-se observar algumas zonas de osso desorganizado, com grande atividade reabsortiva em superfície óssea e deposição mineral próxima a osteoblastos. Muitas células indiferenciadas, com alguns osteoblastos visíveis. áreas de tecido cartilágneo em processo de calcificação, em grande atividade osteoclástica. Em muitas lâminas pôde-se observar quebras do material, por falha de técnica (Figuras 13 a 15) Em alguns animais pode-se observar calo ósseo de tamanho avantajado (Figuras 16 e 17).

Figura 13 - Calo ósseo de asa dinâmica, (animal 1, grupo 1) Mostrando osso cortical organizado, com diversos gaps de reabsorção, dentro dos quais se pode observar camada de osteóide (lilás) recobrindo as margens internas destes, e camada de osteoblastos (roxo escuro) recobrindo a anterior. (TF): Tecido fibroso em margem periostal, com fina camada de osteóide em toda a sua superfície (lilás) recoberta de osteoblastos (roxo escuro) e osteoblastos e células indiferenciadas entremeadas no tecido fibroso. Rachaduras de falha de técnica por todo o osso

Figura 14 - Osso cortical de asa dinâmica (animal 3, grupo 1), com gaps de reabsorção menores e mais numerosos em margem endostal e coalescência de gaps, formando gaps maiores em margem periostal. Camada fina de osteóide (lilás) em fase avançada nas superfícies internas dos gaps, recoberta de camada de osteoblastos (azuis): ambas as camadas são maiores em região periostal. Grande área de reabsorção com larga camada de osteoblastos (roxo) em margem periostal

Figura 15 - Osso cortical da asa dinâmica (animal 4, grupo 1). Cortical óssea com poucos grandes gaps de reabsorção, com superfícies internas revestidas de camada de osteóide e pequena camada de osteoblastos. Gaps repletos de células indiferenciadas. Em superfície endostal, formação de osso desorganizado (esquerda) e grande volume de tecido cartilaginoso (TC) em fase de mineralização (em preto, entremeando a cartilagem)

Figura 16 - Asa dinâmica (animal 5, grupo 2) em que foi observado calo ósseo volumoso. Osso cortical desorganizado com muitos gaps de reabsorção de diversos tamanhos e finas camadas de osteóide em fase inicial, recobertas por camadas de osteoblastos em apenas alguns gaps. Grande quantidade de células indiferenciadas dentro dos gaps e ao redor do osso. Intersecção de tecido cartilaginoso (TC) e início de mineralização do mesmo, com formação óssea. Algumas rachaduras do material por falha da técnica

Figura 17 - Úmero (animal 5, grupo 2): asa dinâmica

5.4.2 Asas Estáticas

Na maioria das lâminas pôde-se observar osso cortical desorganizado com grandes áreas de reabsorção, com superfícies totalmente recobertas por camadas de osteóide desorganizado de diferentes espessuras, recoberto por osteoblastos visíveis e diversas células não diferenciadas no interior dos gaps de reabsorção, assim como nas superfícies externas do osso. Nas áreas menores de reabsorção camada mais densa de osteóide. Algumas trabéculas presentes em algumas lâminas. Muitos osteócitos entremeados em camada de osteóide. Grande quantidade de tecido fibroso próximo às superfícies ósseas, com presença de muitos osteoblastos e células indiferenciadas. Sinusóide principalmente no tecido fibroso periostal, mas também presentes no interior dos gaps de reabsorção. Algumas lâminas apresentaram quantidades pequenas de osteóide e osteoblastos, com grande atividade osteoclástica. Algumas fraturas do material por falha de técnica (Figuras 18 a 20).

Figura 18 - Osso cortical (animal 1, grupo 1). Detalhe de trabéculas ósseas (T), com tecido cartilágneo formando osso (células cartilágneas entremeadas em cortical desorganizada). Fina camada de osteóide (lilás) recobrimdo trabéculas e larga camada de osteoblastos (Ob) sobre a anterior. Muitos sinusóides (Ss) presentes. Grande quantidade de células indiferenciadas entremeando as trabéculas

Figura 19 - Asa estática (animal 3, grupo 1) em que foi observado calo ósseo avantajado. Osso cortical desorganizado com grandes gaps de reabsorção e formação óssea, recoberto por larga camada de osteóide (O)(lilás), contendo muitos osteócitos (Ot), e recoberta por larga camada de osteoblastos (Ob). Células indiferenciadas no interior dos gaps. Alguns sinusóides (Ss) dentro dos gaps

Figura 20 - Úmero (animal 3, grupo 1); asa estática

5.4.3 Asas Intactas

Osso cortical organizado com baixa porosidade, diversos pequenos gaps, com poucas células, em sua maioria indiferenciadas, alguns osteoblastos. Sinusóides presentes em alguns gaps. Formação de algumas trabéculas ósseas. Presença de poucas pequenas camadas de osteoblastos em algumas superfícies (Figura 21).

