ALINE SCHAFRUM MACEDO

Propriedades biomecânicas de ossos longos de coelhos: correlação com
medidas de absorciometria de raios-x de dupla energia

São Paulo

2020

ALINE SCHAFRUM MACEDO

Propriedades biomecânicas de ossos longos de coelhos: correlação com medidas de absorciometria de raios-x de dupla energia

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

Departamento:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Área de concentração:

Cirurgia Veterinária

Prof. Dr. Cassio Ricardo Auada Ferrigno

De acordo: p/

Presidente da Comissão Julgadora

São Paulo

2020

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T. 3804
FMVZ

Macedo, Aline Schafrum

Propriedades biomecânicas de ossos longos de coelhos: correlação com medidas de absorciometria de raios-x de dupla energia / Aline Schafrum Macedo. – 2020.
117 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2020.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Cassio Ricardo Auada Ferrigno.

1. Densidade óssea. 2. Fenômenos biomecânicos. 3. Elasticidade. 4. Modelos animais. 5. Lagomorfos. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Estudo das propriedades biomecânicas do fêmur de coelho (*Oryctolagus cuniculus*)", protocolada sob o CEUA nº 1793171215, sob a responsabilidade de **Cássio Ricardo Auada Ferrigno e equipe; Aline Schafrum Macedo** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 15/08/2016.

We certify that the proposal "Biomechanical study of the properties of the rabbit femur (*Oryctolagus cuniculus*)", utilizing 24 Rabbits (24 males), protocol number CEUA 1793171215, under the responsibility of **Cássio Ricardo Auada Ferrigno and team; Aline Schafrum Macedo** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 08/15/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **03/2016** a **03/2017**

Área: **Clínica Cirúrgica Veterinária**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Coelhos**

sexo: **Machos**

idade: **4 a 12 meses**

N: **24**

Linhagem: **Nova Zelândia**

Peso: **3 a 4 kg**

Resumo: O objetivo deste estudo será caracterizar as propriedades biomecânicas de ossos longos de coelho (*Oryctolagus cuniculus*) por meio de testes em cadáveres de indivíduos adultos. Serão realizados ensaios de compressão, flexão em três pontos, tenacidade à fratura e força de arrancamento (pull-out) de parafuso cortical. Determinar essas propriedades tem relevância clínica para o estudo das forças que resultam em fraturas de ossos longos nas espécie-alvo, bem como a forma como se comportam os implantes e suas possíveis falhas quando utilizados para o reparo de fraturas em coelhos. Vinte e quatro coelhos saudáveis da linhagem Nova Zelândia Branco, de ambos os sexos, com idade entre 8 e 12 meses e peso corporal de 2,5 a 4 kg (48 fêmures) provenientes de cunicultura regulamentada serão eutanasiados e seus fêmures coletados e dissecados. Oito pares de fêmures serão testados em compressão, oito serão testados em flexão de três pontos, e outros oito em flexão de três pontos após a perfuração de um orifício orifício de 1,1 mm com broca ortopédica. Vinte e quatro fragmentos de ossos de seis animais serão cortados em amostras de 1,5 cm de comprimento após os testes de flexão em três pontos e parafusos corticais de 1,5 mm de diâmetro serão inseridos nos fragmentos para teste de arrancamento do parafuso. Os animais incluídos na pesquisa serão distribuídos, aleatoriamente, em grupos. Cada par de fêmures provenientes de um mesmo animal será submetido ao mesmo teste, para comparação entre si. Os dados serão analisados quanto à normalidade usando um Teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade de variâncias será confirmada com o teste de Levene a 5% de probabilidade.

Local do experimento: Laboratório de Biomecânica do Laboratório de Ortopedia e Traumatologia Comparada da FMVZ USP.

São Paulo, 08 de setembro de 2017

Profª. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Claudia Madalena Cabrera Mori
Vice-Presidente
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: MACEDO, Aline Schafrum

Título: **Propriedades biomecânicas de ossos longos de coelhos:** correlação com medidas de absorciometria de raios-x de dupla energia

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedicatória

Aos meus pais e avós,
Amélia Lass Schafrum, Ari Schafrum, José Antônio Macedo,
Carmen Lucia Schafrum Macedo e Ruben Cesar Macedo

*Agradeço a vocês pelo presente da vida,
E por me ensinarem a não desistir dos meus objetivos,
mesmo que pareçam inatingíveis.*

*Agradeço por incentivarem a minha curiosidade e inquietude
Mesmo que acompanhada pela irritante teimosia.*

*Agradeço por me mostrarem que não preciso ter limites na
intensidade de amar e respeitar todos os seres vivos,
Sejam plantas, animais ou pessoas.*

*Agradeço por me ensinarem que não se
pode apreciar o doce da vida,
Sem que se conheça o azedo e o amargo.*

*Agradeço até pela mais valiosa e dolorosa lição,
que por muito tempo me recusei a entender.
Que nem munida de todo o conhecimento do mundo,
jamais eu estaria de fato preparada.
Para o momento temido, inesperado e abrupto,
Em que a vida acaba e percebemos que não sabemos nada...*

Com eternas saudades...

A minha amada vó,
Tita,

*Obrigada por ser minha fonte inesgotável de perseverança,
conselhos e exemplos...
E por ter sido minha mãe, amiga, avó
e a essência da minha vida.*

Dedico esse trabalho a todos os **animais**.

Com os quais já convivi, dos quais já me alimentei ou me aqueci.

Agradeço a todos eles que, simplesmente por existirem
(ou por terem deixado de),
Representam vínculos emocionais significativos desde a minha infância
e são a razão fundamental da minha escolha (e perseverança) profissional.

Peço perdão àqueles que não consegui ajudar.
Ou cuja vida precisei interromper.

Agradeço e peço perdão a todos esses seres vivos que já existiram
e aos que ainda virão,
por serem fundamentais para o progresso científico
ao doarem (involuntariamente) suas vidas em prol da humanidade.

E me esforço diariamente para que não seja em vão...

*“What are we gonna do?
We've opened the door, now it's all coming through
Tell me you see it too
We opened our eyes and it's changing the view
Oh, what are we gonna do?
We opened the door now, it's all coming through”*

Florence Welsh

*“A vida não é de se brincar.
Porque em pleno dia se morre.*

*A mais premente necessidade de um ser humano
era **tornar-se** um ser humano.”*

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

Considero essa a mais importante e valiosa parte do meu trabalho. A experiência humana e os aprendizados que dela posso usufruir. Cada vez mais sinto que o importante não é cruzar a linha de chegada impecavelmente. Pelo contrário. É justamente por todos os machucados decorrentes das pedras no caminho e - mais ainda- pelas gemas encontradas nele, que se faz incrível a jornada.

As gemas, a meu ver, são os vínculos verdadeiros com (as raríssimas) pessoas do bem que topamos. Meu conceito de família é abstrato, logo não estou apta a comparar a resistência subjetiva desses elos a qualquer liga metálica. No entanto, devido à sua infrequência, sinto-me segura em estabelecer uma analogia com gemas preciosas. Nem sempre os cristais rochosos passam nos testes não destrutivos de “preciosidade”. A correta identificação se dá por eliminação, como tudo na vida.

Para ser considerada verdadeira, uma gema precisa não apenas ter índices específicos de gravidade, ângulo de refração, dispersão ou dureza. Demonstra diferentes níveis de transparência e até eventuais inclusões minerais arqueológicas, que lhe tomam o brilhantismo, mas contam uma estória. E por isso as fazem únicas.

A transmutação em adorno precioso, com valor monetário, é um feito humano. Seu preço atribuído sempre será relativo, justamente, à sua singularidade e conferido pela subjetividade alheia. Cabe a cada um entender o valor real, ou a falta dele. O processo de polimento para monetização é árduo e demorado. Mescla inspiração artística com normas científicas e padrões matemáticos. São os adornos perfeitos para a coroa figurativa das amizades que encontramos neste plano, indissociável ao nosso bem estar psíquico. Mas que algumas vezes pode mudar de peso.

Cada vez que um dos cristais que polimos (cujo reflexo nos impacta imperceptivelmente) desprende-se para todo o sempre do nosso convívio, parte da pedra fundamental do nosso ser também fratura. Por um motivo ou outro, todas eventualmente se desprenderão. E é através da legitimação da perda – socialmente negligenciada – e ao lidar com suas consequências psicológicas, que reside grande aprendizado. Infelizmente essa dor singular e exclusiva tende a ser anestesiada e omitida na sociedade do consumo e me preocupa a insensibilização coletiva nesses tempos de pandemia.

Agradeço aos meus pais pelo amor e cuidado que dispenderam no tempo em que estivemos juntos, por formarem meu caráter, moldarem meus valores e terem sido fonte de inspiração mesmo após terem partido.

Agradeço incansavelmente à minha avó Tita por ter sido a minha mãe na ausência desta, por toda a paciência, amor, ajuda, colo e por ser um exemplo de perseverança e boa vontade.

Agradeço ao Renato Silva, por todo amor, paciência, ajuda, companheirismo e por ter participado em boa parte da minha caminhada.

Agradeço ao anjo (e mito) César por ser humano de verdade e pelo seu amor em mudar o mundo. Agradeço ao acolhimento também da sua esposa Fernanda, vocês são pessoas iluminadas!

Agradeço imensamente toda a ajuda e confiança do Bruno Minto, outro ser iluminado que encontrei por esse caminho.

Ao professor Alexandre Schmaedecke por ser meu grande propulsor biomecânico ao aprimoramento constante e por me despertar insights para além dessa engrenagem.

Ao colega Julielton Barata por ter me permitido a honra de conhecer as coelhas cujas anatomias me tocaram a alma no trajeto sempre atrasado até o buraco.

À Professora Dra Lisandra Amoroso por toda a ajuda na realização dos exames de densitometria no Laboratório de Morfologia Animal da Unesp Jaboticabal.

Aos amigos Fernando Kawamoto e Carolina Cezaretti pela fundamental ajuda Jaboticabalense nos passeios de skate na selva dos ligres.

Ao Prof. Dr. Cassio Ricardo Auada Ferrigno pela oportunidade ímpar de aprendizado, pelo tempo dispendido, piadas inumeráveis e por contribuir para meu crescimento pessoal e profissional e a sua esposa Vanessa Ferraz por sempre ser incrivelmente inspiradora e pioneira na luta das mulheres na ciência.

Agradeço encarecidamente à secretária do departamento Livia Gimenes por toda a ajuda e empatia durante todo o meu processo, apesar do seu momento tão delicado de luto.

Ao meu querido amigo Paulo Vinicius Tertuliano Marinho por todo o apoio, ensinamentos, inteligência, inspiração e vivências sem preço e preces ao Deus do Freer.

Às duas estrelas magnânimas que iluminaram meu caminho: Professora Denise Fantoni (aquela do livro, segundo o querido Renato Otaviano) e a chefe do serviço de pós graduação Regina Valbom. Sem sua reluzente ajuda eu teria me perdido no caminho.

Agradeço pela amizade e dedicação de todos os colegas e professores anestesistas, fundamentais aos procedimentos cirúrgicos que tive a oportunidade de cooperar dentro da USP. Agradeço por tudo que aprendi com as castrações do projeto da Andressa e da Professora Silva Cortopassi, Flor, Geni, Marco, Lucas, Andressa, Ana Paula e pela ajuda de todos os residentes de todas as áreas.

Não posso esquecer a ajuda estatística (incalculável para mim) do grande e dedicado colega Mário (deixo espaço em branco para brincadeiras).

Não posso deixar de agradecer ao Sérgio – onipresente - das teses, crucial não somente à geração deste saber.

À todos os amigos do Serviço de Ortopedia da FMVZ/USP pelos ótimos momentos, companheirismo, ajuda, compreensão, ensinamentos, e por conseguir manter sempre o clima agradável entre o grupo mesmo enfrentando algumas adversidades e percalços. Agradeço por todo e cada momento e pelo tanto que aprendi com cada um de vocês. TFPQ

Agradeço à família Barbosa Silva pela qual me sinto acolhida. Agradeço pela vivência feminina no jardim da USP embelezada por uma Flor humana e por ter conhecido e aprendido com as profissionais mulheres que me inspiram no mundo USP desde à recepção, administração, clínicas e cirúrgicas até a patologia, que são sempre vencedoras.

Às queridas Juliana Durigan, Vivian Rísoli, Monize, e Vanessinha pela amizade, apoio, companhia e momentos gastronômicos divertidos e por serem especiais.

A todos os enfermeiros, técnicos e demais funcionários indispensáveis ao Hovet FMVZ/USP pelos ótimos momentos, companheirismo, ajuda, compreensão, ensinamentos e o santo e necessário café de Jesus.

À AOVET por todos os cursos e vivências disponibilizadas e que muito valorizo. Agradeço muito a todo o aprendizado envolvido nos processos de colaboração científica com o Professor André Zoppa e na elaboração do artigo da tese da colega Geissiane que me foram inestimáveis.

A todos os funcionários do IOT da Faculdade de Medicina que ajudaram nesse trabalho e tornaram o dia a dia especial, especialmente a Simone e Maria do Carmo.

Agradeço aos novos amigos que fiz nesse tempo e que fizeram toda a diferença, mesmo que na reta final, para conseguir chegar aqui: Luiz, Gustavo, Téo, Luana, Rafa e Tato.

À CAPES, pela bolsa a mim concedida durante o Doutorado.

Ao professor Felipe Wouk por ter me aberto os olhos quanto à busca pelo verdadeiro vôo das águias. Agora fica difícil não me contentar em esculpir o cálice para gerações futuras.

Ao professor Angelo Stopiglia por toda a ajuda e conselhos neste banco de praça (que não conseguirei permanecer sentada pois sempre buscarei novos jardins).

Ao psicanalista Augusto Coaracy por ter que ouvir coisas inimagináveis sem rir e por ter sido fundamental às minhas tentativas em despertar.

Agradeço aos membros da banca examinadora por contribuírem com seus conhecimentos e comentários, indispensáveis para o meu aperfeiçoamento acadêmico.

Agradeço principalmente aos animais por fazerem parte do meu processo de aprendizado e da paixão que escolhi por profissão e por doarem suas vidas diariamente ao bem-estar humano.

Agradeço encarecidamente às ajudas financeiras, emocionais, psicológicas, pelo abrigo e sobretudo pela empatia de todos que me facilitaram a vida nos processos de escrita, depósito, impressão, defesa e vida pós defesa dessa tese.

É justamente na empatia que reside a esperança durante esse período pandêmico para que a natureza não seja abatida pelo vazio artificial de dentro da caverna e valorizo ações que priorizam o bem estar social de qualquer parcela da população. Especialmente os profissionais da saúde e pessoas em situações precárias que inevitavelmente serão mais afetadas no cenário atual. E que reconhecidamente já sofrem mais mazelas psicológicas no seu cotidiano.

Como mencionei na defesa, existem iniciativas nobres e gratuitas de três clínicas nas ruas de São Paulo que funcionam aos sábados (desconheço a situação durante a pandemia): psicanálise na Praça Roosevelt, clínica Pública de Psicanálise (Vila Itooró e casa do povo). Existem escritórios de acolhimento e bem-estar estudantil dentro da USP e profissionais dedicados à assuntos como luto, suicídio, vínculo homem-animal para profissionais da saúde ou para tutores de animais. Assuntos esses urgentes e estigmatizados (que não desisti de explorar melhor em situação mais oportuna).

A conclusão dessa tese transcende o manuscrito que ousou disponibilizar online e foge às normativas padrões esperadas para esta área do saber. O seguimento apropriado não pôde ser explorado a contento pelo soterramento pandêmico que atinge de maneira desigual os diferentes andares da pirâmide de Maslov e que impediram a sua conclusão dentro do prazo vigente. Mas não desisti de dar continuidade às correções. Apenas fui soterrada pelo conhecimento adquirido em todo esse processo. Este trabalho representa a chegada ao cume de uma montanha que venho conquistando há mais de uma década e cuja subida - recheada de tempestades, nevascas e deslizamentos – está para mim - tal qual a conquista do Aconcágua.

Apesar da distância que me encontro dos Andes, minha escalada foi tão improvável e tortuosa quanto seria se tivesse tentado me aventurar até o ponto mais alto das Américas. Aproveito essa oportunidade para agradecer a todos que me ajudaram nos acampamentos base e me inspiraram a superar meus tropeções e percalços que me valeram um ou dois dedos a menos por necrose térmica. Agradeço também àqueles que talvez, até inconscientemente, torceram para que eu ficasse sem oxigênio antes do topo. É justamente nos momentos de apneia forçada e liberação adrenérgica que a vida nos proporciona os mais valiosos insights e forças propulsoras. Devo confessar que apesar de ter travado batalhas incansáveis contra meu espírito de não-conformidade por toda a vida, hoje entendo a legitimidade e importância de agradecer pelos meus sapatos esburacados e imperfeitos que me trouxeram até aqui. Não fosse pelas pedras, rochas, pregos e alfinetes que já lhe corroeram as solas e me fizeram cicatrizes na pele, provavelmente já teria desistido muito antes de reconhecer que o gosto agriado dos dissabores que a vida insiste em nos oferecer tem potencial para nutrir a alma.

Continuo objetivando o autoconhecimento e aperfeiçoamento constante, tentando nadar contra a maré da minha natureza humana que insiste em querer esquecer, esconder e maquiagem os motivos que já me fizeram quase submergir sem retorno nesse mar de subjetividade em que vivemos. Tento me apegar ao dispositivo flutuante de segurança que encontrei nessa mesma correnteza, que é a certeza de que quanto mais entendimento eu tiver sobre os motivos que me levam a querer visitar as profundezas, mais impulso tenho para me manter firme na superfície, lapidando as embarcações e bagagem que levo comigo nesta viagem.

E sei que não é porque a normativa social vigente nos impele a excluir da nossa “timeline” nossas realidades, sentimentos, instintos e deveres gregários, que estamos isentos de culpabilidade do impacto que geramos nas vidas de outros humanos, dos animais e do meio ambiente que estamos ignorando, explorando e aniquilando, não necessariamente nessa mesma ordem.

Respondendo à banca sobre meu futuro profissional e se optarei por seguir como cirurgiã, médica veterinária, artista, poeta, ilustradora, tradutora, escritora, confesso que não tenho como saber nem se chegarei no período pós pandemia. Acho que minha grande resposta é que aceitei que todas essas partes da minha personalidade são nuances indissociáveis.

Aceitei que sou essa miscelânea entrópica de fótons hiperativos e desgovernados dos feixes eletromagnéticos a mim apelidados pela Vanessa em 2009 durante a primeira passagem no LOTC. Parei de fugir de mim mesma e aprendi a valorizar cada vez mais o potencial transformador da minha criatividade intelectual justamente pela resposta polêmica que gerei.

Compreendi que essa é a mais válida e nobre tentativa de deixar um impacto modificador no mundo. Justamente por ter sido muito zombada - não apenas pelo tamanho da minha pegada, mas pelo meu tamanho no contexto geral nas batalhas de transtornos alimentares decorrentes da sempre inadequação social – que por muito tempo me envergonhei de ser verdadeira.

Aprendi a aceitar e não mais esconder todas as tonalidades que me constituem e que me jogam para fora da partitura a cada nova melodia. Mas o gosto de versar sobre essa jornada de resgate humano através do elo animal cresceu no meu âmago e já não é mais possível me manter calada. A plasticidade cerebral notada por Einstein me impõe entraves físicos e filosóficos no encaixe da fechadura. Não acho mais possível retornar ao tamanho inicial após seguir as coelhas.

Os novos questionamentos acerca do que considerava realidade trazem desespero oscilante na incoerência atual e mudaram valores de busca de ideais. O contexto de isolamento social não me é nada inédito pois nunca pertenci ao todo apesar de me esforçar muito para tentar. Mas ainda é muito chocante lidar com o descaso que se deu para a vida do outro e questiono meu propósito existencial nesse mundo de propriedade intelectual

criativa armazenada em “nuvens” digitais e não necessariamente em objetos físicos manufaturados rusticamente e que já me foram motivos de desavenças no mundo acadêmico.

A versão dessa tese em dois idiomas distintos e os artigos gerados também trouxeram ônus às adequações de forma e conteúdo desta versão online. Entendo a produção de escrita e tradução para o idioma inglês (tarefa que consome tempo em estudos e cursos de aprimoramento extracurriculares que tenho prazer em exercer de maneira a manter a fidelidade ao conteúdo original, apesar de não ter formação superior para tal) como passos fundamentais para a internacionalização e divulgação da ciência objetivada pelas agências de fomento e para os indicadores de excelência dos programas de pós graduação, prejudicada por entraves burocráticos e cortes financeiros que - a meu ver - precisam ser revisitados com urgência. Na opinião do Prof. Peter Lees Pearson: “(...) a disseminação do uso do inglês terá impacto na capacidade de publicar artigos de mento para a pesquisa”. A atual editora chefe da revista Nature, Magdalena Skipper, possui doutorado em genética pela Universidade de Cambridge.

Considero a produção, transcrição e publicação do saber como minhas tentativas atemporais (talvez delirantes) de interferir positivamente no mundo e por isso sigo dando meu exemplo e me dedicando à cooperação científica que estabeleci em todas as instituições pelas quais já passei. Como a história nunca foi escrita pela opinião condicionada das maiorias e o avanço científico se deve apenas aos rebeldes, creio que vou aceitar essa minha (inconveniente) característica e que após esse longo processo deixei de querer esconder apenas para tentar (em vão) me adequar. Legítimo e não tenho problemas em falar de todos os percalços e superações psicológicas que me fizeram evoluir e falo delas na esperança de tocar outras vidas que possam estar precisando no silêncio anônimo e invisível publicamente.

Minha coroa de amigos foi crucial para minha jornada. Aprender que muitas vezes seu peso vai atrapalhar na subida e estimular feridas que nunca cicatrizam e que preciso me aceitar no espelho sem nenhum adorno caro ou maquiagem foram resultado desse trabalho. As experiências humanas e as lições morais são para mim mais valiosas que esse tão esperado título.

Não sei mais dizer qual é o ponto final dessa viagem (cuja bagagem aumentou exponencialmente durante o percurso e afetou minhas prioridades e metas dos destinos que

considerava ideais para gerar monetização do meu conhecimento). Sou muito grata às almas do bem que encontrei e me ajudaram em cada uma das estações e faço questão de me empenhar no altruísmo, gratidão e retribuição sempre que preciso.

"E agora José?"

RESUMO

MACEDO, A.S. **Propriedades biomecânicas de ossos longos de coelhos:** correlação com medidas de absorciometria de raios-x de dupla energia. 2020 117f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2020.

Nosso objetivo aqui era fornecer uma caracterização macroscópica e biomecânica sistemática do tecido ósseo coletado dos ossos longos (fêmora, tíbia e úmero) de trinta coelhos fêmeas da Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*) da Nova Zelândia, remanescentes de um experimento de pesquisa anterior de um instituição parceira que seria desperdiçada de outra forma. Após requerer permissão ética de todas as instituições envolvidas neste estudo, colhemos os ossos longos (fêmur, tíbia e úmero) e dissecamos-os dos tecidos moles com dissecação contundente, removendo também a camada periosteal. Nós os avaliamos radiograficamente para excluir amostras de ossos com anormalidades prévias ou sem fechamento epifisial. Registramos suas medidas morfológicas básicas e avaliamos os valores de massa óssea e conteúdo mineral por meio de exames de absorciometria por raios-X de dupla energia. Dividimos os 30 coelhos em três grupos ($n = 10$ coelhos ou 60 amostras ósseas cada), de acordo com o tipo de teste biomecânico a que seriam submetidos: compressão axial, flexão de três pontos e torção. Ossos do mesmo coelho foram submetidos à mesma modalidade de teste. Determinamos os valores normais e comparamos diferenças da esquerda para a direita e possíveis correlações com a massa óssea. Utilizou-se o software livre R para análises estatísticas, utilizando e definido a equivalência estatística em $p > 0,05$. Realizamos um teste de normalidade Shapiro-Wilk para confirmar a homogeneidade das variações. Em seguida, aplicamos um teste de Student emparelhado nos dados normalmente distribuídos e o teste de Wilcoxon para aqueles que não são normalmente distribuídos. Avaliamos possíveis correlações entre dados paramétricos em relação à resistência óssea e massa óssea com um teste de correlação de Pearson; caso contrário, aplicamos o teste de correlação de Spearman. Encontramos apenas uma diferença significativa da direita para a esquerda na rigidez compressiva diafisária das tíbias, provavelmente devido a erros no método de preparação manual. Conseguimos não apenas impedir o desperdício de material biológico viável, minimizando o sofrimento dos animais (de acordo com o conceito 3 "Rs"), mas também fortalecendo os laços interdisciplinares e criando novos caminhos de pesquisa multicêntrica que vão além da instituição local. Esse objetivo está de acordo com o objetivo da universidade de treinar estudantes autônomos e qualificados, que podem se destacar no aprendizado, ensino e promoção de pesquisas que ultrapassam os limites de seu próprio campo de conhecimento.

Palavras-chave: Densidade Óssea. Fenômenos Biomecânicos. Elasticidade. Modelos Animais. Lagomorfos.

ABSTRACT

MACEDO, A.S. **Biomechanical properties of rabbit long bones:** correlation with dual energy *x-ray* absorptiometry measurements. 2020. 117f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Our purpose here was to provide a systematic macroscopic and biomechanical characterization of the osseous tissue collected from the long bones (paired femora, tibiae and humeri) of thirty New Zealand white female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) cadavers, remnants of a previous research experiment of a partner institution that would be wasted otherwise. After requiring ethical permission from all the institutions involved in this study, we harvested their long bones (femora, tibiae and humeri) and dissected them free of soft tissues with blunt dissection, removing the periosteal layer as well. We radiographically assessed them to exclude any bone samples with previous abnormalities or lacking epiphysial closure. We recorded their basic morphological measurements and assessed values of bone mass and mineral content by dual-energy x-ray absorptiometry exams. We divided the 30 rabbits into three groups (n=10 rabbits or 60 bone samples each), according to the type of biomechanical test they would be subjected to: axial compression, three-point bending and torsion. Bones from the same rabbit underwent the same testing modality. We determined normal range values and compared left-to-right differences and possible correlations to bone mass. We used the free software R for statistical analyses using and set statistical equivalence at $p > 0.05$. We performed a Shapiro-Wilk normality test to confirm the homogeneity of the variations. Then we applied a paired Student test on the normally distributed data and the Wilcoxon test for those not normally distributed. We assessed any possible correlations between parametric data regarding bone resistance and bone mass with a Pearson's correlation test, otherwise we applied the Spearman's correlation test. We only encountered a significant right to left difference in the diaphyseal compressive stiffness of tibiae probably due to errors in the manual preparation method. We succeeded not only on preventing the waste of viable biological material whilst minimizing animal suffering of animals (according to the 3 "Rs" concept), but also in strengthening interdisciplinary bonds and creating new multicentric research pathways that goes beyond the local institution. That goal resonates to the university's purpose to train autonomous and qualified students who can excel at learning, teaching and promote research outstanding the limits of their own field of knowledge.

Keywords: Bone density. Biomechanical Phenomena. Elasticity. Animal models. Lagomorpha.

1	INTRODUÇÃO.....	20
2	REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1	FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	23
2.1.1	Osso	23
2.1.2	Testes biomecânicos	37
2.1.3	Densidade mineral óssea.....	41
2.2	COELHOS	44
2.2.1	Contexto geral e biologia	44
2.2.2	Anatomia.....	45
2.2.3	Modelos experimentais em pesquisa	46
2.3.4	Coelho como companheiro doméstico	53
3	OBJETIVOS.....	56
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	56
4	JUSTIFICATIVA.....	57
5	HIPÓTESE	58
6	MATERIAL E MÉTODO	59
6.1	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	59
6.2	CORPOS DE PROVA	59
6.3	ABSORCIOMETRIA DE RAIOS-X DE DUPLA ENERGIA	63
6.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	64
6.4.1	Grupo compressão	65
6.4.2	Grupo torção	68
6.4.3	Grupo flexão em 3 pontos.....	71
6.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	72
7	RESULTADOS.....	74
7.1	CORPOS DE PROVA	74
7.2	DENSITOMETRIA ÓSSEA.....	74
7.3	GRUPO COMPRESSÃO	76
7.3.1	Rigidez.....	76
7.3.2	Área	77
7.3.3	Tensão Máxima	78
7.3.4	Deformação Máxima.....	79
7.3.5	Módulo de Elasticidade	80
7.4	GRUPO TORÇÃO.....	81

7.4.1	Rigidez.....	81
7.4.2	Torque Máximo.....	82
7.4.3	Deformação Máxima.....	83
7.4.4	Tensão Máxima	84
7.5	TESTE DE FLEXÃO EM TRÊS APOIOS E MOMENTO DE INÉRCIA.....	85
7.5.1	Momento	85
7.5.2	Tensão à compressão	86
7.5.3	Tensão à Tração	87
7.5.4	Tensão Média.....	88
7.6	CORRELAÇÃO ENTRE DMO E TESTES BIOMECÂNICOS	89
7.6.1	Teste de compressão.....	89
7.6.2	Teste de torção.....	90
7.6.3	Teste de flexão em três apoios.....	91
8	DISCUSSÃO	92
8.1	LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	94
9	CONCLUSÃO	95
	REFERÊNCIAS.....	96
	ANEXOS.....	113

1 INTRODUÇÃO

Coelhos são pequenos mamíferos que permeiam e cativam o convívio humano por razões distintas há séculos. O coelho doméstico moderno descende do coelho selvagem europeu *Oryctolagus cuniculus*. Os coelhos criaram vínculos importantes com as pessoas e sua criação deixou de ser vantajosa apenas para engordar as opções culinárias uma vez que galgaram laços afetuosos e passaram a integrar o lar humano. Atualmente eles só perdem para os consagrados cães e gatos no ranking de favoritismo das espécies domésticas do velho continente e já atestam sua importância consolidada no mercado pet norte americano (MAYER; BROWN; MITCHELL, 2017).

Esse novo patamar de importância que passaram ocupar no setor destinado ao mercado pet trouxe consigo também uma inédita demanda por profissionais veterinários que possuam níveis de excelência e especialização voltados ao seu tratamento clínico e cirúrgico, assim como abriu um leque pouco explorado na literatura acadêmica (HARCOURT-BROWN; CHITTY, 2014; GIANNICO et al., 2015; GOSLING; VÁZQUEZ-DIOSDADO; HARVEY, 2018; LEMPERT, 2019; VOLAIT-ROSSET et al., 2019). O manejo de fraturas dos ossos longos nesta espécie é particularmente desafiador devido à delicadeza e fragilidade da camada cortical dos ossos do esqueleto apendicular e sua disposição peculiar que proporciona rápida aceleração e permite atingir altas velocidades caso ocorra a necessidade de fuga na sua condição natural de presa em ambiente selvagem. Nas poucas publicações disponíveis, os autores enfatizam problemas como altas taxas de complicações pós-cirúrgicas que podem escalar até para procedimentos mais agressivos como amputações, além da necessidade urgente do desenvolvimento de implantes adequados às particularidades biomecânicas desta espécie (REUTER et al., 2002; FISHER, 2010; MCBRIDE et al., 2010; LANGLEY-HOBBS; HARCOURT-BROWN, 2013; MASSIE et al., 2019; VOLAIT-ROSSET et al., 2019).

Conceitos contemporâneos etnográficos como conscientização ecológica, impacto ambiental, isolamento social e valorização bioética causaram mudanças nos patamares de importância atribuídos às diferentes espécies animais, deslocando os valores e percepções do público em geral em relação aos animais e sua aplicabilidade em pesquisa (BROWN; NADING, 2019; DHONT et al., 2019; RYAN et al., 2019). O princípio dos “3-Rs” de substituição, redução e refinamento dos métodos e insumos científicos tornaram questionáveis a utilização de modelos animais outrora populares em pesquisa

óssea- como cães e primatas não humanos - devido a sua alta estima emocional (PEARCE et al., 2007; FRANCO, 2013; WEISBROTH; FLATT; KRAUS, 2013; VARDIGANS; MALLOY; MEYNELL, 2019).

Neste âmbito, os coelhos atraíram novos olhares como potenciais peças-chave para a expansão do leque de pesquisas translacionais de metabolismo ósseo e de engenharia de biomateriais (MIZIARA et al., 2012; HUBRECHT, 2014; MIRANDA et al., 2016; HUNCKLER et al., 2017). Estudos com enfoque em regeneração celular e patologias ósseas podem ressonar na melhoria de vida da terceira idade nos países demograficamente envelhecidos. Fraturas com grande perdas ósseas e enfermidades metabólicas relacionadas à idade avançada, como a osteoporose, posam como ameaças modernas à espreita da população senil (BONUCCI; P BALLANTI, 2014; TSAI et al., 2016; ZHANG et al., 2017; HEVESI et al., 2019; MACEDO et al., 2019).

O tecido ósseo, composto por uma trama conectiva mineralizada, é o elemento regente do sistema musculoesquelético de todos os animais vertebrados (BONUCCI, 2000). Ele possui funções singulares que garantem a movimentação, proteção, metabolismo endócrino, comportamento, reprodução e equilíbrio dos animais que contam com esse arcabouço calcificado (UNAL et al., 2018). Advento evolutivo este - de tamanha importância - que fora responsável por alastrar uma explosão zoológica para além do meio aquático. Complicando-lhes - e muito - as etapas de desenvolvimento embrionário das gerações seguintes, como nunca visto. O sistema ósseo configura não apenas o alicerce rígido do movimento vertebrado, ele alberga também outro pilar (este de dureza figurada) indispensável à vida: o compartimento medular donde nascem as células vitais que encorpam o fluxo sanguíneo oxigenador (FALANGA et al., 2007).

As propriedades biofísicas ósseas determinam o seu talento piezoelétrico frente às cargas fisiológicas, que por sua vez ditam seu remodelamento constante e capacidade regenerativa ímpar (ATHANASIOU et al., 2000; JEE, 2001). Estas características mecânicas dos ossos longos de coelhos ainda carecem de olhar científico aprofundado (BAOFENG et al., 2010; WANDERMAN et al., 2018; MASSIE et al., 2019). Expandir esse nicho de conhecimento tem por objetivo beneficiar não apenas o tratamento - ainda desafiador- de fraturas na espécie doméstica emergente, como também otimizar futuros estudos translacionais que utilizem o modelo cunicular de metabolismo ósseo. Visamos, com este intuito, a valorização dos preceitos éticos de refinamento em pesquisa e diminuição de sofrimento animal desnecessário. Os valores de normalidade encontrados

para a espécie podem ser integrados a bases de dados disponíveis internacionalmente, enriquecendo assim este campo da ciência. Por conseguinte, possibilitam-se estudos com maiores níveis de evidência para o da saúde como um todo. Não é feita aqui distinção entre a saúde humana e a animal por já ser reconhecida a complementariedade indissociável de ambas no contexto atual de saúde única (WOODS et al., 2018).

Frente a esses fatos, o presente trabalho visou a caracterização dos parâmetros normais no comportamento mecânico de fêmures, tíbias e úmeros de cadáveres de coelhas adultas e hípidas. Aproveitamos os ossos dos remanescentes biológicos destinados a descarte de outro estudo na área de cirurgia veterinária em parceria com a Universidade Estadual Paulista (Unesp) de Jaboticabal, desta maneira não houve sofrimento animal para a realização desta pesquisa. Submetemos as amostras ósseas a testes de compressão axial, torção e flexão em três apoios em máquina de ensaios universal, em parceria com o Instituto de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Também estabelecemos os valores de densidade mineral óssea delas, por absorciometria de raios-x de dupla energia. Fizemos correlações entre a densidade e resistência óssea das amostras e estudamos possíveis diferenças entre antímeros.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1.1 Osso

Osso. Palavra utilizada para designar os componentes do esqueleto de toda uma categoria de animais diligentes. Em português, detém sentido conotativo análogo a dureza, resistência, dificuldade. Curiosamente, até a grafia lusitana enfatiza a dualidade intrínseca deste vocábulo: seja na oposição semântica como palíndromo ou na perenidade simbólica que atribui ao ciclo antropológico de vida e morte. Difícil pensar em outra estrutura orgânica que ilustre tão bem a resiliência adaptativa das espécies perquirida por Charles Darwin, como filmado com maestria por Stanley Kubrick numa das mais célebres cenas da sétima arte (PIASSI, 2013). Essa orquestra biomineralizada sustenta os atos do concerto biológico desde a sonata embrionária, em perfeita harmonia com a melodia orgânica. Afina e remodela seus instrumentos nos interlúdios, de acordo com as notas pautadas por estímulos mecânicos e químicos. Compõe e rege os minuetos da vida animal, sem se ater a intervalos. Porém, a aproximação inevitável do último ato, traz consigo também a ação cronológica implacável, que deprecia seus componentes e instrumentais. Lentamente, um a um, carecem de manutenção sinovial e tornam-se doloridos e obsoletos, até que se encerre o espetáculo. É justamente quando se fecham os panos, no momento de desmantelamento póstumo, que o tecido ósseo exhibe seu mais infável e tenaz talento. Posto ser o único conteúdo orgânico capaz de ludibriar os implacáveis efeitos do exício, consegue ele transcender seu envelope perecível e retornar para o momento dos aplausos, com uma composição inédita e imortal. O espetáculo não mais tem o tom soprano da melódica da clave de Sol, evocado pela alta frequência de conversão de energia potencial em mecânica. Esse novo momento tem seus próprios acordes graves pautados na fúnebre e sinistra clave de Fá, inerentes às evidências cadavéricas que edificam a História Natural do planeta (BRUNER, 2018).

A conquista de novos ambientes foi possibilitada pela generosidade evolutiva na forma de biomineralização. Não fosse esta interação única de íons minerais e moléculas orgânicas, nenhum corpo haveria de se sustentar fora da água. Esse enrijecimento fisiológico, que teve seu início no período Cambriano - modestos 500 milhões de anos

atrás - possibilitou uma proliferação genética sem precedentes. Foi o estopim da fartura zoológica que conhecemos atualmente. O advento ósseo trouxe consigo uma manada verbal capaz de cheirar, sentir, ouvir, ver, morder, mastigar, rastejar, ovular, eclodir, mamar, equilibrar, fugir, voar, ler, raciocinar, e tantos outros mais. Sem ele, sequer existiria a singular estrutura anatômica que nos sustenta e nomeia o subfilo do qual fazemos parte: dos animais vertebrados (GARCIA-FERNÁNDEZ; BENITO-GUTIÉRREZ, 2009).

Os moldes de cartilagem precursora de osso endocondral (assim como entendemos no modelo atual) tiveram sua provável origem no esqueleto dérmico dos vertebrados agnatas paleozóicos (KAWASAKI; BUCHANAN; WEISS, 2009). De lá para cá a armadura óssea sofreu processo de requinte e internalização, transformando-se no endoesqueleto que conhecemos. As formas de vida também divergiram dos ancestrais primitivos de tal maneira a nos causar espanto um possível parentesco filogenético humano (baseado em sinapomorfias) com animais como estrelas-do-mar e lampréias (GARCIA-FERNÁNDEZ; BENITO-GUTIÉRREZ, 2009). Apesar de já não precisarmos mais da notocorda para sustentar nossos músculos epaxiais - visto que a coluna vertebral é muito mais eficiente neste propósito – sua importância não deixa de ser crucial no período embrionário dos mamíferos. Apenas quem já padeceu de enfermidades dos discos intervertebrais entende a vantagem postural que, mesmo seus resquícios vestigiais (remanescentes após a involução neonatal), proporcionam à coluna humana (MCCANN; SÉGUIN, 2016).

Em suma, a peculiaridade que nos proporciona uma existência mais “nervosa” e “dura” – perdoado o gracejo conotativo – resume-se ao tecido ósseo. Este complexo arranjo conectivo denso, compõe o alicerce mineralizado dos animais supracitados. Ele, através das suas junções musculotendíneas, ligamentares, cartilaginosas e articulares responde a comandos neurais (autônômicos ou somáticos) que possibilitam a vida das mais diferentes espécies (BONUCCI, 2000). O osso possui a rigidez necessária para sustentar e alavancar os movimentos mecânicos mais robustos e proteger os tecidos vulneráveis de qualquer impacto nocivo, sem perder o requinte intrínseco à sua condição de órgão endócrino regulador de processos metabólicos fundamentais (MARKEL et al., 1994; ROE, 1998). Contrasta a sua habilidade de suportar o peso de criaturas imensas como os extintos dinossauros ou elefantes, ao passo que na sua delicada conformação pneumática dá (literalmente) asas e capacidade aerodinâmica à mais vasta miríade aviária.

A biomineralização é responsável também pela rusticidade mastigatória e diversificação alimentar, além de conferir aos carnívoros seu semblante intimidador característico. Garante a patência acústica, regendo também percepções sensoriais, coordenação motora e equilíbrio corporal pois integra o aparelho cocleovestibular (KAWASAKI; BUCHANAN; WEISS, 2009).

O papel do tecido ósseo nesse âmbito transcende os ideais homeostáticos, pois torna factível a produção, percepção e codificação de sons e ultrassons utilizados para a comunicação, disputa hierárquica e reprodução dos animais. Mais além, teorias evolutivas modernas creditam às estruturas ósseas o comportamento musical inato humano e sua importância no desenvolvimento sensorial multimodal e complexidade cognitiva e intelectual da nossa espécie. A musicalidade provavelmente é um traço adaptativo que exerce influência na estruturação das relações psicossociais desde as tribos homínidas primitivas. Não auxilia apenas na produção dialética, de canto ou percussão ritmados, mas também na criação dos primeiros instrumentos musicais de que se tem registro, confeccionados com ossatura animal (CROSS, 2001). Já se sabe inclusive que a galhada óssea dos cervídeos (que se difere das estruturas queratinizadas córneas bovinas, famosas na cultura popular) ultrapassa a sua suposta finalidade de ferramenta de combate e adorno, e atua como um amplificador acústico da recepção das comunicações sonoras emitidas pelas fêmeas em épocas reprodutivas (BUBENIK; BUBENIK, 2008).

Não obstante, esse tecido acumula, ademais, uma última função fulcral que destoa da sua aparente inércia rochosa e novamente salienta suas nuances antagônicas. Sobre o seu aspecto concreto e inanimado, sobrepuja-se a sua tarefa etérea de resguardar a própria nascente da vida: constitui o berço do tecido hematopoiético, sem o qual não haveríamos de ter o sopro da vida (BONUCCI, 2000; SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008).