Figura 21 - Osso cortical (animal 3, grupo 2) com baixa porosidade e baixa celularidade. Observa-se pouca alteração tanto endostal quanto periostal

Figura 22 - Demonstração de como foi realizada a técnica de histomorfometria. A imagem de cada lâmina foi observada em tela de computador, utilizando-se de placa para digitalização e mouse, para delinear as áreas recobertas por osso (em azul), cartilagem (em cor salmão), tecido fibroso (em verde), etc., sendo que este traçado foi feito em cada quadrado menor (por exemplo: A 1), e ao final, o programa de computador OsteoMeasure® calculou valores totais para cada lâmina

5.5 Estatística

5.5.1 Morfometria

Usando-se nível de significância de 5%, o comprimento dos úmeros dos animais do grupo 1 não apresentou variação entre a asa móvel e a asa estática ($P = 0,624$), nem a amplitude das asas destes animais demonstrou diferença ($P = 0,597$).

As asas móveis e intactas dos animais do grupo 2 também não apresentaram variação entre si, em relação ao comprimento dos úmeros ($P = 0,681$), ou amplitude da asa ($P = 0,231$).

5.5.2 Osteometria

Foram analisadas as relações entre asas estáticas e intactas, entre asas estáticas e dinâmicas, e entre asas intactas e dinâmicas, para os diferentes aspectos avaliados através da osteometria, com nível de significância de 5%, sendo significativo quando menor do que 0,05 (Tabela 8).

Tabela 8 - Relação entre asa estática e intacta, entre asa estática e dinâmica e entre asa intacta e dinâmica, nos diferentes aspectos avaliados, com nível de significância de 5%

	Asa Estática, Asa Intacta	Asa Estática, Asa Dinâmica	Asa Intacta, Asa Dinâmica
Volume ósseo	0,0705	0,4395	0,1724
Volume de tecido fibroso	0,6363	0,1241	0,0428
Superfície de osteoblastos	0,0609	0,9941	0,0322
Volume de osteóide	0,2396	0,8229	0,1192
Volume de vasos sanguíneos	0,2706	0,4961	0,5459
Volume de cartilagem	0,9448	0,4657	0,4192
Superfície de osteoclastos	0,5662	0,5326	0,2052
Superfície óssea/volume ósseo	0,0359	0,6466	0,0457

Discussão

6 DISCUSSÃO

Bush (1977, 1983), Withrow, (1982), Maccoy, (1991, 1992), Martin e Ritchie (1994), West et al. (1995), Redig (2000), Tully (2002) e Helmer e Redig (2006) realizaram estudos importantes sobre a cicatrização óssea em aves, incluindo estudos fisiológicos da maturação óssea, bem como da consolidação de fraturas, estudos quantitativos e qualitativos das diversas técnicas já conhecidas em mamíferos, porém que eles aplicaram às aves, e determinaram os princípios da ortopedia para aves, consolidando assim esta ciência.

. Lind, Gushwa e Vanek (1988), Kusma e Hunter (1989), Rosenthal, Hillyer e Mathiessen (1994), Meij, Hazewinkel e Westerhof (1996), Coles (1996), Degernes, Roe e Abrams (1998), Wander et al. (2000), Alievi et al. (2001), Mathews, Danova, Newman, Barnes e Philips (2003), descrevem casos clínicos em que utilizaram diversas técnicas inéditas para aves, inclusive a enxertia óssea, o uso de osso cortical intramedular, diversas técnicas de fixação externas e internas, que precederam e embasaram esta pesquisa.

Segundo Bush (1977) o principal calo ósseo nas aves é intramedular, e este provê suporte rápido e rígido, em fratura bem alinhada e estável, enquanto o calo ósseo periosteal provê suporte secundário não sendo tão extenso quanto o anterior. Observou-se predominância de calo ósseo periosteal em algumas radiografias, o que foi relacionado à baixa estabilidade da fratura, tendo sido mais relacionado às asas estáticas do que às dinâmicas. Não foi possível observar o calo ósseo endosteal, possivelmente devido ao tamanho reduzido dos ossos, e à impossibilidade de ampliar as imagens obtidas, o que dificultou a classificação radiográfica das fraturas.

As técnicas de esterilidade utilizadas seguiram preceitos propostos por Withrow, (1982), Bush, (1983), Lind, Gushwa e Vanek, (1988) e Maccoy, (1991), e juntamente com tratamento indicado por Pollock, Carpenter e Antinoff (2005), garantiram a não infecção dos animais.

Os fixadores externos são versáteis e rígidos, além de serem bem aceitos pelas aves (MACCOY, 1992) podendo ser utilizados em diversos tipos de afecções ortopédicas em aves, como apontado nos trabalhos de Meij, Hazewinkel e Westerhof (1996), Rosenthal,

Hillyer e Mathiessen (1994), Bush (1977) e Redig (2000). O uso do fixador articulado levou à consolidação de todos os ossos, tanto das asas dinâmicas quanto das estáticas de todas as aves de ambos os grupos.