2.1.1.1 Fisiologia óssea

O osso é o produto biológico heterogêneo da íntima interação de ingredientes rochosos resistentes (hidroxiapatita e sais minerais) com outros mais complacentes (macromoléculas de colágeno e demais proteínas, enzimas e fatores de crescimento), catalisada por fermento de células osteonais, adicionada de água e pitadas hormonais. Possui singularidade arquitetônica na maneira em que os resistentes cristais de

hidroxiapatita se portam como cimento na maleável trama fibrosa de colágeno tipo I por ação das dedicadas células osteoprogenitoras mesenquimais: os osteoblastos. Estes operários microscópicos, diga-se de passagem, não apenas sintetizam e excretam os componentes da matriz óssea, como eventualmente diferenciam-se na sua forma adulta de destino fadado: o osteócito (AUGAT et al., 1998).

Os osteócitos são células solitárias que se comunicam entre si pelas suas longícuas prolongações citoplasmáticas (fundamentais para o transporte ativo do cálcio). Elas são tão comprometidas com o seu propósito biomineralizador que transcendem a sua função edificadora e sacrificam sua liberdade em prol da garantia da formação assertiva de canalículos que darão vazão ao leito vascular para o transporte de oxigênio e nutrientes, uma vez que se incorporam às vigas ósseas de maneira indissociável e jamais deixam o labirinto que ajudaram a esculpir (UWAGIE-ERO et al., 2019).

A demolição e limpeza dos debris para renovação mineral fica a cargo dos chamados osteoclastos. São células gigantes provenientes de linhagens monocíticas, mais parecidas com macrófagos, portanto mais propícias a esse trabalho mais extenuante. São responsáveis pela clivagem e manutenção da estrutura óssea e também atuam de forma essencial no processo de cicatrização e remodelamento. Eles primeiramente se aderem à matriz óssea alvo e acidificam a sua superfície, expondo-a logo em seguida a enzimas proteolíticas que irão degradar e remover o cálcio da estrutura. Então entram em cena novamente os osteoblastos, que depositam seu andaime osteóide e renovam a estrutura colágena, dando continuidade ao ciclo. A matriz óssea contém inúmeras outras macromoléculas orgânicas incluindo colágenos tipos III e V, proteoglicanos, lipídios, fatores de crescimento, proteínas morfogenéticas, enzimas, osteocalcina, osteonectina e osteopontina, entre outras proteínas ósseas não colágenas que garantem a aderência da mistura com água (EVANS; DE LAHUNTA, 2013).

Esta coreografia incessante entre deposição osteoblástica e reabsorção osteoclástica é determinante para a morfologia da estrutura óssea e responde aos estímulos mecânicos aplicados à mesma. Este combate figurado é sincronizado pelos ritmos fisiológicos circadianos de cada animal. Sofre influência de fatores essenciais como idade, espécie e estado nutricional do indivíduo, equilíbrio cálcio/fósforo, níveis basais de vitamina D, metabolismo endócrino de substâncias como paratormônio e osteocalcina, hormônios sexuais, entre outros fatores. A localização da estrutura óssea dentro do esqueleto também é decisiva para a quantidade de mineral que será depositado

ou reabsorvido, bem como a ação de outros órgãos como rins e intestino (MIRZAALI et al., 2016).

Os ossos podem ser agrupados pela sua topografia específica, pelo seu formato, estrutura, função ou origem. De acordo com a sua forma, possuem cinco distinções gerais: podem ser longos, curtos, sesamóides, chatos ou irregulares. Ossos longos, curtos e sesamóides são característicos do esqueleto apendicular, enquanto os achatados e irregulares formam o crânio e coluna vertebral. Os ossos longos são divididos anatomicamente em um eixo longo chamado diáfise, e suas extremidades chamam-se epífises (proximal e distal), conforme demonstrado na figura 1A. Durante a fase de crescimento, cada extremidade é separada da diáfise por uma linha de cartilagem fisária localizada na região chamada metáfise, demonstrada na figura 1B. Esta região de crescimento mantém-se ativa apenas até a maturidade sexual ser atingida, e representa ponto de fragilidade suscetível a fraturas nos animais jovens. Nos adultos, geralmente não é possível distinguir uma divisão anatômica clara entre a diáfise e as epífises. Os ossos longos formam alavancas com os músculos que propulsionam o corpo animal, muito resistentes à tração. Suas extremidades articulares sinoviais são cobertas por uma delicada camada de cartilagem hialina protetora (EVANS; DE LAHUNTA, 2013).

Figura 1 - Desenho de fêmur direito de coelho (*O. cuniculus*) representando as divisões anatômicas de um osso longo. A) Nota-se a divisão em epífise proximal, diáfise e epífise distal. B) Linhas metafisárias em destaque.

Fonte e artista: Macedo, A. S. (2020).

Existem duas principais diferenciações teciduais que encontramos na estrutura dos ossos longos, conforme exemplificado na figura 2. Seu revestimento externo, chamado de osso cortical, é formado por células justapostas em lamelas concêntricas densas que resistem menos ao impacto de forças perpendiculares incidentes, na sua disposição cortical ou lamelar, revestida por uma camada fibrosa de espessura variável de acordo com as diferentes espécies animais, rica em terminações nervosas e capilares sanguíneos que atuam na vascularização óssea, chamada de periósteo. Já a parte interior das extremidades (epífises) normalmente é composta pelo que chamamos de osso trabecular ou esponjoso. O interior da diáfise possui uma cavidade que alberga as mesenquimais e hematopoiéticas que compõem a medula óssea, chamada de cavidade intramedular. Revestida por sua vez por outra camada fibrosa chamada endósteo. Esse tipo de configuração possui maior quantidade de matriz extracelular e células dispersas como uma rede porosa ou malha dentro das lacunas, que lhe conferem certa complacência e capacidade de absorção de forças e impactos. Existe também um terceiro tipo de tecido, chamado de plexiforme, ou fibrolamelar. Ele é comum a várias espécies animais, especialmente as de crescimento rápido. É uma combinação de osso não-lamelar e osso lamelar primário. Forma um plexo vascular interconectado com aparência de tijolos sobrepostos. Só ocorre em humanos em fase de crescimento (MARTIN et al., 2015).

Figura 2 – Desenho-montagem de fêmur direito de coelho (*O. cuniculus*) representando os dois principais tipos de tecidos encontrados nos ossos longos. A) Nota-se a divisão em osso trabeculado na epífise proximal, cortical denso na diáfise, formando o canal medular que alberga a medula óssea. B) Representação da aparência microscópica dos mesmos tipos de tecido ósseo.

Fonte e artista: Macedo, A. S. (2020).

A hierarquia estrutural do osso cortical é única e reúne as células dispostas em lamelas concêntricas que se formam em torno dos vasos sanguíneos, chamadas de osteons. No seu centro localizam-se os canais de Havers. Os grupamentos osteônicos são revestidos por uma camada fibrosa externa chamada periósteo, altamente vascularizada, e comunicam-se entre si por vasos nutritivos que percorrem os chamados canais de Volkman (DENG; CHANG; WU, 2018).

2.1.1.2 Desenvolvimento embrionário

O tecido ósseo tem sua origem embrionária em três linhagens diferentes de células pluripotentes. O esqueleto axial é gerado a partir dos somitos; os ossos e cartilagens da cabeça a partir da crista neural cranial e o esqueleto apendicular, por sua vez, advém da placa mesenquimal lateral. Os componentes do esqueleto apendicular derivam de modelos cartilaginosos primários que se convertem em ossos em um segundo momento, por meio do processo de ossificação endocondral (CARLSON, 2014). Os ossos da face e dorso do crânio se desenvolvem a partir de moldes de tecido conjuntivo, não de cartilagem. Esse tipo de ossificação é conhecida como ossificação intramembranosa (EVANS; DE LAHUNTA, 2013).

A mineralização do molde endocondral se inicia dentro de vesículas específicas que brotam da superfície da matriz osteoblástica, recobertas por uma membrana. Estas

vesículas são recheadas com íons fosfato de cálcio que em determinado momento precipitam e ultrapassam a barreira vesicular, originando nódulos cristalinos calcificados no líquido extracelular. Eles proliferam-se entremeio as fibrilas de colágeno. Essa taxa de proliferação depende de diversos fatores e condições extracelulares, como valor do pH ou da ação dos grupos sulfato e carboxila dos glicosaminoglicanos carregados negativamente que atraem os íons de cálcio com carga positiva, e de proteínas não-colagênicas da matriz extracelular. Aminoácidos como o ácido γ -carboxiglutâmico e outros acidificadores acabam por sequestrar ou quelar íons de cálcio disponíveis para a cristalização de hidroxiapatita e podem inibir a mineralização. Os polipeptídeos da matriz extracelular interagem também com diversas moléculas e formam as triplas hélices características das fibrilas colágenas (KAWASAKI; BUCHANAN; WEISS, 2009).

Os membros se desenvolvem por processo complexo de brotamento e alongamento em posições pré-definidas no aspecto ventrolateral das regiões cervicotorácica e lombossacra dos embriões, com posterior formação de dígitos, ossos e articulações. Em geral, os brotos anteriores (torácicos) precedem o desenvolvimento dos posteriores (pélvicos) em um ou dois dias. As células pluripotentes do mesoderma de crescimento se dividem em três camadas distintas: superficial, intermediária e profunda. A camada intermediária origina os tecidos periesqueléticos (pericôndrio, periósteo, cápsulas articulares, tendões e músculos) e a profunda se agrega para formar os modelos esqueléticos (ossos e cartilagens). A sinalização do TGF- β é fundamental para o surgimento de núcleos condrogênicos que dão forma ao esqueleto cartilaginoso dos membros. Estes núcleos, após processo de segmentação, originam as interzonas (articulações presuntivas). Em seguida ocorre a formação de centros de ossificação primários nas diáfises dos ossos longos. De forma concomitante, células precursoras miogênicas migram dos somitos e se diferenciam em mioblastos que recobrem os precursores ósseos. Após essa fase o feto está formado e o crescimento ocorre de forma usual até o momento do nascimento (CARLSON, 2014).

2.1.1.3 Propriedades biomecânicas

Mecânica é a parte da física que estuda os efeitos que as forças aplicadas causam na forma ou movimento de corpos ou objetos e pode ser dividida em duas categorias: estática e dinâmica. A estática estuda os corpos em repouso ou em equilíbrio de forças (movimento constante), já a dinâmica se atém aos corpos sob aceleração. Pode ser subdividida em cinemática (estuda a descrição do movimento, considerando apenas espaço e tempos) e cinética (esta inclui o estudo das forças que causam o movimento) (AN; BARFIELD; DRAUGHN, 2000).

Biomecânica, etimologicamente, combina o prefixo “*bios*” (vida), com o campo científico da mecânica. Logo essa é uma ciência multidisciplinar que utiliza as ferramentas de engenharia de estática, dinâmica e resistência dos materiais para estudar aspectos anatômicos e funcionais das respostas físicas experimentadas pelos sistemas orgânicos (AN; BARFIELD; DRAUGHN, 2000). Os animais tanto geram como resistem a forças durante a realização das atividades fisiológicas normais. Seu deslocamento é possível devido a atuação das forças produzidas pelos músculos, aliadas às forças gravitacionais e de atrito normais. Essas forças geradas pela movimentação fisiológica podem ser definidas em termos mecânicos e expressas graficamente de acordo com seus valores numéricos. A caracterização dessas forças é importante para avaliar sua competência, para desenvolver novos implantes e biomateriais, além de possibilitar um melhor entendimento das fraturas e consequentemente otimizar técnicas cirúrgicas (AMMANN; RIZZOLI, 2016).

O osso cortical é um material heterogêneo e anisotrópico, ou seja, suas propriedades mecânicas variam em resposta ao aumento ou diminuição da incidência das forças aplicadas (sua composição e microestrutura incluindo). Suas características físicas tais como resistência, elasticidade e plasticidade lhe permitem alavancar a movimentação corpórea e ao mesmo tempo proteger os tecidos nobres do organismo animal (BONUCCI, 2000; GIBSON et al., 2008). As fibrilas de colágeno e a matriz mineral da hidroxiapatita são os dois componentes que mais contribuem para o comportamento mecânico. As fibrilas de colágeno contribuem para as respostas heterogêneas e anisotrópicas exibidas pelo tecido ósseo frente à essas cargas fisiológicas, enquanto a integridade estrutural e molecular do reservatório mineral está associada à rigidez (AUTEFAGE et al., 2012).

Força (F) ou carga, a principal entidade física da mecânica, é um vetor mensurável, que possui uma magnitude, direção e ponto de aplicação. As forças agem em um corpo e tendem a mudar a sua velocidade (efeito externo) ou formato (efeito interno). Existem basicamente três tipos de forças primárias: forças de tração, compressão e cisalhamento. A combinação destas pode gerar ainda cargas de encurvamento ou deflexão e torção (RAHN, 2002).

A magnitude de uma força é expressa normalmente em unidades Newtons (N) no sistema métrico internacional. Um Newton é quantidade de força necessária para acelerar um kg de massa em uma velocidade de um metro por segundo ao quadrado (m/s^2). A resistência óssea pode ser medida dividindo a força incidente no osso pela área sobre a qual ela é aplicada (ou seja, tensão) pela diferença dimensional dele após ter sofrido esta suposta carga (no caso, porcentagem de deformação por unidade de comprimento) (SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008).

Inércia é a tendência de um corpo manter seu estado atual de movimento, seja de imobilidade ou de movimentação em velocidade constante. Ou seja, existe uma oposição natural à mudança no estado de movimento. Quanto maior for a massa de um objeto, diretamente proporcional será sua tendência em manter seu estado atual de movimento e mais difícil será modificar esta condição. Massa (m) é a quantidade de matéria que compõe um corpo, normalmente expressa em quilogramas (kg). A ação de uma força (F) causa aceleração (a) de acordo com a massa (m) de um corpo, conforme demonstrado pela equação 1:

$$F = m \cdot a$$

Como uma força raramente atua de modo isolado, é importante reconhecer a importância da soma vetorial de todas as forças atuantes. Se estas estão equilibradas, ou canceladas entre si, a resultante é zero e o corpo permanece em seu estado original (seja parado ou sob movimentação constante). Quando a resultante tem saldo positivo, o corpo então se move na direção do vetor em questão, exibindo aceleração proporcional. O momento de inércia (Ia) expressa a distribuição de área em relação à linha neutra, ou seja, a soma dos infinitésimos de área que compõem a superfície e suas respectivas distâncias elevadas ao quadrado em relação ao eixo resistindo a forças perpendiculares. O momento

de inércia é dependente da forma da secção transversa e define a resistência do material (AN; BARFIELD; DRAUGHN, 2000).

Tanto o fêmur como o úmero são mais suscetíveis às forças rotacionais quando comparados à tíbia e ao rádio devido a sua maior proporção de osso cortical que resulta em maior momento polar de inércia (MPI) (MARKEL et al., 1994). O MPI representa a capacidade de um material em resistir a cargas de torção e depende da dimensão deste material um determinado plano (ROE, 1998; MARTIN et al., 2015)

O módulo de elasticidade ou módulo de Young (E) é um coeficiente de proporcionalidade que quantifica a dureza de determinado material e pode ser calculado pela inclinação da porção linear expressa no gráfico de tensão/deformação gerado pela aplicação gradual de carga em determinado corpo ou tecido. É representado também pela equação 2:

$$\sigma = E \cdot \varepsilon$$

que demonstra a razão entre a tensão aplicada (σ) e a deformação resultante (ε) (AUTEFAGE, 2000; SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008).

O tecido ósseo apresenta características mecânicas de deformação viscosa e elástica. A última ocorre de acordo com a relação de elasticidade, chamada lei de Hooke. Ela postula uma relação diretamente proporcional (representada linearmente) entre tensão e deformação em materiais elásticos, sendo esta reversível, uma vez que retirada a carga aplicada, o material retorna imediatamente à sua forma original, caso esteja dentro do seu limite elástico de absorção de energia (SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008). Já em um segundo momento, após excedido o ponto de escoamento deste material, ocorre uma deformação plástica e irreversível. Perde-se então a correlação linear expressa no gráfico. Caso o ponto crítico de resistência mecânica seja ultrapassado, a falha do material é inevitável. Tratando-se de tecido ósseo, a falha ocasiona uma fratura e sua configuração espacial será proporcional à velocidade e frequência das forças que a causaram (AUTEFAGE, 2000).

A dureza óssea é dependente da taxa de deformação. Isto significa que, quando a força é aplicada, não ocorre apenas uma mudança dimensional, mas ocorre um aumento na rigidez em uma pequena quantidade (SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008). O módulo de elasticidade e a resistência são substancialmente mais baixos na direção transversal

porque os cristais minerais e o colágeno estão alinhados longitudinalmente (AUTEFAGE, 2000). A dureza e a resistência dos ossos são sempre mais elevadas no seu eixo mais longo devido ao seu caráter anisotrópico, e variam de acordo com a densidade mineral óssea e magnitude da carga atuante (ATHANASIOU et al., 2000). Quanto maior a velocidade da carga incidente, mais energia é acumulada pelo sistema, culminando em fratura com alto grau de cominuição e geralmente ocorre dissipação aquém da porção óssea, afetando também o envelope muscular adjacente (SCHATZKER, 2002).

Na maioria das medições de propriedades mecânicas, a força aplicada é medida por uma célula de carga e mudanças nas dimensões das amostras são indicadas pelo movimento do sistema. Em um sistema de teste acionado hidraulicamente, o movimento do pistão do atuador define o deslocamento. Enquanto um objeto de teste está sendo carregado, uma curva de carga/deslocamento é registrada por um programa computacional. Esta curva define a deformação total da amostra na direção da aplicação da força e pode ser depois convertida para uma curva de tensão/deformação (Figura 3). Ela é afetada pelas propriedades estruturais, geométricas e morfológicas de cada material (AUTEFAGE, 2000; RAHN, 2002).

Figura 3. Gráfico representativo de força-deformação demonstrativo das regiões elásticas e plásticas do material osso. O módulo de Young (E) pode ser calculado pela inclinação do vetor resultante. O eixo vertical representa a tensão aplicada e o eixo horizontal representa a deformação resultante.

FONTE: MACEDO, A. S. (2020).

O tecido ósseo é dotado de capacidade regenerativa e modifica sua estrutura conforme ditam suas propriedades piezoelétricas, convertendo cargas mecânicas em tensões elétricas. Ele responde dinamicamente à presença ou ausência de tensão com mudanças de tamanho, forma e densidade (AUTEFAGE, 2000; GIBSON et al., 2008). O remodelamento ósseo ocorre de acordo com a lei de Wolff. Ela define as relações entre estrutura e função, correlacionando os padrões de alinhamento trabecular em resposta às tensões incidentes no processo de remodelamento normal. Ocorre deposição de osteoblastos onde é aplicada carga, à medida que ocorre reabsorção por osteoclastos em regiões subutilizadas (ROE, 1998).

Essas cargas mecânicas influenciam alterações distintas sobre a diferenciação dos tecidos em nível celular. Pauwels propôs essa teoria pela primeira vez em 1960. Ele postulou que a cartilagem é formada de acordo com a pressão hidrostática local, fazendo com que as células-tronco mesenquimais se tornem condroblastos, enquanto a diferenciação em osteoblastos e fibroblastos ocorrem mais por deformações de cisalhamento (BETTS; MÜLLER, 2014).

Perren e Cordey (1980) estudaram a estimulação mecânica máxima a que o tecido ósseo pode ser submetido sem perder sua capacidade regenerativa, analisando as mudanças graduais nas propriedades mecânicas dos tecidos e sua substituição por tipos celulares mais resistentes e formulando a lei da deformação de Perren (PERREN, 1979; RAHN, 2002). Na fase inicial da cicatrização com formação de calo ósseo, as células do foco de fratura toleram maior tensão do que em um estágio posterior, quando o calo está mais calcificado (BETTS; MÜLLER, 2014).

Repetições de carga cíclica pode levar o tecido ósseo a falhar por excesso de fadiga. Quanto maior for essa carga, menor o número de ciclos necessários para a falha. O osso mostra-se mais resistente à compressão e geralmente falha por forças de cisalhamento (ROE, 1998). A dureza do material é chamada de módulo de cisalhamento (MARTIN et al., 2015). Strain (ϵ) é a deformação relativa de um material quando uma determinada força é aplicada. Representa a mudança da configuração geométrica que o corpo sofre após a aplicação de carga. A rigidez do osso corresponde a aproximadamente 10% à do aço (SCHATZKER, 2002). Ela pode ser longitudinal, quando há mudança no comprimento, ou de cisalhamento. Deformação relativa normal é a mudança no comprimento (ΔL) em comparação com o comprimento original (L) quando uma certa

carga é aplicada. Assim, não possui dimensões e é frequentemente expressa em porcentagem, como na equação 3 descrita a seguir (PERREN, 1979; PERREN, 2002):

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L}$$

2.1.2 Testes biomecânicos

A biomecânica ortopédica visa descobrir e otimizar as tensões mecânicas experimentadas pelo sistema musculoesquelético de pacientes (na espécie alvo) normais, doentes, feridos ou tratados cirurgicamente. Este subcampo de estudo é particularmente influenciado por dois grupos de especialistas, a saber, cirurgiões ortopédicos e engenheiros biomecânicos, e tem por propósito caracterizar a resposta esperada do tecido ósseo frente a aplicação de cargas e tem influência na eficiência das modalidades de tratamentos de fraturas, sendo de grande valia para pesquisadores e clínicos (ATHANASIOU et al., 2000; SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008).

A mecânica dos materiais é um ramo da ciência da engenharia que estuda o comportamento físico de um corpo deformável sob carga e a relação entre a deformação do corpo e o corpo carga externa aplicada. Existem três tipos básicos de forças: tração, compressão e cisalhamento. Forças de tração e compressão tendem a alongar e encurtar o corpo (ou estrutura) deformável, respectivamente. Ao passo que as forças de cisalhamento tendem a deslizar uma parte sobre a outra no corpo, em sentidos opostos. A proporção de força aplicada à deformação correspondente é geralmente definida como a rigidez do corpo (MARKEL et al., 1994).

Existem duas abordagens básicas *in vitro* para o estudo das propriedades ósseas: testar o osso inteiro ou então apenas uma pequena amostra. Nesta última abordagem, amostras padronizadas de geometria conhecida são extraídas do osso íntegro, e preparadas manualmente para o teste. Este tipo de teste acarreta algumas dificuldades como assimetria no preparo da amostra e localização efetiva do eixo neutro centroide nos testes de deflexão. Especialmente em amostras ósseas, o formato ósseo pode complicar o desenvolvimento e execução de protocolos de teste padronizados (WHAN; RUNCIMAN, 2016).

A rigidez e a resistência de um osso inteiro podem ser aproximadas usando a teoria clássica dos feixes. Neste caso devemos supor que o osso inteiro seja um cilindro circular sólido com diâmetro d , comprimento L , módulo elástico linear E , módulo elástico de cisalhamento G . A partir disso fórmulas matemáticas podem ser inferidas e calculadas para auxiliar na caracterização biomecânica (ZDERO, 2016).

2.1.2.1 Compressão e tração axial

Através de uma máquina de ensaios universal é possível aplicar forças de compressão e tração uniaxiais pelo deslocamento do atuador central, com força controlada por uma célula de carga conectada a um computador para gerar um gráfico de carga/deslocamento. Ele pode ser convertido posteriormente em um gráfico de tensão/deformação se levarmos em conta a área do corpo de prova em questão. As amostras sofrem estiramento (ou distensão no seu eixo axial) sob tração, e achatamento transversal e distensão longitudinal quando comprimidas, sempre de forma gradual e proporcional, conforme exemplificado na figura 4 (MACEDO et al., 2018). Sabe-se que a incidência de trações perpendiculares à superfície óssea, como aquelas exercidas pelas inserções tendíneas, geram uma resposta óssea de hipertrofia por reorganização das fibrilas colágenas. É justamente através desta resposta piezoelétrica que cada um dos ossos assume sua conformação morfológica adulta, com as peculiaridades anatômicas da sua espécie animal, além de proporcionar o remodelamento ósseo após a ocorrência de fraturas (MARSELL; EINHORN, 2011).

A proporção entre valores de deformação transversal e longitudinal é caracterizada pela razão de Poisson (ν) (AUTEFAGE, 2000; SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008). Os materiais incompressíveis, como a borracha, têm uma relação de 0,5 e o valor típico para tecido ósseo é de 0,3 (MARKEL et al., 1994). Materiais porosos teriam um valor similar a zero (AUTEFAGE, 2000). Isso significa que o volume de matéria testada não consegue diminuir ou aumentar como resposta à simples cargas de tração e compressão (AN et al., 2000).

Se aplicarmos cargas axiais no centro geométrico de uma estrutura simétrica e homogênea, criaremos deformações uniformes de tração ou compressão nessa seção transversal. Isso ocorre porque os eixos neutros da seção transversal se cruzam no centro geométrico. Em materiais heterogêneos, os eixos de seção neutra se cruzam no centro geométrico efetivo. Na análise de feixes compostos, as propriedades da área de seção transversal são ajustadas para as variações de módulo de elasticidade através de fórmulas para encontrar o centro geométrico aproximado (WHAN; RUNCIMAN, 2016).

Quando aplicamos uma carga axial centro geométrico efetivo de uma amostra, uma tensão uniforme de compressão ou tração será gerada no corte transversal. Caso a carga seja aplicada em outro local de um corpo de prova longo (cujo diâmetro é menor

que metade do valor da altura t um momento fletor é criado. É válido lembrar que o mesmo não se aplica a corpos de prova cujo diâmetro excede tal razão. As deformações devido à flexão aumentarão ou diminuirão numa função linear dependendo da distância do centro geométrico efetivo. Por isso é imperativo conhecer sua exata localização para prever com acurácia a resposta à carga aplicada em uma seção transversal (WHAN; RUNCIMAN, 2016).

Normalmente removem-se amostras cilíndricas da região diafisária dos ossos longos de maneira que os corpos de prova finais possuam formato cilíndrico ou cuboide. Sugere-se que a relação altura seja menor que o dobro do diâmetro do istmo. Um revés desse tipo de metodologia é a preparação manual dos corpos de prova, suas extremidades devem estar seguramente paralelas e polidas para evitar escorregamento durante o teste. Em amostras muito pequenas pode ocorrer dificuldade nessa fase de preparo.

Figura 4- Desenho de fêmur direito de coelho (*O. cuniculus*) representando os tipos de forças atuantes nos testes axiais. A) A amostra é comprimida e exibe encurtamento no comprimento e expansão na largura devido a atuação de forças compressivas. B) A amostra é tracionada e exibe alongamento e diminuição na largura, devido a atuação de forças de tração.

Fonte: Macedo, A. S. (2020).

2.1.2.2 Flexão

Os testes de flexão podem ser realizados em configuração de carga aplicada em três ou quatro pontos sobre a diáfise dos ossos longos. O corpo de prova é colocado sobre dois apoios fixos (atuadores) com distância determinada, e então a carga de flexão é

aplicada no centro do espécime ósseo no caso do teste em três apoios. Neste caso o atuador causa compressão na superfície de contato óssea (cortical cis) enquanto as fibras da cortical trans sofrem tração responsiva. A carga aplicada e o deslocamento no ponto de falha são medidos, criando assim um gráfico de força-deflexão. O estresse e as tensões são máximos nas superfícies que recebem a carga e zero no eixo neutro (DAL-BÓ et al., 2016).

A lei da inércia, primeira postulada por Newton, determina que todos os corpos tendem a permanecer no seu estado original de movimento a menos que uma força mude esse estado, seja ele de repouso ou em movimento uniforme. Portanto o momento área de inércia é a característica fundamental que explica a capacidade de um material de resistir à flexão. Este valor é inversamente proporcional ao estresse aplicado a uma seção (SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008). A carga aplicada e o deslocamento geram um gráfico de força-deflexão. O estresse e as tensões são máximos nas superfícies que recebem a carga e zero no eixo neutro ou centro geométrico (SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008). Os principais fatores que determinam a rigidez da flexão são o momento área de inércia e o módulo de elasticidade (MUIR; JOHNSON; MARKEL, 1995). O cálculo da tensão é realizado através da equação 4: tensão (σ) igual ao momento fletor (M) multiplicado pela maior distância da linha neutra (y), dividido pelo momento área de inércia (J):

$$\sigma = \frac{(M \cdot y)}{J}$$

Considerando y a fibra mais externa, a tensão será máxima nesse ponto da cortical trans, onde geralmente ocorre a falha por tração (BONUCCI, 2000).

2.1.2.3 Torção

Os testes de torção (momento de torção) medem as particularidades biomecânicas dos ossos sob forças de cisalhamento (ATHANASIOU et al., 2000). Para realizar este tipo de teste, as epífises distais do osso devem ser incorporadas a blocos de resina feitos para encaixar nas garras da máquina de teste. O torque é aplicado a um desses dispositivos enquanto a outra epífise permanece imóvel. A máquina universal de ensaios registra os valores de força e deslocamento que podem depois ser convertidos em dados

de deformação (SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008). A fórmula utilizada para determinar o valor da tensão de cisalhamento (τ) está disposta na equação 5:

$$\tau = \frac{T \cdot r}{J}$$

Onde T é o torque aplicado, r é o raio até a superfície J é o momento de inércia polar da área de seção transversal (ATHANASIOU et al., 2000).

2.1.3 Densidade mineral óssea

2.1.3.1 Conceitos

A densitometria foi descrita pela primeira vez há mais de 100 anos por dentistas que tentaram quantificar a densidade óssea na mandíbula (BONNICK; MILLER, 2004). A avaliação da qualidade óssea pode ser feita com técnicas que permitam determinar a densidade mineral óssea (DMO) ou *bone mineral density* (BMD) e o conteúdo mineral ósseo ou *bone mineral content* (BMC) do esqueleto. A densidade mineral óssea pode diminuir devido ao envelhecimento normal ou em caso de doenças metabólicas ou sistêmicas, como na osteopenia senil e pode ser induzida em estudos com modelos animais para diminuir a morbidade de ensaios pré-clínicos humanos (PREVRHAL et al., 2001).

2.1.3.2 Métodos de aferição

Existem várias técnicas de aferição não invasiva da mineralização óssea, dentre as mais utilizadas é possível citar a radiografia simples, ultrassonografia de calcâneo, absorciometria de raios-x de energia dupla, tomografia computadorizada, tomografia computadorizada quantitativa e a tomografia computadorizada quantitativa periférica (CHEON et al., 2012).

2.1.3.3 Absorciometria de raios-x de dupla energia dupla

O exame de absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA) é um exame não invasivo que mensura, através da atenuação de feixes perpendiculares de radiação, valores de densidade mineral óssea (DMO) na imagem bidimensional das estruturas ósseas em

g/cm² (LOUZADA; BELANGERO; MARTINS, 2006). No entanto, esse valor baseia-se na resposta fotônica gerada naquela região de interesse, e não necessariamente reflete a microarquitetura óssea como um todo (BONNICK; MILLER, 2004).

O método DEXA é conseguido expondo um paciente a duas energias de radiofrequência de raios-x diferentes que produzem uma imagem bidimensional. A imagem produzida é o resultado da absorção de radiação do tecido, que depende de sua densidade e espessura. Esses valores mudam conforme a espécie em questão, gênero, idade, fase reprodutiva, estado nutricional, fatores endócrinos, níveis de atividade física, exposição à luz solar, entre outros. Quanto maior a densidade e a espessura do tecido, maior será a absorção. Dependendo da quantidade de radiação que chega ao detector, cada pixel da imagem é atribuído com um valor cinza dependendo do valor de atenuação (PRESTON et al., 2015).

Em medicina o DEXA é muito utilizado para monitorar a qualidade óssea de isso mulheres após a menopausa, avaliar o risco de fratura e a resposta aos tratamentos com medicações específicas para doenças esqueléticas como a osteoporose (BLAKE; FOLGEMAN, 2010). Em pesquisa experimental este método é frequentemente empregado em modelos animais específicos para doenças que afetem a DMO (CASTAÑEDA et al., 2006). Esta técnica tem precisão *in vivo* mesmo em pequenos animais de laboratório como roedores (GRIFFIN et al., 1993).

Já foram descritos valores densitométricos em diversas espécies como ratos (REN et al., 2016), gatos (CLINE et al., 2019), cães (LUCAS et al., 2017), carneiros (LOUZADA; BELANGERO; MARTINS, 2006), e até em golfinhos (LUCIĆ et al., 2010). Existem parâmetros descritos na literatura de densidade óssea em coelhos saudáveis e osteoporóticos, porém sua comparações com os valores obtidos em testes mais completos de resistência biomecânica nos ossos longos ainda carecem de olhar mais atento (CASTAÑEDA et al., 2006; SEVIL; KARA, 2010; WANDERMAN et al., 2018).

DEXA é o atual padrão-ouro para predizer o risco de fratura patológica em pessoas com osteoporose (MARICIC; CHEN, 2000). Apesar de sua indiscutível utilidade, essa técnica avançada de imagem continua sendo um ativo raro na medicina veterinária, bem como na medicina humana dos países em desenvolvimento devido a limitações financeiras. Em um estudo recente de uma Faculdade de Ciências Odontológicas da Índia, os autores estabeleceram uma correlação entre os valores da densidade mineral óssea medidos por preditores radiográficos orais da borda inferior da mandíbula avaliados por radiografias

simples e DEXA, sugerindo que esses exames intraorais sejam utilizados em comunidades que têm pouco ou nenhum acesso ao scanner DEXA (NIDHI; SRIKRISHNA; KUMAR, 2019).

A pouca disponibilidade desse exame na medicina veterinária constitui uma barreira para a sua aplicação rotineira. Uma alternativa ao DEXA muito usada é a mensuração da densitometria realizada a partir de radiografias convencionais com uma escala graduada de alumínio. Porém, por ser uma metodologia não invasiva e indireta, apresenta variações dos resultados relacionados a limitações visuais e a subjetividade da interpretação pelo observador (LOUZADA; BELANGERO; MARTINS, 2006).

2.2 COELHOS

2.2.1 Contexto geral e biologia

Coelhos são pequenos mamíferos herbívoros da ordem Lagomorpha. Dividem a família Leporidae com as lebres. Distinguem-se de roedores como ratos (*Rattus norvegicus*) e cobaias (*Cavia porcellus*), apesar de já terem pertencido a essa classificação no passado. Os coelhos e lebres dividem a ordem dos lagomorfos com os simpáticos chineses pikas, da família Ochotonidae – famosos na cultura jovem pelo, talvez não tão inofensivo, jogo Pokémon (MEJIA et al., 2019), mas que também caíram nas graças da comunidade científica mais criativa (JOHNSTON, 2020) na forma da proteína fotorreceptora “Pikachurin” (FURUKAWA; UENO; OMORI, 2019) ou para explicar o desenvolvimento de áreas cerebrais específicas (JANINI; KONKLE, 2019).

Existem diversas espécies de coelhos de gêneros distintos distribuídas pelos continentes, dentro os quais figuram em destaque os gêneros *Oryctolagus* e *Sylvilagus*. Este último é constituído de dezessete espécies selvagens exclusivas do Novo Mundo, sendo a *Sylvilagus brasiliensis* – também denominada Tapeti - singularmente restrita ao continente sul-americano (DANTAS et al., 2016). Já o primeiro compreende todas as espécies atualmente domesticadas, descendentes diretas do coelho selvagem europeu *Oryctolagus cuniculus* (VELLA; DONNELLY, 2012). Seu nome científico é derivado das palavras gregas *orukter* (ferramenta para cavar), *lagos* (lebre) e do termo em latim *cuniculo* (buraco subterrâneo).

A média de vida de coelhos de estimação é de 8 anos, mas podem chegar a 13 anos ou mais. Raças menores vivem menos (CAREY; JUDGE, 2000). Coelhos atingem a maturidade sexual entre 5 a 8 meses (fêmeas são mais precoces que machos) e as linhas de crescimento fisárias de animais da raça Nova Zelândia fecham entre 20 e 30 semanas de idade (KEEBLE; MEREDITH; RICHARDSON, 2016).

Os coelhos distinguem-se das demais espécies lagomorfas por seu caráter escavador. Eles possuem comportamento de constante vigília e capacidade de atingir alta velocidade de fuga ao menor sinal de perigo iminente devido à sua posição natural de presa para diversos carnívoros. Isso se reflete na sua anatomia, adaptada para proporcionar leveza e velocidade (VELLA; DONNELLY, 2012).

2.2.2 Anatomia

Em seu habitat natural, coelhos são presas. Isso explica seu comportamento curioso, mas facilmente assustado. Explica também algumas características anatômicas que lhes permitem acelerar rapidamente quando em perigo. Seu esqueleto apendicular peculiar (Figura 5) deve ser leve, mas também resistente para permitir seus comportamentos de escavação e busca de alimentos (MEREDITH, 2000). Sua fíbula funde-se ao eixo do meio da tíbia. Seus quatro dedos longos com membranas em cada membro pélvico permitem saltos acelerados mesmo na postura digitígrada. Suas pequenas clavículas se assemelham às dos gatos domésticos e as tornam mais ágeis (CRUISE; BREWER, 1994; SOHN; COUTO, 2012).

Ossos de coelhos são relativamente delicados em comparação com a sua massa muscular e representam apenas 7% a 8% do peso corporal total, em contraste com 12% a 13% da constituição dos felinos domésticos. No entanto, a matéria seca e a porcentagem de cálcio é maior nos ossos de coelhos do que nos dos gatos (ABDALLA et al., 1992).

O cinturão escapular dos coelhos consiste na escápula e em pequenas clavículas, ligadas ao esqueleto axial através do ligamento esternoclavicular e os músculos peitorais. O úmero, o rádio e a ulna são similares às demais espécies domésticas. O carpo consiste em duas fileiras de ossos e a fileira distal articula-se com os cinco ossos metacarpianos. Existem cinco dígitos cada um composto de três falanges, exceto o primeiro dígito, composto de apenas duas (CRUISE; BREWER, 1994).

Já o cinturão pélvico é formado pelos ossos ílio, ísquio e púbis e se une à coluna vertebral pela articulação sacroilíaca. O acetábulo é formado pelo ílio, ísquio e os acetabuli, pequenos ossos acessórios. O fêmur articula-se no acetábulo proximalmente e com a tíbia na sua porção distal. A fíbula se funde na diáfise média da tíbia, na metade do seu comprimento. Existem seis ossos tarsais dispostos em três linhas e a linha distal articula-se com os metatarsos dos quatro dígitos, cada um composto de três falanges (CRUISE; BREWER, 1994; SOHN; COUTO, 2012).

Figura 5. Desenho representativo de parte do esqueleto apendicular de *O. cuniculus*. A) Membro torácico esquerdo, vista caudal. B) Membro torácico esquerdo, vista medial. C) Membro pélvico esquerdo, vista caudal. D) Membro pélvico esquerdo, vista medial. 1 = Escápula. 2 = Clavícula. 3 = Úmero. 4 = Rádio. 5 = Ulna. 6 = Ossos do carpo. 7 = Ossos metacarpianos e falanges. 8 = Hemipelve. 9 = Fêmur. 10 = Patela. 11 = Tíbia. 12 = Fíbula. 13 = Ossos do tarso. 14 = Ossos metatarsianos e falanges.

Fonte: (MACEDO et al., 2019)

2.2.3 Modelos experimentais em pesquisa

Modelos experimentais são animais utilizados em estudos comparativos para mimetizar respostas acerca de qualquer doença humana ou animal e diminuir a morbidade de ensaios pré-clínicos, elevando as chances de encontrar métodos de cura e prevenção aplicáveis à outras espécies. Os animais têm sido fundamentais para nossa saúde por expandir o nosso conhecimento científico e possibilitar a compreensão de vias biológicas e mecanismos de doenças ao longo de milênios (BAOFENG et al., 2010; ERICSSON; CRIM; FRANKLIN, 2013).

A humanidade deve muito da sua sofisticação intelectual, evolução social e progresso científico à utilização dos animais para os mais diversos fins (MASON; WOODS, 2018). Temos nos valido de benefícios incontáveis pela maneira como

empregamos os animais à nossa realidade social há milênios. O advento da agricultura permitiu que os humanos controlassem seu ambiente e melhorassem sua nutrição através da criação de animais para pastoreio. Os primeiros registros do uso de animais para fins de saúde coincidem com o surgimento dos conceitos de Hipócrates no nascimento da medicina ocidental, mas provavelmente desde que o homem passou a exercer sua subjetiva dominância perante outras espécies, muito provavelmente passou a observar e desfrutar de novas percepções acerca da sua própria realidade baseada naquelas de outras espécies (FRANCO, 2013). A Grécia Antiga não foi palco apenas para peças teóricas acerca do propósito filosófico da existência humana, mas também

Alcmaeon de Croton (305-240 a.C.) foi o primeiro a oficialmente documentar observações neuroanatômicas baseadas em suas dissecções caninas sobre a fisiologia humana. Dissecção de corpos humanos era um tabu religioso passível de severas punições e os questionamentos filosóficos da antiguidade acabavam sendo respondidos por conclusões translacionais inferidas do estudo dos animais (DOTY, 2007; PERIC et al., 2015). Séculos mais tarde outro médico grego, Aelius Galenus (129-216 a.C.), faria suposições baseadas em experimentação animal que não necessariamente condiziam à condição humana, porém estas perdurariam como verdades absolutas por séculos pois a dissecção de corpos humanos era uma prática banida por preceitos religiosos. Seus conhecimentos dogmáticos só viriam a ser contestados séculos depois, sob a luz racional que foi tendência na Idade Média (VERGARA; MORAHAN, 2018). As teorias de Galeno pereceram em 1543 ante as ilustrações hiperrealistas do renascentista Andreas Vesalius, no trabalho "*De humani corporis fabrica*". Vesalius revolucionou a normativa da época ao produzir ilustrações inéditas (e acuradas) da anatomia humana, estas resultantes de dissecções ilegais de cadáveres de criminosos (BENINI; BONAR, 1996; FRANCO, 2013).

Durante o Renascimento e revolução científica tornou-se cada vez mais comum a utilização de animais em aulas e demonstrações públicas. Levando-se em conta se tratar de uma época em que não se dispunha de conhecimentos sobre anestesia e analgesia, tais experimentos eram sem dúvida causadores de sofrimento animal e causavam opiniões divergentes no público em geral. Preceitos bioéticos demorariam séculos para se tornarem questões relevantes à comunidade científica. No final do século XIX, Claude Bernard estabeleceu os fundamentos da medicina experimental, desenvolvendo diretrizes

rigorosas para garantir repetibilidade de estudos controlados (FRANCO, 2013; PERIC et al., 2015; VERGARA; MORAHAN, 2018).