O tempo de consolidação de aproximadamente 6 semanas, como pode ser observado nas tabelas 1 e 2, das asas dinâmicas de ambos os grupos foi relativamente rápido para o baixo nível de estabilidade obtido com o fixador articular, sendo que este somente apresentava um pino distal à fratura, no úmero. A consolidação das asas estáticas se deu em 6 semanas para quatro animais do grupo 1, sendo este tempo considerado rápido, e em 12 semanas para os outros dois animais, sendo estas consideradas consolidações retardadas. Bush (1977) e Martin e Ritchie (1994) consideram 3 a 8 semanas o tempo normal para consolidação de fraturas bem alinhadas e com fixação rígida, sendo 9 semanas o tempo esperado para a consolidação de fraturas com baixa estabilidade em pombos. Radiologia é técnica importante para a avaliação da consolidação óssea, como apontados por Wander et al. (2000), e o uso de classificação adaptada dos estudos de Silva (1998) foi adequado para a avaliação radiográfica da consolidação óssea nas aves.

A consolidação clínica somente foi testada quando se observou consolidação radiográfica, tendo ocorrido para a maioria dos animais neste tempo, para asas estáticas e dinâmicas, portanto não se pode comparar à afirmação de Martin e Ritchie (1994) de que a consolidação clínica ocorre de 2 a 3 semanas antes da consolidação radiográfica, o que também foi observado por Alievi et al. (2001). A consolidação radiográfica e foi observada antes da consolidação clínica em dois animais do grupo 1, sendo que possivelmente isto ocorreu devido a uma má interpretação destes exames radiográficos. A avaliação radiográfica é importante para o diagnóstico e controle de fraturas, porém deve-se utilizar da avaliação clínica, além de outros métodos.

Ocorreram fraturas iatrogênicas nas ulnas de 5 pombos do grupo 1, como demonstrado na tabela 1, provavelmente porque os pinos rosqueados eram de tamanho adequado para o úmero, porém talvez um pouco grandes para a ulna, que em alguns animais apresentava diâmetro menor do que na média. Devido à seleção aleatória das asas, estas fraturas não foram relacionadas a um único tipo de fixação, não parecendo influenciar diretamente nos resultados. Todas as ulnas que sofreram fraturas iatrogênicas consolidaram antes dos úmeros (aproximadamente 21 dias após a cirurgia).

Optou-se pela utilização de pinos semi-rosqueados devido às conclusões do trabalho de Degernes, Roe e Abrams. (1998) e isto garantiu a não soltura dos mesmos, durante o período necessário para a consolidação.

A liberação dos pombos do grupo 2 em sala durante 5 semanas, permitindo o voo segundo a capacidade de cada animal, demonstrou ser alternativa adequada para a reabilitação física proposta por Martin e Ritchie (1994), com aumentos progressivos na amplitude de movimento e exercícios, já que adesões de ligamentos e tendões e lesões do patágio podem causar limitação do voo, mesmo quando a fratura se resolveu por completo, o que ocorre principalmente quando as articulações são imobilizadas por períodos prolongados (WITHROW, 1982; LIND; GUSHWA; VANEK, 1988; HELMER; REDIG, 2006). Isto permitiu movimentação livre das asas e ao mesmo tempo evitou o estresse da contenção mecânica e da fisioterapia passiva, além de respeitar o tempo de retorno à função da asa de cada ave. Martin e Ritchie, (1994) acreditam que a reabilitação pós-operatória é vital para garantir a re-vascularização local, melhorando tecidos lesados e a consolidação óssea, sendo que técnicas ativas e passivas de reabilitação devem ser utilizadas assim que possível após a cirurgia.

Os animais utilizaram as asas dinâmicas com frequência crescente, começando a esticar a asa apenas uma vez e recolhendo-a novamente nas primeiras semanas, e então iniciando movimentos de bater as asas para alongamento dos músculos (comportamento normal das aves) nas próximas semanas. Os animais do grupo 2 fizeram tentativas logo após a retirada do implante até finalmente levantarem voo e se moverem com destreza no ar antes de 13 semanas. Possivelmente devido a estas movimentações, a atrofia muscular observada nestas asas foi bem menor do que a observada nas asas estáticas. A manutenção da musculatura possivelmente ajudou na consolidação, mantendo boa vascularização, além de auxiliar no apoio mecânico ao osso, teoria que condiz com a afirmação de Gerstenfeld e Einhorn, (2006) de que há dados que comprovam que alguns aspectos de estimulação mecânica promovem consolidação.

Os comprimentos dos úmeros da asa dinâmica e da asa estática de cada ave do grupo 1 foram comparados (Tabela 3), sendo que a asa dinâmica apresentou em média, 99,1% do tamanho da asa estática em cada ave. A mesma análise foi feita para os animais do grupo 2 (Tabela 4), e as asas dinâmicas representavam em média 99,5% do tamanho dos úmeros das asas intactas. Pode-se afirmar que o método de fixação

proposto garante o alinhamento anatômico proposto como fundamental por Helmer e Redig (2006), mantendo comprimento mínimo adequado do úmero, demonstrando que a técnica de fixação articulada é viável em comparação à técnica clássica de anquilose da articulação e mesmo mantendo proporções anatômicas quando comparada à anatomia normal da asa.