Somente na segunda metade do século XIX, na Europa vitoriana, a moralidade dos animais começou a ser debatida (KIRKWOOD; HUBRECHT, 2001; FRANCO, 2013) "Introdução aos princípios de moral e legislação" de Jeremy Bentham (1789) foi uma mudança. (BURNS; HART, 1996) Atitudes empáticas exibidas por pensadores influentes como Rousseau e Schopenhauer ajudaram a moldar uma nova abordagem em relação ao bem-estar animal (PEARCE et al., 2007; ERICSSON; CRIM; FRANKLIN, 2013). (publicado em 1859), enfatizou o dever geral de valorizar seu status moral (GROSS, 1998; ERICSSON; CRIM; FRANKLIN, 2013; FRANCO, 2013; MASON D; WOODS, 2018) O "Ato da Crueldade aos Animais" - tornado público em 1876 - foi o primeiro documento legal oficial a estabelecer limites para a experimentação animal (DEGRAZIA, 2003) A abordagem utilitária dominante foi favorável à pesquisa com animais, desde que justificada por beneficiar as pessoas (MIZIARA et al., 2012; FRANCO, 2013)

Apesar de beneficiar nossa qualidade de vida, o uso de animais em pesquisas permanece controverso (ERICSSON; CRIM; FRANKLIN, 2013). O público em geral mostra um crescente sentimento de desaprovação do uso de animais como sujeitos de laboratório, especialmente animais domésticos (MASON; WOODS, 2018). Novas tecnologias são criadas para substituir os requisitos dos animais, mas a pesquisa óssea ainda depende de animais vivos (PEARCE et al., 2007). A pesquisa primária pode revelar informações importantes e continua sendo fundamental para a caracterização de novos modelos animais (COSMAN et al., 2014).

Modelos experimentais são animais incorporados à pesquisa com a finalidade expandir o conhecimento biomédico sobre dada doença e eventualmente desenvolver ou otimizar intervenções terapêuticas aplicáveis a outras espécies. Diversas áreas de pesquisa ainda carecem de alternativas *in vitro* adequadas para mimetizar o comportamento fisiológico de um organismo completo, tais como pesquisas musculoesqueléticas (NAFF; CRAIG, 2012). Modelos animais nos ensinaram muito sobre fisiologia e imunologia óssea ao longo da História e sua contribuição continua sendo ímpar para estas disciplinas.

O "modelo animal ideal" não existe. Nenhum animal isolado - além dos humanos - pode exibir perfeitamente as respostas humanas (SCHINDELER et al., 2018). Vários animais são possíveis análogos para diversas doenças e os pesquisadores devem escolher

a opção mais adequada durante a fase de planejamento, considerando os objetivos do estudo (BONUCCI; BALLANTI, 2014). Deve-se ter em mente que, às vezes, mais de um tipo de modelo pode ser necessário para responder à pergunta da pesquisa (BARRÉ-SINOUSSE; MONTAGUTELLI, 2015). A avaliação em vários níveis é necessária para identificar possíveis vantagens e desafios de qualquer modelo. Seu uso é muito vantajoso, pois garante a homogeneidade das amostras e a reprodutibilidade futura da mesma metodologia aplicada (PERIC et al., 2015; VERGARA-ALERT et al., 2017).

Primatas não humanos são nossa melhor representação biológica em laboratório (WANG; MABREY; AGRAWAL, 1998). Pela mesma razão, usá-los para fins científicos não está isento de implicações éticas complexas hoje em dia. Além das implicações morais, existem dificuldades quanto ao tamanho e facilidade de manejo destes animais nos experimentos, além de serem exigentes em termos financeiros. Trabalhar com primatas também requer uma equipe muito bem treinada (devido ao seu comportamento às vezes agressivo e potencial zoonótico), o que limita seu potencial de pesquisa (FRANCO, 2013).

Nosso segundo modelo mais próximo da estrutura óssea são os cães (WANG; MABREY; AGRAWAL, 1998). Apesar das variações individuais na macroestrutura, sua remodelação óssea é um pouco semelhante e exibe uma estrutura haversiana mais parecida com a humana. Os cães costumavam ser cobaias de pesquisa populares devido ao seu tamanho médio, facilidade de manuseio e comportamento dócil (AERSSENS et al., 1998; PEARCE et al., 2007). Porém nas últimas décadas ocorreu uma mudança de paradigma em relação ao uso de animais em pesquisas. O público em geral tem respondido com objeções marcadas à pesquisa com animais e muitas espécies de modelos clássicos estão caindo em desuso. (AERSSENS et al., 1998; FRANCO, 2013). Os campos das ciências laboratoriais, bem-estar animal e métodos alternativos para substituir o uso de animais expandiram-se consideravelmente como consequência.

Um dos distúrbios mais estudados - e prevalentes - atualmente é a osteoporose. (WRIGHT et al., 2014). A osteopenia relacionada à idade é uma preocupação de saúde pública de importância crescente. O envelhecimento demográfico e o estilo de vida urbano das sociedades ocidentais levaram a essa doença moderna. A Organização Mundial da Saúde considera a osteoporose uma doença significativa relacionada à idade e desenvolve estratégias globais em sua prevenção, manejo e vigilância (WHO

SCIENTIFIC GROUP ON PREVENTION, MANAGEMENT OF OSTEOPOROSIS, 2003).

A osteoporose causa formação/reabsorção óssea desequilibrada e diminui a massa óssea. Os ossos enfraquecidos são mais propensos a sofrer fraturas, mesmo sem lesões de impacto. As fraturas patológicas ocorrem principalmente na articulação do quadril e vértebras e podem até passar despercebidos em pacientes idosos (COOPER et al., 2016). Essas fraturas prejudicam gravemente a autossuficiência remanescente desses pacientes e podem elevar significativamente a comorbidade da doença (COSMAN et al., 2014). As fraturas secundárias provavelmente podem ocorrer, aumentando o ônus econômico e (COSMAN et al., 2014; DUONG et al., 2016; REZNIKOV et al., 2016). Essa condição afeta principalmente mulheres na pós-menopausa. Mas também pode ocorrer em homens mais velhos, embora com menos frequência (COSMAN et al., 2014).

Para fornecer descobertas precisas sobre estudos de osteoporose, os pesquisadores devem induzir a perda óssea em modelos experimentais. Esse tipo de pesquisa é ainda mais controverso (EGERMANN; GOLDHAHN; SCHNEIDER, 2005). Existem métodos artificiais para acelerar a perda óssea: esterilização cirúrgica, restrições nutricionais ou de mobilidade e até administração de medicamentos como corticosteroides (NGUYEN et al., 2017). Os animais têm distintos ciclos reprodutivos diferentes que interferem nos estudos de osteopenia (PERIC et al., 2015). Um modelo animal ideal deveria exibir resposta óssea relacionada ao metabolismo do estrogênio de maneira semelhante aos mamíferos poliétricos (CASTAÑEDA et al., 2006).

Primatas castrados (OVX ou ORX) já serviram como modelo ósseo porém caíram em desuso devido a implicações morais e seu comportamento imprevisível (às vezes agressivo) e potencial zoonótico (WANG; MABREY; AGRAWAL, 1998; PEARCE et al., 2007). A utilidade da pesquisa de osteoporose em cães é discutível. A restrição hormonal por si só não prejudica o metabolismo ósseo nesta espécie monoéstrica. Camundongos geneticamente modificados são valorizados para a pesquisa biomolecular, mesmo que seu tamanho reduzido seja uma limitação (ROSENTHAL; BROWN, 2007). Ovelhas, cabras e porcos são alternativas menos procuradas devido às diferenças encontradas na sua microestrutura e remodelação óssea se comparadas a condição humana, além do seu tamanho adulto ser um fator limitante à pesquisa em lugares com pouco espaço disponível (PEARCE et al., 2007).

Coelhos já são bem conhecidos por pesquisadores de diversas áreas científicas há décadas. No entanto, apenas recentemente eles foram direcionados como possíveis modelos ósseos (YANNI, 2004). Eles podem ser relevantes para o cenário de perda óssea relacionada à idade (BAOFENG et al., 2010; WANDERMAN et al., 2018). O coelho branco da Nova Zelândia é a raça mais popular em pesquisa. Os coelhos são filogeneticamente mais próximos dos primatas do que dos roedores. Atingem a maturidade esquelética entre 20 e 30 semanas de idade, sendo que as fêmeas são mais precoces (NAFF; CRAIG, 2011). Os adultos exibem algumas remodelações haversianas. O metabolismo ósseo deles é um pouco semelhante aos humanos. No entanto, deve-se saber que a castração cirúrgica não é suficiente para imitar a perda óssea. Para isso, outras técnicas devem estar associadas como tratamento com corticosteroides (CASTAÑEDA et al., 2006; PEARCE et al., 2007)

Os coelhos apresentam menos osso esponjoso que os seres humanos (CASTAÑEDA et al., 2006; ZHANG et al., 2016) Eles têm córtices mais frágeis. (WANG; MABREY; AGRAWAL, 1998; DURANOVA et al., 2015) A fina espessura cortical contribui para a alta taxa de complicações do reparo de fraturas nesta espécie. (MASSIE et al., 2019) Sua anatomia funcional permite que seus saltos peculiares de alta velocidade evitem predadores. O confinamento da gaiola e a restrição do exercício podem ser prejudiciais (ABDALLA et al., 1992). Os pesquisadores devem considerar os sistemas de alojamentos coletivos internos ou em ambiente doméstico em oposição ao confinamento em gaiola pequena (SOMMERVILLE; RUIZ; AVERÓS, 2017).

Uma pesquisa com os termos "coelho" e "modelo experimental" no PubMed resultou em 34.247 artigos de periódicos indexados publicados entre 1951 e 2020, quase 10.000 da década passada. Os coelhos foram fundamentais para a descoberta da enzima atropina esterase, no século XIX (LLEBENBERG; LINN, 1980). Desde então, eles foram protagonistas de vários estudos ganhadores do Prêmio Nobel. Eles ajudaram a caracterizar mecanismos imunológicos; descoberta de mecanismos de insulina e diabetes. Eles têm importância em muitos campos científicos (YANNI, 2004; BELLÓN et al., 2017; NOBEL FOUNDATION, 2019).

Estudos envolvendo coelhos tornaram-se mais frequentes em ortopedia nos últimos anos. Avaliações multiespécies consideraram os coelhos como potenciais modelos ósseos, após primatas e cães (BAGI; BERRYMAN; MOALLI, 2011). Um estudo de 2012 publicou os efeitos de aplicação de cargas de compressão axial e flexão

lateral *in vivo* nas tíbias de coelhos. Eles concluíram que a tíbia de coelho pode suportar mais cargas que as tíbias de cabras, mas os dados biomecânicos dos ossos de coelho ainda são escassos (REIFENRATH et al., 2012). Outro estudo descreveu as diferenças qualitativas entre camundongos, ratos, cães, primatas não humanos e coelhos. Eles concluíram que as características esqueléticas dos coelhos eram as menos desejáveis para extrapolação de dados para seres humanos, mas os autores destacaram limitações no estudo que não permitem afirmar com certeza por falta de dados biomecânicos (BAGI; BERRYMAN; MOALLI, 2011).

Coelhos são modelo padrão na pesquisa periodontal. Eles fazem parte de diversos estudos como: medição dos efeitos do hormônio paratireóide na osteointegração na osteoporose (OKI et al., 2017); medição da cicatrização óssea de um arcabouço poroso de hidroxiapatita nanoestruturada contendo zinco (SURUAGY et al., 2016); avaliações de biomateriais variados, como combinações de hidroxiapatita (GUO et al., 2014; TSAI et al., 2016) e biocerâmica (DENG; CHANG; WU, 2018).

Alguns estudos recentes exploram seu potencial como modelos de cartilagem (GUO et al., 2010) e reparo das lesões meniscais (FICK et al., 2016). Eles foram procurados em outros estudos sobre artrologia e cicatrização de tendões. Um estudo concentrou-se em injeções intra-articulares de sulfato de condroitina transportadas por hidrogel (HUI et al., 2007). Outros avaliaram a cicatrização de tendões através da reprodução de tenossinovite do bíceps (TAN et al., 2018), ligamento cruzado anterior (HEVESI et al., 2019) e lesões do manguito rotador (LI et al., 2018).

Em um deles os autores intencionavam analisar a simetria entre os antímeros de coelho e escolheram o teste de torção dos ossos longos para esta investigação. Foram testados úmeros e tíbias sob rotação interna e externa e não houve diferença estatística entre os ossos do mesmo par (WHITE; PANJABI; HARDY, 1974). Outros autores compararam as propriedades torcionais de diáfises de ossos longos de coelho após diferentes protocolos de tratamentos por autoclavagem com intuito de futura utilização para enxertia óssea (KÖHLER; KREICBERGS; STRÖMBERG, 1986).

Existe a necessidade bioética de uma sistematização de dados e condutas que garanta a devida relevância e visibilidade aos resultados dos experimentos com animais, minimizando assim o sofrimento animal desnecessário. Nesse âmbito, iniciativas privadas sem fins lucrativos como a associação para avaliação e acreditação do cuidado animal internacional (AAALAC Internacional -

<https://aovet.aofoundation.org/research/aaalac-international>) que mantém parceria de pesquisa com a AOVET - braço veterinário da Fundação AO - são fundamentais em promover educação acerca dos preceitos bioéticos a serem seguidos em pesquisa translacional mundialmente (ALLEN et al., 2017).

Bancos de dados internacionais e plataformas digitais como os sites disponibilizados pela Universidade de Utrecht (<https://www.interspeciesinfo.com>) e humane endpoint (www.humaneendpoints.info) são fundamentais na era digital em que vivemos e representam contribuição significativa para os preceitos dos 3Rs, com potencial para contribuir efetivamente na redução do número de animais usados em pesquisa sem ônus aos resultados futuros (KLIPHUIS, 2017).

Apenas nesse ano já foram publicados 96 artigos indexados no pubmed com os termos “rabbit” e “bone”, concentrando-se a maioria em estudos de regeneração e biocompatibilidade de novos materiais como tecnologia de prototipagem tridimensional e nanotecnologia (JIANG et al., 2020; RYU et al., 2020).

2.3.4 Coelho como companheiro doméstico

Nós, seres humanos, estamos diante de um momento único da História. Estamos sendo atingidos por um maremoto de conectividade digital cujas agressivas ondas de informações muitas vezes poluídas (tanto por plástico quanto por inverdades) conseguem, sincronicamente, inundar nosso cotidiano com atos, fatos e contatos que geram a obsessão por registrar, postar e expandir cada vez mais o elo virtual, compartilhando fragmentos de emoções maquiadas para uma projeção da realidade cada vez mais tecnológica, ao passo que incutem grandes barreiras aos laços afetivos, roubando-lhes a efetividade, diminuindo nossa capacidade cognitiva e suscitando ressignificações morais e éticas influenciadas pelo senso crítico volátil “*linkado*” às redes sociais (PIASSI, 2013; FARAH et al., 2019).

Talvez tenha chegado o momento da existência distópica vislumbrada por Nietzsche no conceito de “*Übermensch*” em que as pessoas estão perdendo a sua identificação como seres naturais, seletivamente deletando seus parentescos com o reino animal e se apegando cada vez mais à corda sobre o abismo mencionado no prólogo de Assim falou Zaratustra: “O homem é uma corda, atada entre o animal e o além-do-homem – uma corda sobre um abismo” (NIETZSCHE, 2006; APOLINÁRIO, 2019). Mas pode-

se parafrasear ao atual contexto em que a corda representa um cabo carregador dos aparatos tecnológicos - agora indissociáveis – da existência humana, perpassando o abismo conotativo que se formou entre pessoas que apesar de dividir o mesmo ambiente, se sentem desmotivadas a expressar afeto humano senão pela subjetividade virtual. Nesse contexto, os animais domésticos figuram como elos importantes capazes de nos ancorar à essência humana cada vez mais ofuscada pela nuvem híbrida de sentimentos humanos e dados robóticos (APOLINÁRIO, 2019; RUIZ, 2020).

Nesse circunstancial paradoxo ontológico, os animais passaram a suprir as nossas fragilidades psicossociais dissonantes, intercambiando nossas atitudes e valores morais ao longo do tempo (DHONT et al., 2019). São consideradas domesticadas aquelas espécies que passam a comparecer no cotidiano humano diário, sofrendo assim pressão seletiva para o caráter dócil e submisso nas gerações seguintes. O papel dos animais de companhia nas sociedades é mutável de acordo com contextos culturais. Porém a posse de animais de estimação é um fenômeno global inexorável, potencializado no mundo contemporâneo. Esse vínculo é inegavelmente importante para a saúde mental humana, constituindo ferramenta de valor terapêutico comprovado cientificamente (DHONT et al., 2019).

Ao longo dos séculos os coelhos ocuparam níveis distintos na relação com o homem. Foram úteis como alimento, vestuário e até lazer e práticas esportivas. A sua domesticação ocorreu provavelmente entre os séculos V e X no sul da Europa, na então região da península ibérica (VELLA; DONNELLY, 2012). Porém já faziam parte da cultura Fenícia conforme registros arqueológicos pré-históricos. Se inicialmente os coelhos, imagina-se, despertaram o olhar humano sob o enfoque o alimentar e indumentário das sociedades de pastoreio, as gerações seguintes sofreram tantas adaptações morfológicas e comportamentais pelo processo de domesticação que caíram nas graças como animais de estimação e hoje representam a terceira espécie doméstica favorita dos europeus (FISHER, 2010).

Nesta perspectiva, compartilhar o convívio do lar com coelhos torna-se cada vez mais frequente devido as suas características favoráveis ao cenário urbano. Eles são animais gregários, calmos, visualmente atrativos (especialmente para crianças), facilmente adaptáveis a pequenos espaços, silenciosos, higiênicos, de aquisição e alimentação pouco onerosas e requerem pouco nível de atenção humana. Esta última representa grande vantagem perante a cães e gatos, já que estes podem, sabidamente, ter

consequências psicológicas quando sofrem restrição da companhia humana - como a síndrome de ansiedade de separação - e requerem muitas vezes altos níveis de atividade física em amplo espaço disponível para que suas necessidades básicas de bem estar sejam supridas (THIELKE; UDELL, 2017).

Esta tendência potencializa a demanda por profissionais veterinários especializados com refinamento na área de medicina e cirurgia de coelhos. A literatura acadêmica tem se mostrado cada vez mais enriquecida por relatos e estudos neste enfoque, porém o tratamento de fraturas nesta espécie ainda é desafiador e revela um campo importante a ser explorado (GOSLING; VÁZQUEZ-DIOSDADO; HARVEY, 2018). Publicações recentes enfatizam a necessidade de reação científica frente às altas taxas de complicações encontradas em osteossínteses, que aliadas à ausência de implantes adequados à espécie podem culminar em resultados catastróficos (MCBRIDE et al., 2010; LANGLEY-HOBBS; HARCOURT-BROWN, 2013; MASSIE et al., 2019). No estudo mais recente encontrado, ao analisar uma casuística de 12 anos de atendimentos a 2457 coelhos pet na Escócia, 30 foram diagnosticados com fraturas de ossos longos, e seu tratamento resultou em 41% de complicações decorrentes das fraturas nestes animais, dos quais 13% sofreram amputações e 7% foram eutanasiados (GARCIA et al., 2020).

3 OBJETIVOS

Determinar as propriedades biomecânicas dos fêmures, úmeros e tíbias de cadáveres de coelhas adultas para estabelecer parâmetros normais para a espécie.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Avaliar a massa óssea e o conteúdo mineral de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas por meio de scanner de absorciometria por raios-x de dupla energia;
- ❖ Determinar o comportamento *ex vivo* e as propriedades estruturais dos fêmures, tíbias e úmeros de coelhas carregados até a falha sob compressão axial, forças de torção e flexão em três pontos.
- ❖ Determinar se existem diferenças emparelhadas da esquerda para a direita;
- ❖ Determinar se há correlação entre massa óssea e força óssea em todos os testes biomecânicos.

4 JUSTIFICATIVA

A pesquisa óssea ainda possui requisitos não atendidos que as metodologias *in vitro* não podem atender completamente. A pesquisa básica para padronizar novos modelos continua sendo necessária e nesse âmbito os coelhos ganham crescente destaque como potenciais modelos translacionais. Estabelecer os parâmetros normais para ossos longos de coelhos tem importância em servir de referência útil para futuros estudos sobre densidade mineral óssea e análise biomecânica que utilizem coelhos como modelo para afecções ortopédicas em outras espécies e também na compreensão das forças atuantes nos ossos desta espécie para validação de novos implantes ortopédicos que venham a ser testados neste modelo animal. As altas taxas de complicações cirúrgicas decorrentes do tratamento de fraturas nessa espécie demanda um olhar mais atento às forças que causam tais falhas ósseas.

5 HIPÓTESE

Não haverá diferença estatística das propriedades biomecânicas entre os antímeros contralaterais de fêmures, tíbias e úmeros de coelhos submetidos aos ensaios mecânicos de compressão, flexão em três pontos e torção;

Existirá correlação significativa entre a resistência óssea determinada nos testes biomecânicos com os valores de densidade mineral óssea obtidos pelo método DXA dos mesmos ossos.