A amplitude da asa, no grupo 2 (Tabela 4, Gráfico 4), demonstrou que a relação da asa operada para a asa intacta foi de 93%, denotando capacidade reduzida de movimento da articulação, possivelmente devido à inflamação e alterações degenerativas da articulação, causadas pela instabilidade da fratura. Os animais provavelmente apresentariam capacidade adequada de vôo em condições naturais, porém não há trabalhos que comprovem a amplitude mínima de asa adequada para o vôo. Nenhum pombo do grupo 2 apresentou recolhimento completo da asa operada, porém eram capazes de apresentar postura ereta, bom equilíbrio e recolhimento parcial a quase total da asa, e ao final do experimento, todos apresentaram capacidade de vôo adequada, em ambiente controlado.

O mesmo valor foi calculado para o grupo 1 (Tabela 3, Gráfico 1), e neste pudemos notar que a relação da amplitude foi de 105%, o que era esperado pois as asas estáticas sofreram anquilose parcial de sua articulação inabilitando-as de movimento amplo, porém não restringindo totalmente o movimento. Durante todo o experimento foi possível observar que os pombos do grupo 1 apresentavam dificuldade e dor na movimentação da asa estática, nunca sendo capazes de recolhê-la junto ao corpo, mostrando-se desequilibrados, e em dois casos, arrastando a asa junto ao solo.

Estatisticamente a amplitude de asa dos pombos do grupo 2 foi adequada quando comparamos a asa dinâmica à asa intacta, e pode-se dizer que a técnica proposta é eficiente em manter amplitude adequada de asa, sendo possível o vôo em ambiente controlado. Mais estudos são necessários para determinar se a técnica garante a reabilitação total do animal, garantindo situação adequada para a liberação na natureza.

O calo ósseo foi pesado, e dividido pelo comprimento do mesmo, sendo assim o valor expresso em g/cm, para que fosse possível fazer uma comparação mais fidedigna em relação à composição do calo, e não em relação ao seu tamanho. Nos animais do grupo 1 (Tabela 3, Gráfico 3), o calo ósseo foi aproximadamente 32% mais pesado na asa dinâmica do que na asa estática, possivelmente demonstrando que este era mais

denso nas asas dinâmicas, indicando possível calo formado por osso mais organizado e menos trabeculado. Se compararmos este valor ao peso dos ossos inteiros (Tabela 3, Gráfico 2), calculado da mesma maneira, sendo expresso em g/cm; os ossos da asa dinâmica, somavam 99% do peso dos ossos da asa estática de cada animal, o que poderia indicar que os calos nas asas estáticas eram mais extensos do que nas asas dinâmicas, apesar de menos densos, sendo que calos mais extensos geralmente estão relacionados à maior instabilidade da fratura (BUSH, 1983).

Para os animais do grupo 2 (Tabela 4, Gráfico 6), o peso do calo ósseo da asa dinâmica foi aproximadamente 47,8% o peso do osso intacto, quando comparados em mesmo comprimento, expressos por g/cm, o que pode ser explicado pela menor densidade óssea presente no calo em relação a osso cortical intacto. A relação entre o peso do osso inteiro (Tabela 4, Gráfico 5) da asa dinâmica e do osso inteiro da asa intacta foi de 78,4%, novamente explicados pela baixa densidade presente no calo, apesar de este aparentar maior tamanho em relação ao osso cortical intacto. Esta diferença de densidade pode ser observada nas figuras histológicas (figuras 14 e 21), quando comparamos visualmente o osso presente em calo ósseo (tanto das asas dinâmicas quanto das estáticas) e em osso cortical intacto.

A opção pelo uso de fixador externo foi adequada, garantindo pequeno tempo cirúrgico, não necessitando de um segundo ato cirúrgico para sua remoção, além de demonstrar ser um implante de baixo peso total, aproximadamente 7% do peso do animal, vantagens apontadas por Bush (1983) e Coles (1996). O método apresentado por Kusma e Hunter (1989) é um método bom para a fixação rígida de fraturas, e possivelmente poderia ser utilizado em fraturas mais distais de úmero, porém mesmo após a retirada da placa, o peso do polimetilmetacrilato no canal intramedular provavelmente não permitiria o vôo dos animais, causando um desequilíbrio entre as duas asas.

O estudo morfométrico dos úmeros de ambos os grupos, incluindo asas intactas, estáticas e dinâmicas, demonstrou que o método proposto de osteossíntese com pouca rigidez, com uso de fixador externo articulado, e manutenção da articulação úmero-rádio-ulnar, quando comparado ao uso do mesmo fixador, porém com a anquilose da mesma articulação (fixação mais rígida), é método viável quanto à formação do calo ósseo e manutenção do comprimento do osso e amplitude da asa.

A infusão do fixador através da aorta foi um método complicado, apresentando dificuldades devido ao tamanho reduzido da mesma, e algumas vezes levando à sua ruptura, sendo que a técnica teve de ser finalizada através da infusão do fixador pela artéria subclávia. Apesar destas dificuldades, o material foi preservado adequadamente pelo fixador de Karnovsky modificado descrito por Nyengaard e Marcussen (1993) e mantido sem danos das amostras até que estas fossem emblocadas.

Optou-se por fazer a histomorfometria do material coletado, pois esta permitiu a mensuração de componentes morfológicos, e, com esta, pretendia-se a avaliação e comparação da formação de calo ósseo nos diferentes sistemas utilizados, além da comparação com o controle, sendo o osso intacto usado para este fim, como mostra o trabalho de Eriksen, Axelrod e Melsen (1994).

Seguiu-se os protocolos de desidratação e emblocamento com material plástico como descrito por Westlerlind et al. (1997) e Yingling et al. (2007). A espessura utilizada para a secção das amostras foi de 5 μm , como no trabalho de Westerlind et al. (1997), porém houve muitas fraturas em algumas amostras, claramente na parte cortical dos ossos. Ainda assim esta espessura demonstrou ser a mais adequada para este experimento, tendo sido testadas as espessuras de 3 a 10 μm , e esta sendo a que demonstrou menos falhas.

O uso de material não descalcificado foi adequado para a avaliação da mineralização, bem como da porosidade de osso cortical e presença de trabéculas, como descrito por Eriksen, Axelrod e Melsen (1994). O uso do sistema de análise de imagem permitiu a análise do volume ósseo, tecidos fibrosos, superfície de osteoblastos próximos ao osso, volume de osteóide total presente no campo estudado, volume de vasos sanguíneos maiores, volume de cartilagem, superfície de osteoclastos em contato com superfícies ósseas, e finalmente, superfície óssea dividida pelo volume ósseo, valores importantes para a qualificação do calo ósseo formado (WESTERLIND et al., 1997; YINGLIND et al., 2007).

Devido a dificuldades observadas com o uso de outra técnica previamente determinada, decidiu-se que a avaliação do material seria realizada em laboratório especializado na Universidade da Florida. Foi realizada avaliação parcial do calo ósseo na histomorfometria e imagens, assim como a descrição histológica dos diferentes tratamentos usados para facilitar a compreensão da situação de cada calo ósseo.

O volume ósseo (Tabelas 5, 6 e 7, Gráficos 9, 10 e 11) foi avaliado através do delineamento de todas as partes calcificadas, demonstradas pela coloração negra. Não houve diferença significativa entre asa estática e dinâmica e mesmo entre estas e asa intacta (controle), mas em valores absolutos, o volume ósseo da asa dinâmica se aproximou mais do controle do que a asa estática. West et al. (1995) observaram osso modelado nas fraturas de aves tratadas com bandagem, em seu experimento, aos 45 dias. Em nosso experimento observou-se histologicamente, osso não modelado na maioria dos úmeros tratados, tanto das asas dinâmicas quanto das estáticas, possivelmente devido à instabilidade das fraturas: a bandagem, como foi usada no trabalho de West et al. (1995), apesar de ser uma fixação instável, sendo pouco indicada para fraturas semelhantes em cães, impede as aves de mobilizarem o membro, enquanto as fixações utilizadas em nosso experimento, permitem a mobilidade, completa das asas dinâmicas, e parcial das asas estáticas (a movimentação da articulação escápulo-umeral foi mantida), o que poderia levar ao retardo do remodelamento ósseo, apesar de a consolidação haver sido concluída.

O volume de cartilagem (Tabelas 5, 6 e 7, Gráficos 9, 10 e 11) presente no calo foi considerado baixo em todos os casos proporcionalmente às outras células observadas. Grandes volumes seriam pouco interessantes na fase estudada da consolidação, considerada uma fase tardia nas aves, pois segundo West et al. (1995), mesmo com uma fixação pouco rígida, como a bandagem em “oito” espera-se não observar mais tecido cartilágneo no calo ósseo a partir dos 21 dias após a fratura e tratamento. O volume de cartilagem foi de 0,08% nas asas estática e 0,8% nas asas dinâmicas, sendo este número muito alterado pela grande presença de tecido cartilaginoso em uma das amostras (desvio padrão de 2,8). O osso intacto não apresentou cartilagem.