6 MATERIAL E MÉTODO

6.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este trabalho foi desenvolvido após parecer favorável da Comissão de Ética no uso de animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), com protocolo nº CEUA nº 1793171215. Os ensaios biomecânicos foram realizados no Laboratório de Investigação Médica do Sistema Musculoesquelético (LIM-41) do Instituto de Ortopedia e Traumatologia (IOT) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC/FMUSP). Todos os dispositivos utilizados nos testes foram desenvolvidos pelo tecnólogo em saúde César Augusto Martins Pereira, do referido laboratório. Também foi revisado e aprovado pelo Conselho de Revisão da Comissão Científica e pelo Comitê de Ética do Instituto de Ortopedia e Traumatologia (IOT / HCFMUSP) sob o protocolo CC-DOT 146/2017. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos da experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), afiliado ao Conselho Internacional de Ciência Animal de Laboratório (ICLAS).

6.2 CORPOS DE PROVA

Foram obtidas para o estudo 40 carcaças de coelhas (*Oryctolagus cuniculus*) adultas, todas fêmeas, da linhagem Nova Zelândia Branco, de peso corporal de 2,5 a 4 kg eutanasiadas com idade entre 8 e 12 meses. Elas eram remanescentes do projeto de pesquisa do aluno egresso de Mestrado Julielton de Souza Barata, intitulado “Uso do laser de baixa intensidade como potencializador da cicatrização tecidual em retalhos cutâneos tubulares de padrão subdérmico empregados em coelhos”, aprovado pela CEUA da Universidade Estadual Paulista (Unesp), campus de Jaboticabal, sob o protocolo 7887/2016, realizado entre 01/10/2016 e 20/06/2017, e seriam destinados para descarte de material biológico após a eutanásia (Anexo A).

Vislumbrando o refinamento ético e otimização da utilização animal em pesquisa, obtivemos autorização para reaproveitar os remanescentes biológicos e evitar seu desperdício. Extraímos os corpos de prova das carcaças, que foram congeladas inteiras logo

após sobredose de injeção anestésica, em freezer comum a -20°C. No processo de análise e preparação dos corpos de prova, notou-se que nem todas as partes ósseas estavam ilesas após o processo de armazenamento em freezer. Optamos então por excluir as coelhas que apresentassem lesões ou fraturas em algum dos seus úmeros, fêmures ou tíbias. Excluímos do estudo todos os rádios e ulnas pois muitos estavam danificados. Já que não haveria quantidade suficiente destas amostras a serem incluídas nas etapas seguintes do projeto e não havia a pretensão de obter mais animais apenas visando analisar-lhes os ossos - julgando ser esse um sofrimento desnecessário perante a quantidade de remanescentes biológicos que são subaproveitados em outras pesquisas – optamos por não realizar a análise dos respectivos ossos.

Incluímos então 30 coelhas fêmeas e adultas, da linhagem branca da Nova Zelândia, esqueleticamente maduras, das quais foram extraídos os pares de úmeros, fêmures e tíbias (n=180). Os ossos de uma mesma coelha foram mantidos agrupados até o final do experimento. Elas estavam armazenadas na Unesp Jaboticabal e a dissecação foi feita na sala de necropsia do departamento de patologia. Descongelamo-las à temperatura ambiente e seus membros torácicos e pélvicos foram desarticulados para remoção da musculatura e tecidos periarticulares com instrumental cirúrgico específico. Em seguida separamos os úmeros das respectivas escápulas e das articulações úmero-rádio-ulnares, assim como removemos os fêmures dos respectivos acetábulos. Removemos também o perióstio. O aspecto final pode ser visibilizado na figura 3. Os ossos que viriam a constituir os corpos de prova foram identificados individualmente com etiquetas resistentes à água.

Figura 3 - Imagens de ossos de coelho doméstico (*O. cuniculus*) após dissecação. A) Exemplar de fêmur esquerdo em vista cranial. B) Exemplar de úmero esquerdo em vista cranial. C) Exemplar de tíbia esquerda em vista cranial.

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

Realizamos então radiografias em projeções craniocaudal e mediolateral dos ossos individualmente, para descartar qualquer anormalidade macroscópica como osteopenia, fraturas ou fissuras (Figura 4) e todos foram submetidos a exame para determinação da massa óssea.

Figura 4 - Imagens radiográficas de ossos de coelho doméstico (*O. cuniculus*). A) Exemplar de fêmur esquerdo em projeção craniocaudal. B) Exemplar de fêmur esquerdo em projeção mediolateral. C) Exemplar de tíbia direita em projeção craniocaudal. D) Exemplar de tíbia direita em projeção oblíqua. E) Exemplar de tíbia direita em projeção mediolateral.

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

Com auxílio de um paquímetro digital com precisão de 0,05 mm, foram feitas mensurações em todos os ossos. Foi determinado o comprimento de cada osso, e demarcada a localização da diáfise média, onde foram feitas também mensurações de diâmetro no sentido craniocaudal e mediolateral (diâmetro maior e menor). A partir da diáfise média foram demarcados os pontos localizados a 1 cm proximal e 1 cm distal, nos quais também foram realizadas as mesmas mensurações (Figura 5) e os valores foram tabelados e estão dispostos no Quadro 1.

Figura 5 - Imagens de fêmur esquerdo de *O. cuniculus* após a remoção de tecidos moles e perióstio mostrando os locais em que foram realizadas mensurações com paquímetro digital, vista cranial. A) É possível notar o comprimento (X) delimitado pela chave preta, e a marcação da diáfise média (exatamente no meio do osso) delimitada pela linha pontilhada. B) É possível notar a diáfise média delimitada pela linha pontilhada preta e as marcações 1 cm proximal e 1 cm distal desta linha, delimitadas por linhas pontilhadas brancas.

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

6.3 ABSORCIOMETRIA DE RAIOS-X DE DUPLA ENERGIA

As amostras foram transportadas até o laboratório de Densitometria Óssea do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Unesp, Campus de Jaboticabal. Previamente à análise, foi realizada a calibração do densitômetro¹ com uma escala *phantom* de densidade similar às vértebras humanas. Em seguida, os ossos foram pesados em balança de precisão e posicionados com a região caudal apoiada na plataforma do equipamento. Iniciamos o exame na região de cruzamento do laser do scanner, em que a epífise proximal estava apoiada, até a epífise

¹ Hologic, Discovery Si, GE.

distal do osso, com área variável de acordo com o tamanho da peça óssea (Figura 6). O escaneamento de cada corpo de prova demorou cerca de três minutos e os valores da densidade mineral óssea (g/cm^2) e conteúdo mineral ósseo (BMC) em g/cm^2 foram obtidos com auxílio de um software de alta resolução de análise em pequenos animais.

Figura 6 - Imagem fotográfica de uma tíbia direita de *O. cuniculus* durante escaneamento para exame de densitometria óssea.

Fonte: MACEDO; A.S. (2020).

Os ossos foram então envolvidos em compressas de gaze umedecidas em solução de NaCl a 0,9%, acondicionados em sacos plásticos identificados e congelados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Foram então transportados para São Paulo e armazenados no Laboratório de Investigação Médica do Sistema Musculoesquelético (LIM-41) do Instituto de Ortopedia e Traumatologia (IOT) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC/FMUSP) até o momento dos testes.

6.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os ossos de cada coelha foram distribuídos de maneira aleatória em três grupos distintos ($n=10$ coelhas por grupo, 60 ossos cada). Os pares ósseos foram mantidos na companhia dos seus equivalentes contralaterais que serviram como controle nos testes biomecânicos. Os grupos foram divididos de acordo com o teste que foram submetidos:

- Grupo Compressão (n= 20 úmeros, 20 fêmures e 20 tíbias);
- Grupo flexão em três pontos (n= 20 úmeros, 20 fêmures e 20 tíbias);
- Grupo torção (n= 20 úmeros, 20 fêmures e 20 tíbias).

Os testes biomecânicos foram executados em uma máquina universal de ensaios mecânicos Kratos, modelo K5002, dotada de célula de carga de 1962 N (200 kgf). Os dados provenientes da máquina de ensaios (força e deslocamento) foram obtidos por meio de um sistema computadorizado de aquisição de dados Lynx, modelo ADS2000, a uma taxa de 30 amostras/segundo.

6.4.1 Grupo compressão

Os corpos de prova desse grupo consistiam de amostras cilíndricas retiradas da diáfise média de acordo com as dimensões morfológicas de cada espécime ósseo. Utilizamos o valor do diâmetro menor da diáfise média para serem confeccionadas marcações distais ao ponto médio e determinamos os locais exatos das linhas de osteotomia, de forma que a altura de cada corpo de prova fosse igual ao valor do istmo (Figura 7). Realizamos novas aferições do ponto delimitado para ser a linha de osteotomia (seus diâmetros craniocaudal e mediolateral) antes da osteotomia.

Figura 7 - Imagem de fêmur esquerdo de *O. cuniculus* após a remoção de tecidos moles e periósteo mostrando os locais em que foram realizadas as osteotomias para teste de compressão. A linha pontilhada preta representa a marcação da diáfise média, a linha pontilhada branca representa a marcação feita da distância igual ao valor do diâmetro menor da diáfise média.

Fonte: MACEDO (2020).

Os ossos foram então posicionados em dispositivo confeccionado por prototipagem 3D em material de ácido polilático (PLA) (Figura 8) para maior segurança durante o procedimento de osteotomia. As osteotomias foram realizadas de maneira a ficarem paralelas entre si através da utilização de serra de corte as superfícies foram desgastadas com o intuito de promover secções transversais uniformes (Figura 9).

Figura 8 - Imagem fotográfica do dispositivo confeccionado para apreensão dos ossos. A) Vista dorsal de um exemplar de tíbia esquerda localizada no centro do dispositivo. B) Vista lateral do mesmo exemplar de tíbia.

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

Figura 9 - Imagem fotográfica do momento da osteotomia de um exemplar de tíbia preso ao dispositivo através da utilização de serra de corte.

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

Após as osteotomias, os corpos de prova resultantes foram posicionados na máquina Kratos para realização do teste de compressão (Figura 10). O dispositivo para teste de compressão era composto por uma base de aço fixa à base da máquina de ensaios e por um atuador de aço conectado à célula de carga (parte móvel da máquina).

O atuador tinha sua superfície plana e paralela à base de aço. O corpo de prova foi colocado na base de aço de modo que o seu eixo principal ficasse alinhado e centralizado com o eixo do atuador de aço. Antes de cada ensaio, utilizando um paquímetro com precisão de 0,05 mm, foram efetuadas as medidas de altura do corpo de prova e dos diâmetros no eixo craniocaudal e mediolateral em três regiões distintas do corpo de prova, são elas: distal, central e proximal, valores expostos no Quadro 2.

Cada ensaio foi executado sob velocidade de 5 mm/min até a ruptura ou falha do material.

Figura 10 - Imagens fotográficas dos testes de compressão. A) Dispositivo de compressão montado na Máquina Kratos. É possível notar o posicionamento da máquina fotográfica que fez o registro visual dos testes. B) Corpo de prova final após osteotomia de tíbia. C) Corpo de prova posicionado no centro do dispositivo de compressão, antes do teste.

Fonte: MACEDO (2020).

6.4.1.1 Medição da área do corpo de prova

A área transversal do corpo prova foi mensurada na sua região distal e proximal por meio de um programa de computador desenvolvido no laboratório de Biomecânica – LIM-41 do IOT-HC-FMUSP. O programa tinha a função de medir automaticamente várias propriedades geométricas através da análise de imagens da secção óssea. As propriedades medidas eram área, momento de inércia, centroide (centro geométrico) e as distâncias entre as fibras mais afastadas (superior e inferior) em relação ao centro geométrico no eixo X (vertical). Nos ensaios de compressão foram utilizadas somente a propriedade área e as outras propriedades, foram utilizadas para os ensaios de flexão.

Primeiramente, foram tiradas fotos digitais (Canon EOS Rebel T2i com resolução de 18 Megapixels) das superfícies proximal e distal do corpo de prova posicionado em uma mesa contendo quatro pontos de referência com distancias conhecidas (gabarito). Com o programa era possível abrir cada imagem (proximal ou distal), e de forma automática, detectar os quatro pontos do gabarito, reconhecer a cor na região de interesse e calcular os parâmetros geométricos. O erro do método de medição era de 3,4% para o cálculo do momento de inércia e de 0,8% nas medidas lineares (DALBÓ et al., 2016).

6.4.2 Grupo torção

A preparação dos corpos de prova para este teste envolveu traçar duas linhas no sentido longitudinal dos ossos, perpendiculares entre si, através de auxílio de um dispositivo *laser* (Figura 11A), para delimitar os planos cranial e lateral dos ossos e após as demarcações feitas os ossos eram alinhados em outro dispositivo confeccionado por prototipagem 3D (Figura 11B-C) para que fosse possível embeber suas epífises proximais e distais em polimetilmetacrilato (PMMA) (Figura 12B-D).

Figura 11 - Imagens fotográficas da preparação dos corpos de prova para o teste de torção. A) Exemplar de tibia fixa no dispositivo recebendo a luz laser onde era feita a demarcação de uma linha longitudinal paralela ao eixo do osso, com intuito de alinhar o osso no dispositivo de curagem das epífises. B) Dois corpos de prova dispostos lado a lado, cada um centralizado no dispositivo de curagem. C) Dois corpos de prova durante processo de curagem, onde o PMMA ainda líquido era despejado dentro dos recipientes de cloreto de polivinil (PVC), para reação exotérmica. D) Corpo de prova após ser removido do dispositivo de curagem. E) Dispositivo de ensaio de torção montado na máquina Kratos, com um corpo de prova em posição de teste. F) Detalhe do corpo de prova preso com o PMMA preso

Fonte: MACEDO, A.S. (2020)

Foi adaptado à máquina de ensaios um dispositivo mecânico com a função de executar os ensaios de torção de cada osso estudado (Figura 12E-F). O dispositivo era composto por duas placas de fixação alinhadas axialmente, onde uma era presa à base da máquina por intermédio de um trilho (sem rotação) e a outra placa era acoplada à célula de carga da máquina de ensaios, por intermédio de uma corrente de transmissão (parte com rotação). O eixo que suportava a engrenagem e a placa de fixação era acoplado a um rolamento linear que permitia a rotação do próprio eixo e também pequenas translações longitudinais inerentes ao encurtamento do material quando submetido à torção.

Com o movimento de ascensão da célula de carga, a engrenagem presa à placa de fixação móvel aplicava um torque sobre o osso estudado, determinada como o produto da força medida pela máquina de ensaios e o raio da engrenagem (equação 6). O deslocamento angular foi determinado pela relação do deslocamento linear medido pela

máquina de ensaios com o diâmetro da engrenagem e seu perímetro e foi calculado pela equação 7.

$$M = F . r \quad (\text{equação 6})$$

Onde:

M: Momento de torção (N.mm)

F = Força medida pela máquina de ensaios (N)

r: raio da engrenagem (48 mm)

$$D_{ang} = D_{lin} / (\pi . d_e) \quad (\text{equação 7})$$

Onde:

D_{ang} : Deslocamento angular (grau)

D_{lin} : Deslocamento linear medido pela máquina (mm)

π : 3,1415

d_e : diâmetro da engrenagem (96 mm)

Cada ensaio foi executado a uma velocidade de 1 grau/s até a sua ruptura ou falha do material.

6.4.3 Grupo flexão em 3 pontos

Foi utilizado um dispositivo para ensaio de flexão em três pontos. Ele era composto por um cutelo superior presos à célula de carga (parte móvel da máquina de ensaios) e por dois cutelos inferiores presos à base da máquina. A distância entre os cutelos era variável de acordo com o osso em questão (Figura 12). Utilizando-se um paquímetro com resolução de 0,05 mm, foi determinado o ponto central de referência na região diafisária correspondendo à metade do comprimento total de cada osso estudado, e o osso foi posicionado sobre os apoios inferiores de forma que o ponto de referência ficasse alinhado com o atuador (Figura 13). Cada ensaio foi executado sob velocidade de 5 mm/min até a sua ruptura ou falha do material.

Figura 12 - Imagem fotográfica de um exemplar de tíbia posicionado para teste de flexão.

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

Foram calculadas as tensões máximas na superfície óssea referente à região submetida a esforços de tração e à compressão, segundo as equações 8 e 9.

$$\sigma_c = (M \cdot h_c) / J_x \quad (\text{equação 8})$$

$$\sigma_t = (M \cdot h_t) / J_x \quad (\text{equação 9})$$

(ref: Mecânica técnica e resistência dos materiais, Sarkis Melconian, 10.a edição, editora Erica, pg 241)

Onde:

σ_c = Tensão à compressão, em N.mm⁻²

σ_t = Tensão à tração, em N.mm⁻²

M = Momento à flexão na região de contato do cutelo superior, em N.mm

h_c = Distância entre a superfície submetida à compressão e a linha neutra, em mm

h_t = Distância entre a superfície submetida à tração e a linha neutra, em mm

J_x = Momento de inércia de uma superfície em relação ao eixo x.

O momento à flexão M foi determinado pela equação 10.

$$M = F/2 \cdot c \quad (\text{equação 10})$$

Onde:

M = Momento à flexão, em N.mm

F = Força vertical medida pela célula de carga, em N

c = Distância entre os cutelos

Também foi calculada a tensão média que correspondeu à média dos valores de tensão de compressão e tração calculadas para cada espécime.

6.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a realização da comparação entre os lados, os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para averiguar a normalidade dos mesmos e direcionar a escolha do teste. Para os dados de distribuição normal, foi utilizado o teste T de *Student* pareado. Já para os dados que não apresentaram normalidade foi utilizado o teste de Wilcoxon pareado.

Para os testes de associação entre os parâmetros avaliados e a densitometria foi utilizado a correlação de Pearson para os dados paramétricos e a correlação de *Spearman* para os dados não paramétricos. Valores de correlação acima de 0.70 são considerados de forte correlação; entre 0,50 e 0,70, correlação moderada; e abaixo de 0,50 correlação fraca. Valores negativos indicam correlação negativa entre os parâmetros.

O grau de significância estabelecido para os testes estatísticos foi de 5% ($p < 0,05$). Os testes estatísticos foram realizados em programa de computador (RStudio, Version 0.99.903 – © 2009-2016 RStudio, Inc.).

7 RESULTADOS

7.1 CORPOS DE PROVA

Foram utilizados 180 ossos (60 fêmures, 60 úmeros e 60 tíbias) provenientes de 30 cadáveres de coelhas fêmeas. Seus remanescentes biológicos foram reaproveitados após utilização de sua pele em outro estudo de instituição parceira, com intuito de otimização e refinamento em pesquisa.

7.2 DENSITOMETRIA ÓSSEA

Os valores médios obtidos no exame de densitometria óssea por exame DEXA dos corpos de prova incluídos no experimento estão dispostos a seguir:

Quadro 1: Valores de média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros analisados de área, conteúdo mineral ósseo e densidade mineral óssea das amostras estudadas obtidos por exame de DEXA:

Parâmetro	Total n= 180	Fêmures n=60	Tíbias n=60	Úmeros n=60
Área (cm ²)	6,80 $\pm$ 1,97	7,81 $\pm$ 1,35	8,03 $\pm$ 1,17	4,56 $\pm$ 0,96
CMO (g)	1,65 $\pm$ 0,63	2,00 $\pm$ 0,50	1,99 $\pm$ 0,39	0,95 $\pm$ 0,28
DMO (g/cm ²)	0,23 $\pm$ 0,06	0,25 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,03	0,20 $\pm$ 0,08

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

Legenda: CMO (Conteúdo Mineral Ósseo); DMO (Densidade Mineral Óssea).

Quadro 2: Valores de média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros analisados de área, conteúdo mineral ósseo e densidade mineral óssea das amostras estudadas obtidos por exame de DEXA:

Parâmetro	Fêmures	Direitos n=30	Esquerdos n=30
Área (cm ²)	7,81 $\pm$ 1,35	7,82 $\pm$ 1,43	7,81 $\pm$ 1,29
CMO (g)	2,00 $\pm$ 0,50	2,01 $\pm$ 0,51	1,99 $\pm$ 0,50
DMO (g/cm ²)	0,25 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,03

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

Legenda: CMO (Conteúdo Mineral Ósseo); DMO (Densidade Mineral Óssea).

Quadro 3: Valores de média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros analisados de área, conteúdo mineral ósseo e densidade mineral óssea das amostras estudadas obtidos por exame de DEXA:

Parâmetro	Tíbias	Direitas n=30	Esquerdas n=30
Área (cm ²)	8,03 $\pm$ 1,17	7,96 $\pm$ 1,20	8,10 $\pm$ 1,16
CMO (g)	1,99 $\pm$ 0,39	1,97 $\pm$ 0,41	2,02 $\pm$ 0,38
DMO (g/cm ²)	0,25 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,03

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

Legenda: CMO (Conteúdo Mineral Ósseo); DMO (Densidade Mineral Óssea).

Quadro 4: Valores de média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros analisados de área, conteúdo mineral ósseo e densidade mineral óssea das amostras de úmeros estudadas.

Parâmetro	Úmeros	Direitos	Esquerdos
Área (cm ²)	4,56 $\pm$ 0,96	4,60 $\pm$ 0,89	4,52 $\pm$ 1,04
CMO (g)	0,95 $\pm$ 0,28	0,98 $\pm$ 0,30	0,93 $\pm$ 0,27
DMO (g/cm ²)	0,20 $\pm$ 0,08	0,21 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,11

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

Legenda: CMO (Conteúdo Mineral Ósseo); DMO (Densidade Mineral Óssea).