O volume de vasos sanguíneos (Tabelas 5, 6 e 7, Gráficos 9, 10 e 11), não apresentou diferença significativa entre nenhuma das asas, porém em números absolutos, foi maior, nas asas intactas, seguido das asas dinâmicas e em menor volume nas asas estáticas, porém devido à coloração e ao método de avaliação, a quantificação de sinusóides foi grandemente dificultada, não havendo sido feita quantitativamente, sendo contados apenas os vasos de paredes mais largas. É da opinião dos pesquisadores que, levando-se em consideração a presença de tais sinusóides, através da avaliação visual, o volume de vasos sanguíneos tanto nas asas estáticas quanto nas dinâmicas

seria muito maior, como pode ser visto na figura 18. Portanto é errado concluir que haja baixa vascularização nos focos de ossificação. West et al. (1995) também observaram grande vascularização em cavidade intramedular bem como em tecido fibroso ao redor do periósteo, aos 45 dias em fraturas tratadas com bandagens. A grande presença de sinusóides na fase adiantada em que os calos se encontravam pode demonstrar tempo prolongado de consolidação óssea, mas ainda assim denota fixação suficientemente rígida, já que tal vascularização dificilmente sobreviveria em ambiente instável. A vascularização é notoriamente muito importante para a consolidação de fraturas ósseas, pois segundo Tully (2002) fraturas cominutivas têm melhores chances de cura quando os fragmentos apresentam suprimento sanguíneo adequado que nutre o periósteo. O fixador articulado manteve suprimento adequado, demonstrando ser boa técnica para fixação de fraturas, quanto a este importante aspecto levantado por Tully (2002).

O volume de tecido fibroso (Tabelas 5, 6 e 7, Gráficos 9, 10 e 11) observado nas lâminas apresentou diferença significativa entre controle e asa dinâmica, mas nenhuma diferença significativa entre controle e asa estática e entre asas estática e dinâmica. A ocorrência de tecido fibroso nas asas intactas é baixa. Nos calos ósseos, está comumente presente em baixas quantidades, porém West et al. (1995) também observaram grande quantidade deste tecido presente nos calos ósseos em seu experimento, sendo assim possível que este esteja mais presente na consolidação de aves do que é observado em mamíferos, seja por diferenças na consolidação entre estes dois grupos, ou talvez porque nunca se atinja mesmo nível de estabilidade em fraturas de aves, devido às características ósseas citadas por Helmer e Redig (2006). A asa dinâmica de um dos animais do grupo 2, apresentou calo ósseo de tamanho avantajado, sendo os volumes de tecido fibroso e de tecido cartilaginoso excepcionalmente grandes, aparentando, histologicamente, um calo ósseo em fase inicial de consolidação, porém o calo era rígido, e foi considerado consolidado às avaliações clínica e radiográfica. Possivelmente este indivíduo apresentou consolidação fora do padrão, mas devido ao número pequeno da amostra, isto causou alteração estatística.

Osteoblastos são células fibroblásticas, que compõe uma única camada na superfície óssea. Nas áreas de grande formação de matriz óssea, eles se apresentam colunares e agrupados, enquanto em áreas de quiescência, apresentam-se compactos. Durante o desenvolvimento ósseo, os osteoblastos produzem matriz desmineralizada (osteóide ou

colágeno tipo I), quando o colágeno é formado de maneira adequada, o osteóide se transforma em osso totalmente mineralizado (TULLY, 2002), por isto considerou-se importante sua análise quantitativa, como forma de avaliar a consolidação óssea. A avaliação quantitativa de osteoblastos e osteoclastos (Tabelas 5, 6 e 7, Gráficos 12, 13 e 14) foi feita através da superfície destas células em contato direto com tecido ósseo, pois a análise era feita em duas dimensões, não se podendo avaliar uma terceira dimensão pois osteoblastos e osteoclastos que estivessem separados da superfície óssea, poderiam estar anexos à outra superfície óssea que foi retirada durante a confecção da lâmina, pertencendo assim à outra camada, o que levaria a uma contagem errada deste número. Também é esperado um número mínimo de osteoblastos e osteoclastos presentes nas asas intactas, devido à reabsorção e deposição da matriz óssea, normais, como realmente foi observado: 8% e 0,03% respectivamente. Estas células devem estar presentes em grandes números durante a consolidação óssea considerada adequada, na fase de remodelamento. West *et al.* (1995) observaram muitos osteoblastos presentes em endóstio e perióstio, e alguns osteoclastos, o que é compatível com o que foi observado em nosso estudo. Houve diferença significativa entre o número de osteoblastos das asas intactas (aproximadamente 8%) e nas asas dinâmicas (aproximadamente 28%), porém não houve diferença entre as asas estáticas (aproximadamente 28%) e intactas e entre as asas dinâmicas e as asas estáticas, e também não houve diferença do número de osteoclastos entre nenhum tipo de asa (0,6% para asas estáticas e 1,2% para asas dinâmicas).

Observou-se formação de osteóide, ou colágeno do tipo I em praticamente todas as lâminas, não se observou diferença significativa entre os tipos de asas, para esta substância. O osteóide é uma matriz formada de colágeno tipo I, produzida por osteoblastos. Esta matriz é composta principalmente de colágeno (90% do conteúdo orgânico) e posteriormente torna-se mineralizada, porém sempre existe uma fina camada de matriz não mineralizada entre osso e osteoblastos (TULLY, 2002), como pode ser observado por exemplo, nas figuras 16 e 18. Em muitas lâminas (por exemplo na figura 14) pode-se observar osteóide mais bem definido. Em outras lâminas, o osteóide está entremeado de células cartilaginosas ou ainda já em processo de calcificação, podendo estes ocorrer em uma mesma lâmina (Figuras 15 e 16).

A razão da superfície óssea pelo volume ósseo (Tabelas 5, 6 e 7, Gráfico 15) indica a quantidade de áreas de reabsorção. Esta razão é baixa em osso cortical, como é observado nas asas intactas deste estudo, é também baixa nas fases mais tardias da consolidação óssea, quando já há menos áreas de reabsorção e deposição de matriz óssea. A razão é alta em ossos esponjosos, e mais alta, em calos ósseos em fase ativa de consolidação. Não houve diferença significativa entre as asas estática ($63 \text{ mm}^2/\text{mm}^3$) e dinâmica ($57 \text{ mm}^2/\text{mm}^3$), porém houve diferença significativa entre estas e os controles ($27 \text{ mm}^2/\text{mm}^3$).

De maneira geral, todos os aspectos estudados demonstraram que os ossos da asa dinâmica apresentaram resultados semelhantes ou melhores em relação aos observados para as asas estáticas, inclusive observações qualitativas demonstraram que as asas dinâmicas impuseram menor dor, a médio e longo prazo e apresentavam melhor posicionamento do que as asas estáticas. À eutanásia pôde-se observar melhor preservação da musculatura na asa dinâmica, o que normalmente está relacionado à melhor vascularização e estabilidade da fratura (MARTIN; RITCHIE, 1994; HELMER; REDIG, 2006). E por fim, os resultados do estudo histomorfométrico demonstraram que o calo ósseo era semelhante quantitativamente em todos os aspectos estudados.

O fixador externo articulado demonstrou ser técnica rígida o suficiente para garantir a consolidação óssea, bom alinhamento e breve retorno à função, o tempo cirúrgico foi considerado razoavelmente baixo e esta técnica pode ser feita sem interferência no foco de fratura, além de ter demonstrado ser tolerado pelos animais sem maiores intercorrências, todos estes sendo objetivos apontados por Bush (1977) e MacCoy (1991, 1992), para garantirem o sucesso de técnicas ortopédicas para fraturas em aves.

Conclusões

7 CONCLUSÕES

- O modelo de fixador externo é viável para osteossíntese em asas, sendo bem suportado pelos animais, e apresentando facilidade no tratamento destas fraturas.

- O modelo inédito de fixador articulado em fraturas distais de úmero em aves, levou à consolidação de todas as fraturas distais de úmero.

- O método de manutenção da função da asa, utilizando-se o fixador de maneira dinâmica, ou seja com manutenção da função da articulação, recobrou a função de vôo em todas as aves tratadas.

- Quando comparado ao tratamento do mesmo tipo de fratura, através da anquilose da articulação, com o fixador sendo utilizado de maneira estática, a consolidação através do método dinâmico demonstrou ser semelhante ou superior.

Portanto conclui-se que a fixação dinâmica constitui um método adequado para a reparação de fraturas distais de úmero em aves quando se pretende a reabilitação destes animais.

Referências

REFERÊNCIAS

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

BUSH, M.; External fixation of avian fractures. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, v. 171, n. 1, p. 943 - 946, 1977.

BUSH, M.. External fixation to repair long bone fractures in larger birds. In: KIRK RW, (ed.) **Current veterinary therapy VIII**. Philadelphia: W. B. Saunders: p. 629-633, 1983.

COLES, B. H. Wing problems, In: BEYNON P. H. Manual of psittacine birds. Shurdingnton **Publication of the British Small Animal Veterinary Association**: p. 134-146, 1996.

DEGERNES, L. A.; ROE, S. C.; ABRAMS, Jr. C. F. Holding power of different pin designs and pin insertion methods in avian cortical bone. **Veterinary Surgery**, v. 27, n. 4, p. 301-306, 1998.

ERIKSEN, E. F.; AXELROD, D. W.; MELSEN, F. **Bone histomorphometry**, (An official publication of the American society for bone and mineral research) New York Lippincott Williams & Wilkins, 1994.

GERSTENFELD, L. C.; EINHORN, T. A. Fracture healing: the biology of bone repair and regeneration In: FAVUS, M. J. **Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism**. 6 ed. Chicago: The American Society for Bone and Mineral Research. 2006. p: 42-48.

HELMER P.; REDIG, P. T. Surgical resolutions of orthopedic disorders. In: HARRISON, G. J.; LIGHTFOOT, T. L. **Clinical avian medicine**. Palm Beach: Fl. Spix Publishing Inc., 2006. v.2 p. 761-774.

KUSMA, A. B.; HUNTER, B. Osteotomy and derotation of the humerus in a turkey vulture using intramedullary polymethylmetacrilate and bone plate fixation. **Canadian Veterinary Journal** v. 30, p. 900 – 901, 1989.

LIND P. J.; GUSHWA, D. A.; VANEK, J. A. Fracture repair in two owls using polypropylene rods and acrylic bone cement. Colorado. **Association of Avian Veterinarians Today**. 1988.