ENSAIOS BIOMECÂNICOS

7.3 GRUPO COMPRESSÃO

7.3.1 Rigidez

Tabela 1. Estatística descritiva do parâmetro rigidez medido nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros pelo teste de *Wilcoxon* ou (t de *Student*).

	Rigidez (N.mm)					
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	8151,0	6802,6	10760,1	8418,4	3913,2	4105,3
Mediana	5643,5	6996,6	10245,7	8842,7	3460,8	4440,6
DP	4200,1	3056,5	3076,9	3219,7	1079,8	1021,1
EPM	1328,2	966,6	973,0	1018,2	341,5	322,9
Min	4382,9	2676,1	6320,3	4152,4	2801,6	2490,6
Max	15104,4	12838,4	15466,3	14218,3	5693,9	5659,5
N	10	10	10	10	10	10
	p = 0,08 <i>Wilcoxon</i>		p = 0,07 <i>Student</i>		p = 0,73 <i>Student</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 1. Médias do parâmetro Rigidez (N.mm) medido nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A.S. (2020).

7.3.2 Área

Tabela 2. Estatística descritiva do parâmetro área (mm²) medido nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros pelo teste de t de Student.

	Área (mm ²)					
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	24,13	23,80	22,28	23,22	15,52	15,11
Mediana	24,04	23,77	23,17	22,59	15,70	14,98
DP	3,18	3,54	4,64	3,32	2,59	2,07
EPM	1,01	1,12	1,47	1,05	0,82	0,65
Min	19,80	19,25	15,55	19,11	10,78	11,81
Max	28,14	28,98	27,60	28,45	20,99	18,62
N	10	10	10	10	10	10
	p = 0,66 <i>Student</i>		p = 0,18 <i>Student</i>		p = 0,33 <i>Student</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 2. Médias do parâmetro área (mm²) medido nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.3.3 Tensão Máxima

Tabela 3. Estatística descritiva do parâmetro tensão máxima (MPa) medida nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros feita pelo teste t de *Student*.

	Tensão máxima (MPa)					
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	101,66	97,71	135,89	118,10	109,50	117,49
Mediana	99,02	98,96	138,99	112,70	106,06	117,37
DP	14,52	12,02	10,24	17,56	14,92	18,46
EPM	4,59	3,80	3,24	5,55	4,72	5,84
Min	82,54	79,24	116,88	97,05	89,26	84,97
Max	128,20	116,92	145,79	154,81	130,84	143,80
N	10	10	10	10	10	10
	p = 0,56 <i>Student</i>		p = 0,03 <i>Student</i>		p = 0,33 <i>Student</i>	

FONTE: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 3. Médias do parâmetro tensão máxima (MPa) medido nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.3.4 Deformação Máxima

Tabela 4. Estatística descritiva do parâmetro deformação máxima (%) medida nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros feita pelo teste t de *Student*.

	Deformação máxima (%)					
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	4,78	5,38	5,25	5,74	8,00	7,36
Mediana	4,76	5,29	4,97	5,69	8,34	7,74
DP	0,69	1,43	0,78	0,65	2,10	1,14
EPM	0,22	0,45	0,25	0,21	0,66	0,36
Min	3,33	3,35	4,39	4,88	3,99	5,49
Max	5,86	7,75	6,57	7,12	11,07	8,69
N	10	10	10	10	10	10
	p = 0,16 <i>Student</i>		p = 0,15 <i>Student</i>		p = 0,47 <i>Student</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 4. Médias do parâmetro deformação máxima (%) medido nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.3.5 Módulo de Elasticidade

Tabela 5. Estatística descritiva do parâmetro Módulo de Elasticidade (MPa) medida nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros pelo teste de *Wilcoxon* ou (t de *Student*).

Módulo de Elasticidade (MPa)						
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	3102,61	2746,04	4294,22	3154,45	1827,73	2017,75
Mediana	2380,24	2373,60	4223,89	3737,45	1641,80	2064,09
DP	1320,67	1285,31	813,10	1040,55	499,26	366,19
EPM	417,63	406,45	257,12	329,05	157,88	115,80
Min	1736,61	997,29	2888,46	1369,57	1293,34	1488,87
Max	5022,59	5028,14	5691,18	4080,38	2846,74	2743,66
N	10	10	10	10	10	10
	p = 0,28 <i>Wilcoxon</i>		p = 0,02 <i>Wilcoxon</i>		p = 0,45 <i>Student</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 5. Médias do parâmetro Módulo de Elasticidade (MPa) medido nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.4 GRUPO TORÇÃO

7.4.1 Rigidez

Tabela 6. Estatística descritiva do parâmetro Rigidez (N.mm/grau) medido nos ensaios de torção de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros. O grau de significância estabelecido foi de $p < 0,05$.

Rigidez (N.mm/grau)						
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	409,32	414,16	235,43	221,41	232,73	236,06
Mediana	455,60	430,80	235,35	220,60	257,05	257,10
DP	110,90	119,59	59,28	46,70	65,64	78,66
EPM	35,07	37,82	18,75	14,77	20,76	24,88
Min	268,60	271,40	148,20	151,70	137,20	124,30
Max	554,50	550,70	307,90	283,30	316,80	325,00
N	10	10	10	10	10	10
	p = 0,54 <i>Wilcoxon</i>		p = 0,21 <i>Student</i>		p = 0,63 <i>Student</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 6. Médias do parâmetro Rigidez (N.mm/grau) medido nos ensaios de torção de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.4.2 Torque Máximo

Tabela 7. Estatística descritiva do parâmetro Torque Máximo (N.mm) medido nos ensaios de flexão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros. O grau de significância estabelecido foi $p < 0,05$.

	Torque Máximo (N.mm)					
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	4221,20	4849,50	2584,20	2419,00	2216,80	2571,90
Mediana	3662,50	5454,50	2482,50	2492,00	2065,00	2781,00
DP	1349,64	1175,85	728,05	869,66	664,55	750,23
EPM	426,79	371,84	230,23	275,01	210,15	237,24
Min	2756,00	3261,00	1833,00	796,00	1375,00	1453,00
Max	6193,00	6244,00	3724,00	3738,00	3261,00	3605,00
N	10	10	10	10	10	10
	p = 0,23 <i>Wilcoxon</i>		p = 0,31 <i>Student</i>		p = 0,06 <i>Student</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 7. Médias do parâmetro Torque Máximo (N.mm) medido nos ensaios de torção de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.4.3 Deformação Máxima

Tabela 8. Estatística descritiva do parâmetro Deformação Máxima (grau) medido nos ensaios de torção de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros. O grau de significância estabelecido foi de $p < 0,05$.

Deformação Máxima (grau)						
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	11,80	13,11	11,88	11,35	10,45	12,09
Mediana	12,48	13,21	12,59	11,36	10,45	12,26
DP	2,81	1,02	2,21	2,87	2,44	1,26
EPM	0,89	0,32	0,70	0,91	0,77	0,40
Min	7,05	11,64	7,67	4,37	5,93	9,35
Max	14,96	14,39	14,03	14,35	14,75	13,61
N	10	10	10	10	10	10
	p = 0,13 <i>Student</i>		p = 0,56 <i>Wilcoxon</i>		p = 0,10 <i>Student</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 8. Médias do parâmetro Deformação Máxima (grau) medido nos ensaios de torção de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.4.4 Tensão Máxima

Tabela 9. Estatística descritiva do parâmetro Tensão máxima (MPa) medido nos ensaios de torção de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros. O grau de significância estabelecido foi $p < 0,05$.

	Tensão máxima (MPa)					
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	65,72	72,59	46,84	44,65	57,76	66,89
Mediana	69,00	74,03	47,35	45,69	59,54	66,97
DP	15,67	4,28	9,21	10,67	8,73	9,72
EPM	4,96	1,35	2,91	3,37	2,76	3,07
Min	36,56	65,92	28,63	16,06	37,63	49,29
Max	83,37	78,35	57,95	53,55	66,36	84,50
N	10	10	10	10	10	10
	$p = 0,24$ <i>Student</i>		$p = 0,27$ <i>Wilcoxon</i>		$p = 0,05$ <i>Student</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 9. Médias do parâmetro Tensão Máxima (MPa) medido nos ensaios de torção de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.5 TESTE DE FLEXÃO EM TRÊS APOIOS E MOMENTO DE INÉRCIA

7.5.1 Momento

Tabela 10. Estatística descritiva do parâmetro Momento (N.mm) medido nos ensaios de flexão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros. O grau de significância estabelecido foi $p < 0,05$.

	Momento (N.mm)					
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	6050,70	6169,63	5616,89	5784,83	3500,64	3369,28
Mediana	5900,06	6108,18	5517,42	5863,40	3516,46	3436,73
DP	1212,39	1093,78	1097,04	1225,38	897,12	872,12
EPM	383,39	345,88	346,92	387,50	283,69	275,79
Min	4542,27	4595,13	4234,41	4191,17	2458,26	2031,19
Max	7660,88	7726,95	7160,82	8155,50	4942,27	4640,82
N	10	10	10	10	10	10
	p = 0,58 Student		p = 0,37 Student		p = 0,31 Student	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 10. Médias do parâmetro Momento (N.mm) medido nos ensaios de flexão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.5.2 Tensão à compressão

Tabela 11. Estatística descritiva do parâmetro Tensão à Compressão (MPa) medido nos ensaios de compressão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros. O grau de significância estabelecido foi $p < 0,05$.

Tensão à compressão (MPa)						
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	160,71	125,16	178,94	186,91	106,32	129,45
Mediana	156,10	156,42	173,12	196,79	110,95	156,65
DP	63,61	65,32	56,99	51,94	76,50	71,97
EPM	20,11	20,66	18,02	16,43	24,19	22,76
Min	40,97	30,13	51,56	47,19	19,62	16,70
Max	294,99	202,54	250,79	231,32	183,11	206,58
N	10	10	10	10	10	10
	$p = 0,13$ <i>Wilcoxon</i>		$p = 0,56$ <i>Wilcoxon</i>		$p = 0,85$ <i>Wilcoxon</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 11. Médias do parâmetro Tensão à Compressão (MPa) medido nos ensaios de flexão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.5.3 Tensão à Tração

Tabela 12. Estatística descritiva do parâmetro Tensão à Tração (MPa) medido nos ensaios de flexão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros. O grau de significância estabelecido foi de $p < 0,05$.

Tensão à Tração (MPa)						
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	153,78	129,07	177,38	176,35	115,90	125,48
Mediana	153,40	147,57	187,15	186,74	106,41	151,43
DP	52,13	69,79	54,15	50,20	93,00	69,19
EPM	16,48	22,07	17,12	15,87	29,41	21,88
Min	40,97	30,13	51,56	47,19	19,62	16,70
Max	243,83	229,55	259,74	211,67	287,63	197,45
N	10	10	10	10	10	10
	$p = 0,17$ <i>Student</i>		$p = 0,85$ <i>Wilcoxon</i>		$p = 0,70$ <i>Wilcoxon</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral.

Gráfico 12. Médias do parâmetro Tensão à Tração (MPa) medido nos ensaios de flexão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.5.4 Tensão Média

Tabela 13. Estatística descritiva do parâmetro Tensão Média (MPa) medido nos ensaios de flexão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas. Comparação entre os antímeros. O grau de significância estabelecido foi de $p < 0,05$.

Tensão Média (MPa)						
	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Média	157,25	127,12	178,16	181,63	111,11	127,46
Mediana	155,97	152,99	180,06	191,91	111,98	153,03
DP	57,50	67,32	54,35	50,45	83,37	70,52
EPM	18,18	21,29	17,19	15,95	26,36	22,30
Min	40,97	30,13	51,56	47,19	19,62	16,70
Max	269,41	216,05	253,49	221,33	234,91	202,02
N	10	10	10	10	10	10
	p = 0,10 <i>Student</i>		p = 0,85 <i>Wilcoxon</i>		p = 0,77 <i>Wilcoxon</i>	

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

Legenda: DP= desvio padrão, EPM= Erro padrão da média, Min= mínimo, Max = máximo, N= número amostral, Mpa = MegaPascal.

Gráfico 13. Médias do parâmetro Tensão Média (Mpa) medido nos ensaios de flexão de fêmures, tíbias e úmeros de coelhas.

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.6 CORRELAÇÃO ENTRE DMO E TESTES BIOMECÂNICOS

Para os testes de associação entre os parâmetros avaliados e a densitometria foi utilizado a correlação de Pearson para os dados paramétricos e a correlação de *Spearman* para os dados não paramétricos. Valores de correlação acima de 0,70 foram considerados de forte correlação; entre 0,50 e 0,70, correlação moderada; e abaixo de 0,50 correlação fraca. Valores negativos indicam correlação negativa entre os parâmetros.

7.6.1 Teste de compressão

Tabela 14. Correlações entre densidade mineral óssea e os parâmetros encontrados nos testes de compressão de ossos longos de coelhas por teste de *Spearman*.

Compressão	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Rigidez p-valor	0,5599	0,4956	0,1693	0,8715	0,7885	0,04988
r	0,2121212	0,2447302	0,4711088	-0,05896612	0,09762117	0,6321561
Área p-valor	0,1155	0,03424	0,4937	0,8832	0,1241	0,0001669
r	0,5294928	0,6694249	0,2457412	-0,05354392	0,5192183	0,9194643
Tensão Máxima p-valor	0,9696	0,7617	0,5605	0,5992	0,5748	0,01464
r	0,01389772	0,1102508	-0,2099043	0,1899291	0,2024936	-0,7388324
Deformação Máxima p-valor	0,5074	0,2568	0,01196	0,161	0,4599	0,2581
r	-0,2382696	-0,3963702	-0,7528933	-0,4793483	-0,2646804	0,395415
Módulo de Elasticidade p-valor	0,632	0,7918	0,1886	0,7072	0,9177	0,5567
r	-0,1757576	0,09605254	0,4529713	-0,1393939	0,03768732	0,2119199

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.6.2 Teste de torção

Tabela 15. Correlações entre densidade mineral óssea e os parâmetros encontrados nos testes de torção de ossos longos de coelhas por teste de *Spearman*.

Torção	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Rigidez p-valor	0.2731	0.2324	0.4847	0.6116	0.003663	0.217
r	0.3841535	0.4181818	0.2507383	0.1835964	0.8201338	0.4282059
Torque Máximo p-valor	0.425	0.04403	0.4903	0.3961	0.01535	0.2214
r	0.2848633	0.6606061	0.2476522	0.3021952	0.735424	0.424547
Deformação Máxima p-valor	0.8392	0.874	0.9721	0.3488	0.8914	0.3942
r	-0.07388843	0.05778315	0.01277841	0.3333333	-0.04976517	-0.3033235
Tensão Máxima p-valor	0.6629	0.9767	0.5825	0.632	0.5712	0.2907
r	-0.1579824	0.01065009	-0.1985159	0.1757576	0.2043472	0.3713768

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

7.6.3 Teste de flexão em três apoios

Tabela 16. Correlações entre densidade mineral óssea e os parâmetros encontrados nos testes de flexão em 3 apoios de ossos longos de coelhas por teste de *Spearman*.

Flexão	Fêmur		Tíbia		Úmero	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Momento						
p-valor	0,9141	0,09309	0,03991	0,03005	0,2324	0,4524
r	-0,03932719	0,5588491	0,6547899	0,6813291	0,4154818	-0,2689782
Tensão à compressão						
	0,2929	0,3128	0,2787	0,4274	0,4984	0,01898
r	-0,3698243	-0,3575758	-0,3799975	-0,2848485	0,2431622	-0,7195256
Tensão à tração						
	0,2911	0,5179	0,02392	0,4916	0,6219	0,03376
r	-0,3710929	-0,2325605	-0,701005	0,2484848	0,1784008	-0,6707442
Tensão Média						
p-valor	0,2887	0,4612	0,1007	0,632	0,7126	0,01248
r	-0,3727943	-0,2639234	-0,5484031	-0,1757576	0,1337392	0,7500139

Fonte: MACEDO, A. S. (2020).

8 DISCUSSÃO

Com este projeto obtivemos êxito não apenas em evitar o desperdício de material biológico destinado a descarte e minimizar o sofrimento animal (otimizando os recursos em pesquisa segundo os preceitos éticos dos 3 “Rs”) (VARDIGANS; MALLOY; MEYNELL, 2019), como também pudemos fortalecer vínculos e vias de pesquisa multicêntricas uma vez que contamos com a fundamental virtuosidade e receptibilidade dos docentes, discentes, servidores e técnicos da Universidade Estadual Paulista (campus Jaboticabal) e do Instituto de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, também em conformidade com os mais recentes preceitos em bioética. Todos estes sempre muito dispostos a adequar suas rotinas profissionais às propostas de pesquisas não remuneradas em prol de um bem maior, como neste caso. Além de estabelecer vínculos também com empresas privadas dedicadas a doar seu tempo e recursos para avanços em pesquisa, como o Centro de Excelência Strix (São Paulo), onde foram realizadas as radiografias deste experimento, além da contribuição financeira da Ortotec (Brasília). Essa parceria com empresas privadas – mesmo que sem fins lucrativos – e parcerias com outras instituições públicas, são importantes marcos pois sem estes fomentos esse projeto não teria sido realizado. Neste âmbito, o êxito desta pesquisa transcende os limites físicos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, promovendo a interdisciplinaridade e autonomia didático-científica em ressonância com o segundo artigo do estatuto da Universidade em questão que versa sobre as finalidades da mesma, enaltecendo a formação de “pessoas capacitadas ao exercício da investigação e do magistério em todas as áreas do conhecimento, bem como à qualificação para as atividades profissionais” (SÃO PAULO, 1988).

Neste estudo obtivemos com sucesso os valores de densidade mineral óssea e conteúdo mineral de cada um dos corpos de prova pelo método de absorciometria por raios X de dupla energia (DEXA). Este método não invasivo possui segurança clínica, e grande campo de aplicação em medicina humana, além de ser considerado o padrão ouro para determinação da densidade mineral óssea (DMO) em pessoas. No entanto, sua difusão no panorama da medicina veterinária ainda é limitada (LUCIĆ et al., 2010). Normalmente está mais restrito a estudos experimentais cujos enfoques permeiam acerca do metabolismo ósseo (ZOTTI et al., 2003). Possui algumas vantagens em relação a outras modalidades de

diagnóstico, como custo relativo de manutenção mais baixo, menor exposição à radiação do que as imagens de tomografia computadorizada e/ou ressonância magnética. Ou seja, para os países que têm os scanners prontamente disponíveis. Apesar de sua utilidade, essa técnica avançada de imagem continua sendo um ativo raro na medicina veterinária, bem como na medicina humana dos países em desenvolvimento. Em um estudo recente de uma Faculdade de Ciências Odontológicas da Índia, os autores estabeleceram uma correlação entre os valores da densidade mineral óssea medidos por preditores radiográficos orais da borda inferior da mandíbula avaliados por radiografias simples e DEXA, sugerindo que esses exames sejam utilizados em comunidades que têm pouco ou nenhum acesso a este último (NIDHI; SRIKRISHNA; KUMAR, 2019).

Garantimos que todas as coelhas tivessem suas linhas epifisárias já fechadas, conforme acessado por radiografia digital durante triagem prévia aos testes biomecânicos. Se tivéssemos utilizado os ossos de animais esqueleticamente imaturos, provavelmente teríamos alterações importantes nos resultados de densidade mineral óssea. No animal jovem a cartilagem da placa de crescimento reside na metáfise dos ossos longos e consiste em diferentes camadas de condrócitos incorporadas em uma matriz extracelular complexa feita de colágeno do tipo II e proteoglicanos (LEE et al., 2019).

Embora o DEXA esteja começando a se popularizar como método de triagem de casos de osteoporose em crianças, o crescimento e desenvolvimento ósseo pode levar a resultados conflitantes e mal interpretados com consequências graves. Gafni e Baron (2004) investigaram a ocorrência de osteoporose superdiagnosticada em crianças devido à má interpretação deste exame; Eles levantaram a hipótese de que os médicos que interpretam o DEXA podem não estar cientes das peculiaridades pediátricas quando comparados aos valores ósseos adultos. De fato, eles descobriram que 88% das 34 crianças de quatro a 17 anos diagnosticadas com baixa densidade mineral óssea (DMO) nos Estados Unidos com base em uma varredura DEXA entre 1997 e 2001 tiveram pelo menos um erro na interpretação de suas varreduras de referência, afetando sua precisão e potencialmente levando a erros de diagnóstico.