MACCOY, D. M. General Principles of Avian Surgery, **Compendium on Continuing Education for Practicing Veterinarian**, v. 13, n. 6, p. 989 – 992, 1991.

MACCOY, D. M. Treatment of fractures in avian species. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 22, n. 1, p. 225 - 238, 1992.

MARTIN H.; RITCHIE B. W.; Orthopedic surgical techniques. In: RITCHIE B.W., HARRISON G.J., HARRISON L.R., **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, 1999. chap. 42, p. 1137-1169.

MATHEWS, K. G.; DANOVA, A.; NEWMAN, H.; BARNES, H. J.; PHILIPS, L. Ratite cancellous xenograft: effects on avian fracture healing. **Veterinary and Comparative Orthopaedics Traumatology**, v. 16, p. 50-58, 2003.

MEIJ, B. P.; HAZEWINDEL, H. A. W.; WESTERHOF, I. Treatment of fractures and angular limb deformities of the tibiotarsus in birds by type II external skeletal fixation. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 10, p. 153 – 162, 1996.

NYENGAARD, J.R.; MARCUSSEN, N. The number of glomerular capillaries estimated by an unbiased and efficient stereological method. **Journal of Microscopy**, v. 171, Pt. 1, p. 27 – 37, 1993.

POLLOCK C.; CARPENTER J. W.; ANTINOFF N. **Exotic animal formulary**, 3 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005.

REDIG, P. Fractures. In: SAMOUR, J. **Avian medicine**. London: Mosby, 2000. p. 131 – 141.

ROSENTHAL, K.; HILLYER, E.; MATHIESSEN, D. Stifle luxation in a moluccan cockatoo and a barn owl. **Journal of the Association of Avian Veterinarians**, v.8, n.4, p. 173 – 178, 1994.

SILVA M. F. A. **Efeitos do ultra-som de baixa intensidade sobre a cicatrização óssea de fraturas experimentais produzidas nas fíbula de cães (*Canis familiaris*)**. 1998. 72 f. Tese (Doutorado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

TULLY JR, T. N. Basic avian bone growth and healing. **Veterinary Clinic of North American Animal Practice**, v. 5, n. 1, p. 23 – 30, 2002.

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

WEST, P. G.; ROWLAND, G. R.; BUDSBERG, S. C.; ARON, D. N. Histomorphometric and angiographic analysis of bone healing in the humerus of pigeons. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 7, p. 1010 - 1015, 1996.

WESTERLIND, K. C.; WRONSKI, T. J.; RITMAN, E. L.; LUO, Z. P.; AN, K. N.; BELL, N. H.; TURNER, R. T. Estrogen regulates the rate of bone turnover but bone balance in ovariectomized rats is modulated by prevailing mechanical strain. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, n. 8, p. 4199 – 4209, 1997.

WITHROW, S. General principles of fractures repair in raptors. **The Compendium of Continuing Education**, v. 4, n. 2, p. 116 – 121, 1982.

YINGLING, V. R.; XIANG, Y.; RAPHAN, T.; SCHAFFLER, M.; KOSER, K.; MALIQUE, R. The effect of a short-term delay of puberty on trabecular bone mass and structure in female rats: A texture-based and histomorphometric analysis. **National Institute of Health Public Access**, v. 40, n. 2, p. 419 – 424, 2007.

Apêndices

Apêndice A

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 1 - Modelo experimental de fixador articulado

Apêndice B

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 2 - Colocação trans-cirúrgica do fixador, com a colocação da barra média do fixador sobre o úmero, da primeira articulação do fixador, sobre o cotovelo, e das barras menor e maior sobre a ulna, com a segunda articulação do fixador permitindo ajustes trans-cirúrgicos do fixador para cada animal

Apêndice C

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 3 - Exame radiográfico de pós-cirúrgico imediato de asa dinâmica (Animal 1, Grupo 2)

Apêndice D

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 4 - Exame radiográfico da asa dinâmica, seis semanas após a cirurgia (Animal 1, Grupo 2)

Apêndice E

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 5 - Exame radiográfico de asa dinâmica, à eutanásia (Animal 1, Grupo 2)

Apêndice F

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 6 - Exame radiográfico, asa estática, imediatamente após a cirurgia (Animal 2, Grupo 1)

Apêndice G

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 7 - Exame radiográfico de asa estática, seis semanas após a cirurgia (Animal 2, Grupo 1)

Apêndice H

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 8 - Exame radiográfico de asa estática, à eutanásia (Animal 2, Grupo 1)

Apêndice I

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 9 - Úmero após dissecação, do animal 4, grupo 2 – asa dinâmica

Apêndice J

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 10 - Úmero após dissecação, do animal 4, grupo 2 – asa intacta

Apêndice K

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 11 - Úmero do animal 1, grupo 1 – asa dinâmica, após dissecação

Apêndice L

Fonte: Ferraz, V. C. M. (2006)

Figura 12 - Úmero do animal 1, grupo 1 – asa estática, após dissecação