8.1 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Este projeto teve limitações metodológicas e suas perguntas não atendidas possuem potencial para inspirar pesquisas futuras que venham a elucidar estas incógnitas. Entre elas, citamos:

- Ausência de ensaios cíclicos de fadiga;
- Ausência de análises da microestrutura (histologia, microtomografia) e nanoestrutura (nanoindentação);
- Ausência de testes com diferentes tipos de implantes;

9 CONCLUSÃO

Até hoje, a pesquisa com animais continua sendo a pedra angular no avanço de nossa compreensão do desenvolvimento, prevenção e cura de um vasto arsenal de doenças que afetam animais e pessoas. As principais descobertas científicas, algumas concedidas com prêmios Nobel, só foram possíveis usando modelos animais. É difícil citar qualquer medicamento terapêutico, dispositivo médico ou mesmo procedimento cirúrgico que não possa ser atribuído a pesquisas baseadas em animais. Novas tecnologias estão sendo desenvolvidas constantemente para diminuir a morbidade associada à experimentação animal. Culturas celulares, modelos de computadores, órgãos em chips e muitos outros auxiliares de pesquisa emergentes são tentativas válidas de empregar o conceito dos 3 Rs para reduzir o número de animais utilizados, mas ainda não imitam as vias orgânicas exatas de um ser vivo e ainda há um longo caminho a percorrer antes que a pesquisa médica possa ser isenta de animais. Os modelos animais fornecem conhecimento científico que melhora a vida de pessoas e animais e a exigência de pesquisa básica em diferentes modelos é ininterrupta. A osteoporose é uma condição mundial emergente de importância econômica que cresce em importância à medida que nossas sociedades. O objetivo final desta pesquisa foi estudar as propriedades diafisárias dos ossos longos de coelhas usando testes mecânicos e comparando com os valores da densitometria, objetivo esse atingido através da interdisciplinaridade multicêntrica. Os valores encontrados podem ser anexados à bases de dados internacionais e facilitar a otimização de recursos em pesquisa. A finalização dessa tese transcende a elaboração de um manuscrito escrito e não desisti de concluir de maneira adequada aos padrões normativos que faltaram devido aos percalços pandêmicos e a versão online foi entregue incompleta para garantir o cumprimento dos prazos legais mas a versão completa será destinada a contento para a banca com os novos artigos.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, K. E. H.; EL-NASSER, M. A.; IBRAHIM, I. A.; SEDDIK, A. S. Comparative anatomical and biochemical studies on the main bones of the limbs in rabbit and cat as a medicolegal parameters. **Assiut Veterinary Medical Journal**, v. 26, p. 142–153, 1992.
- AERSSSENS, J.; BOONEN, S.; LOWET, G.; DEQUEKER, J. A. N. Interspecies Differences in Bone Composition, Density, and Quality: Potential Implications for in Vivo Bone Research. **Endocrinology**, v. 139, n. 2, p. 663–670, 1998.
- ALLEN, M. J.; HANKENSON, K. D.; GOODRICH, L.; BOIVIN, G. P.; VON RECHENBERG, B. Ethical use of animal models in musculoskeletal research. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 35, n. 4, p. 740–751, 2017.
- AMMANN, P.; RIZZOLI, R. Bone strength and its determinants. **Osteoporosis International**, v. 14, n. S3, p. 13–18, 2016.
- AN, Y.; BARFIELD, W.; DRAUGHN, R. Basic concepts of mechanical property measurement and bone biomechanics. In: AN, Y.; DRAUGHN, R. (Ed.). **Mechanical testing of bone and the bone-implant interface**. 1st. ed. Boca Raton: CRC Press, 2000. p. 23–40.
- APOLINÁRIO, J. A. F. Algumas provocações sobre pós-humanismo e educação. **Cadernos Cajuína**, v. 4, n. 3, p. 195–210, 2019.
- ATHANASIOU, K. A.; ZHU, C.; LANCTOT, D. R.; AGRAWAL, C. M.; WANG, X. Fundamentals of biomechanics in tissue engineering of bone. **Tissue engineering**, v. 6, n. 4, p. 361–381, 2000.
- AUGAT, P.; MARGEVICIUS, K.; SIMON, J.; WOLF, S.; SUGER, G.; CLAES, L. Local tissue properties in bone healing: influence of size and stability of the osteotomy gap. **Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 16, n. 4, p. 475–481, 1998.
- AUTEFAGE, A. The point of view of the veterinary surgeon: bone and fracture. **Injury**, v. 31

Suppl 3, p. C50–C55, 2000.

AUTEFAGE, A.; PALIERNE, S.; CHARRON, C.; SWIDER, P. Effective mechanical properties of diaphyseal cortical bone in the canine femur. **The Veterinary Journal**, v. 194, n. 2, p. 202–209, 2012.

BAGI, C. M.; BERRYMAN, E.; MOALLI, M. R. Comparative bone anatomy of commonly used laboratory animals: implications for drug discovery. **Comparative Medicine**, v. 61, n. 1, p. 76–85, 2011.

BAOFENG, L.; ZHI, Y.; BEI, C.; GUOLIN, M.; QINGSHUI, Y.; JIAN, L. Characterization of a rabbit osteoporosis model induced by ovariectomy and glucocorticoid. **Acta Orthopaedica**, v. 81, n. 3, p. 396–401, 7 jun. 2010.

BARRE-SINOUSSE, F.; MONTAGUTELLI, X. Animal models are essential to biological research: issues and perspectives. **Future science OA**, v. 1, n. 4, 2015.

BELLÓN, J. M.; PÉREZ-KÖHLER, B.; PASCUAL, G.; PÉREZ-LÓPEZ, P.; RODRÍGUEZ, M. The New Zealand White Rabbit as a Model for Preclinical Studies Addressing Tissue Repair at the Level of the Abdominal Wall. **Tissue Engineering Part C: Methods**, v. 23, n. 12, p. 863–880, 2017.

BENINI, A.; BONAR, S. K. Historical Perspective - Andreas Vesalius (1514-1564). **Spine**, v. 21, n. 11, p. 1388–1393, 1996.

BETTS, D.; MÜLLER, R. Mechanical regulation of bone regeneration: Theories, models, and experiments. **Frontiers in Endocrinology**, v. 5, n. 12, p. 1–14, 2014.

BLAKE, G. M.; FOLGEMAN, I. Role of Dual-Energy X-Ray Absorptiometry in the Diagnosis and Treatment of Osteoporosis. **Journal of Clinical Densitometry**, v. 10, n. 1, p. 102–110, 2010.

BONNICK, S. L.; MILLER, P. D. **Bone densitometry in clinical practice**. 2nd. ed. New Jersey, NY: Humana Press, 2004.

-
- BONUCCI, E. Basic composition and structure of bone. In: AN, Y. H.; DRAUGHN, R. A. (Ed.). **Mechanical testing of bone and the bone-implant interface**. 1st. ed. Boca Raton: CRC Press, 2000. p. 3–21.
- BONUCCI, E.; BALLANTI, P. Osteoporosis—Bone Remodeling and Animal Models. **Toxicologic Pathology**, v. 42, n. 6, p. 957–969, 2014.
- BONUCCI, E.; P BALLANTI. Osteoporosis — Bone Remodeling and Animal Models. **Toxicologic Pathology**, v. 42, n. 6, p. 957–969, 2014.
- BROWN, H.; NADING, A. M. Introduction: Human Animal Health in Medical Anthropology. **Medical Anthropology Quarterly**, v. 33, n. 1, p. 5–23, 2019.
- BRUNER, E. Human paleoneurology and the evolution of the parietal cortex. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 91, n. 3, p. 136–147, 2018.
- BUBENIK, G. A.; BUBENIK, P. G. Palmated antlers of moose may serve as a parabolic reflector of sounds. **European Journal of Wildlife Research**, v. 54, n. 3, p. 533–535, 2008.
- CAREY, J. R.; JUDGE, D. S. **Longevity records: life spans of mammals, birds, amphibians, reptiles, and fish**. 1st. ed. Odense: Odense University Press, 2000.
- CARLSON, B. M. **Human Embriology and Developmental Biology**. 5th. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2014.
- CASTAÑEDA, S.; LARGO, R.; CALVO, E.; RODRÍGUEZ-SALVANÉS, F.; MARCOS, M. E.; DÍAZ-CURIEL, M.; HERRERO-BEAUMONT, G. Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits. **Skeletal Radiology**, v. 35, p. 34–41, 2006.
- CHEON, H.; CHOI, W.; LEE, Y.; LEE, D.; KIM, J.; KANG, J. Assessment of Trabecular Bone Mineral Density Using Quantitative Computed Tomography in Normal Cats. p. 1–7, 2012.
- CLINE, M. G.; WITZEL, A. L.; MOYERS, T. D.; KIRK, C. A. Body composition of lean outdoor intact cats vs lean indoor neutered cats using dual-energy x-ray absorptiometry.

Journal of Feline Medicine and Surgery, v. 21, n. 6, p. 459–464, 2019.

COOPER, D. M. L.; KAWALILAK, C. E.; HARRISON, K.; JOHNSTON, B. D.; JOHNSTON, J. D. Cortical Bone Porosity: What Is It, Why Is It Important, and How Can We Detect It?

Current Osteoporosis Reports, v. 14, n. 5, p. 187–198, 2016.

COSMAN, F.; BEUR, S. J.; LEBOFF, M. S.; LEWIECKI, E. M.; TANNER, B.; RANDALL, S.; LINDSAY, R. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis.

Osteoporosis International, v. 25, n. 10, p. 2359–2381, 2014.

CROSS, I. Music, mind and evolution. **Psychology of Music**, v. 29, n. 1, p. 95–102, 2001.

CRUISE, L. J.; BREWER, N. R. Anatomy. In: MANNING, P.; RINGLER, D.; NEWCOMER, C. (Ed.). **The biology of the laboratory rabbit**. 2nd. ed. New York: Academic Press Inc, 1994. p. 47–61.

DAL-BÓ, I. S.; FERRIGNO, C. R. A. R. A.; PEREIRA, C. A. M.; DAL-BÓ, Í. S.; FERRIGNO, C. R. A. R. A.; FERREIRA, M. P. Estudo biomecânico comparativo da resistência de segmentos ósseos de raios de cães autoclavados ou desvitalizados em nitrogênio líquido.

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 68, n. 3, p. 673–682, 2016.

DANTAS, A. R. C.; MENEZES, F. H.; SERRA, K. S.; BARBOSA, E. D. O.; FERNANDES-FERREIRA, H. First record of *Sylvilagus brasiliensis* (Linnaeus, 1758) (Lagomorpha: Leporidae) in Rio Grande do Norte state, Northeast Brazil. **Check List**, v. 12, n. 2, p. 28–31, 2016.

DENG, C.; CHANG, J.; WU, C. Bioactive scaffolds for osteochondral regeneration. **Journal of Orthopaedic Translation**, p. 1–11, 2018.

DHONT, K.; HODSON, G.; LOUGHNAN, S.; AMIOT, C. E. Rethinking human-animal relations: The critical role of social psychology. **Group Processes and Intergroup Relations**, v. 22, n. 6, p. 769–784, 2019.

DOTY, R. W. Alkmaion's discovery that brain creates mind: a revolution in human knowledge

comparable to that of Copernicus and of Darwin. **Neuroscience**, v. 147, n. 3, p. 561–568, 2007.

DUONG, L. T.; CRAWFORD, R.; SCOTT, K.; WINKELMANN, C. T.; WU, G.; SZCZERBA, P.; GENTILE, M. A. Odanacatib, effects of 16-month treatment and discontinuation of therapy on bone mass, turnover and strength in the ovariectomized rabbit model of osteopenia. **Bone**, v. 93, p. 86–96, 2016.

EGERMANN, M.; GOLDHAHN, J.; SCHNEIDER, E. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. **Osteoporosis International**, v. 16, p. S129–S138, 2005.

ERICSSON, A. C.; CRIM, M. J.; FRANKLIN, C. L. A brief history of animal modeling. **Missouri Medicine**, v. 110, n. 3, p. 201–205, 2013.

EVANS, H. E.; DE LAHUNTA, A. **Miller's anatomy of the dog**. 4th editio ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences, 2013.

FALANGA, V.; IWAMOTO, S.; CHARTIER, M.; YUFIT, T.; BUTMARC, J.; KOUTTAB, N.; SHRAYER, D.; CARSON, P. Autologous Bone Marrow–Derived Cultured Mesenchymal Stem Cells Delivered in a Fibrin Spray Accelerate Healing in Murine and Human Cutaneous Wounds. **Tissue Engineering**, v. 13, n. 6, p. 1299–1312, 2007.

FARAH, R.; MERI, R.; KADIS, D. S.; HUTTON, J.; DEWITT, T.; HOROWITZ-KRAUS, T. Hyperconnectivity during screen-based stories listening is associated with lower narrative comprehension in preschool children exposed to screens vs dialogic reading: An EEG study. **PloS one**, v. 14, n. 11, p. e0225445, 2019.

FICK, J. M.; P. RONKAINEN, A.; MADDEN, R.; SAWATSKY, A.; TIITU, V.; HERZOG, W.; KORHONEN, R. K. Early in situ changes in chondrocyte biomechanical responses due to a partial meniscectomy in the lateral compartment of the mature rabbit knee joint. **Journal of Biomechanics**, v. 49, n. 16, p. 4057–4064, 2016.

FISHER, P. G. Standards of care in the 21st century: the rabbit. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 19, n. 1, p. 22–35, 2010.

FRANCO, N. H. Animal experiments in biomedical research: a historical perspective. **Animals**, v. 3, n. 1, p. 238–273, 2013.

FURUKAWA, T.; UENO, A.; OMORI, Y. Molecular mechanisms underlying selective synapse formation of vertebrate retinal photoreceptor cells. **Cellular and Molecular Life Sciences**, n. e pub, 2019.

GARCIA-FERNÁNDEZ, J.; BENITO-GUTIÉRREZ, È. It's a long way from amphioxus: Descendants of the earliest chordate. **BioEssays**, v. 31, n. 6, p. 665–675, 2009.

GARCIA, S.; RYAN, J.; RICHARDSON, J.; KOTERWAS, B.; KEEBLE, E.; EATWELL, K.; CLEMENTS, D. N. Presentation, treatment and outcome of long-bone fractures in pet rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). **Journal of Small Animal Practice**, v. 61, n. 1, p. 46–50, 2020.

GIANNICO, A. T.; GARCIA, D. A. A.; LIMA, L.; LARA, F. A. de; PONCZEK, C. A. C.; SHAW, G. C.; MONTIANI-FERREIRA, F.; FROES, T. R. Determination of Normal Echocardiographic , Electrocardiographic , and Radiographic Cardiac Parameters in the Conscious New Zealand White Rabbit. **Journal of Exotic Pet Medicine**, 2015.

GIBSON, T. W. G.; MOENS, N. M. M.; RUNCIMAN, R. J.; HOLMBERG, D. L.; MONTEITH, G. M. The biomechanical properties of the feline femur. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 21, n. 4, p. 312–317, 2008.

GOSLING, E. M.; VÁZQUEZ-DIOSDADO, J. A.; HARVEY, N. D. The Status of Pet Rabbit Breeding and Online Sales in the UK: a glimpse into an otherwise elusive industry. **Animals**, v. 8, n. 199, p. 1–20, 2018.

GRIFFIN, M. G.; KIMBLE, R.; HOPFER, W.; PACIFICI, R. Dual-energy X-ray absorptiometry of the rat: accuracy, precision and measurement of bone loss. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 8, p. 795–800, 1993.

GUO, X.; PARK, H.; YOUNG, S.; KRETLOW, J. D.; VAN DEN BEUCKEN, J. J.; BAGGETT, L. S.; TABATA, Y.; KASPER, F. K.; MIKOS, A. G.; JANSSEN, J. A. Repair of

osteocondral defects with biodegradable hydrogel composites encapsulating marrow mesenchymal stem cells in a rabbit model. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 1, p. 39–47, 2010.

GUO, Y.; GUO, J.; BAI, D.; WANG, H.; ZHENG, X.; GUO, W.; TIAN, W. Hemiarthroplasty of the Shoulder Joint Using a Custom-Designed High-Density Nano-Hydroxyapatite/Polyamide Prosthesis With a Polyvinyl Alcohol Hydrogel Humeral Head Surface in Rabbits. **Artificial Organs**, v. 38, n. 7, p. 580–586, 2014.

HARCOURT-BROWN, F.; CHITTY, J. **BSAVA Manual of Rabbit Surgery, Dentistry and Imaging**. 1st. ed. Gloucester: BSAVA, 2014.

HEVESI, M.; CRISPIM, J. F.; PAGGI, C. A.; DUDAKOVIC, A.; VAN GENECHTEN, W.; HEWETT, T.; KAKAR, S.; KRYCH, A. J.; VAN WIJNEN, A. J.; SARIS, D. B. F. A Versatile Protocol for Studying Anterior Cruciate Ligament Reconstruction in a Rabbit Model. **Tissue Engineering Part C: Methods**, v. 25, n. 4, p. 191–196, 2019.

HUBRECHT, R. C. **The Welfare of Animals Used in Research: Practice and Ethics**. West Sussex, UK.: John Wiley & Sons, 2014.

HUI, J. H.; CHAN, S. W.; LI, J.; GOH, J. C. H.; LI, L.; REN, X. F.; LEE, E. H. Intra-articular delivery of chondroitin sulfate for the treatment of joint defects in rabbit model. **Journal of Molecular Histology**, v. 38, n. 5, p. 483–489, 2007.

HUNCKLER, M. D.; CHU, E. D.; BAUMANN, A. P.; CURTIS, T. E.; RAVOSA, M. J.; ALLEN, M. R.; ROEDER, R. K. The fracture toughness of small animal cortical bone measured using arc-shaped tension specimens: Effects of bisphosphonate and deproteinization treatments. **Bone**, v. 105, p. 67–74, 2017.

JANINI, D.; KONKLE, T. A Pokémon-sized window into the human brain. **Nature Human Behaviour**, v. 3, n. 6, p. 552–553, 2019.

JEE, W. S. S. Integrated bone tissue physiology: anatomy and physiology. In: COWIN, S. C. (Ed.). **Bone mechanics handbook**. 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. p. 1–68.

JIANG, X.; CHEN, J.; HUANG, H.; CHEN, Y.; PENG, H. Bone regeneration and mineralisation was promoted during distraction osteogenesis by human periostin gene in rabbit mandibular model. **Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 121, n. 1, p. 12–17, 2020.

JOHNSTON, M. B. Y. What Lies Beneath Sonic Hedgehog, Pikachu, and Science. **Emergency Medicine News**, v. 42, n. 1, p. 8, 2020.

KAWASAKI, K.; BUCHANAN, A. V.; WEISS, K. M. Biomineralization in Humans: Making the Hard Choices in Life. **Annual Review of Genetics**, v. 43, n. 1, p. 119–142, 2009.

KEEBLE, E.; MEREDITH, A.; RICHARDSON, J. **Rabbit Medicine and Surgery: Self-Assessment Color Revie**. 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press, 2016.

KLIPHUIS, S. Humane Endpoints website huge success in Spain and the rest of the world. **Laboratory animals**, v. 51, n. 2, p. 218–219, 2017.

KÖHLER, P.; KREICBERGS, A.; STRÖMBERG, L. Physical properties of autoclaved bone: Torsion test of rabbit diaphyseal bone. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 57, n. 2, p. 141–145, 1986.

LANGLEY-HOBBS, S. J.; HARCOURT-BROWN, N. H. Fracture management. In: HARCOURT-BROWN, F.; CHITTY, J. (Ed.). **BSAVA Manual of Rabbit Surgery, Dentistry and Imaging**. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2013. p. 283–304.

LEMPERT, M. Urinary obstruction due to a prostatic abscess in a young neutered Rabbit. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 29, p. 15–21, 2019.

LI, X.; SHEN, P.; SU, W.; ZHAO, S.; ZHAO, J. Into-Tunnel Repair Versus Onto-Surface Repair for Rotator Cuff Tears in a Rabbit Model. **American Journal of Sports Medicine**, v. 46, n. 7, p. 1711–1719, 2018.

LLEBENBERG, S. P.; LINN, J. M. Seasonal and sexual influences on rabbit atropinesterase. **Laboratory Animals**, v. 14, p. 297–300, 1980.

LOUZADA, M. J. Q.; BELANGERO, W. D.; MARTINS, L. E. B. Avaliação de parâmetros biomecânicos pela densitometria radiográfica. Estudo “in vitro” em osso cortical de tíbias de carneiros. **Brazilian Journal of Biomechanics**, v. 7, n. 12, p. 33–38, 2006.

LUCAS, K.; BEHRENS, B. A.; NOLTE, I.; GALINDO-ZAMORA, V.; BETANCUR, S.; ALMOHALLAMI, A.; BOUGUECHA, A.; MOSTAFA, A.; LERCH, M.; STUKENBORG-COLSMAN, C.; WEFSTAEDT, P. Comparative investigation of bone mineral density using CT and DEXA in a canine femoral model. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 35, n. 12, p. 2667–2672, 2017.

LUCIĆ, H.; VUKOVIĆ, S.; POSAVAC, V.; GOMERČIĆ, M. D.; GOMERČIĆ, T.; GALOV, A.; ŠKRTIĆ, D.; CURKOVIC, S.; GOMERČIĆ, H. Application of dual energy X-ray absorptiometry method for small animals in measuring bone mineral density of the humerus of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Adriatic Sea. **Veterinarski Arhiv**, v. 80, n. 2, p. 299–310, 2010.

MACEDO, A. S.; FEITOSA, C. C.; KAWAMOTO, F. Y. K.; MARINHO, P. V. T.; DAL-BÓ, Í. S.; MONTEIRO, B. F.; PRADO, L.; BREGADIOLI, T.; DIAMANTE, G. A. C.; FERRIGNO, C. R. A. Animal modeling in bone research—Should we follow the White Rabbit? **Animal Models and Experimental Medicine**, v. 2, n. 3, p. 162–168, 2019.

MACEDO, A. S.; MARINHO, P. V. T.; DAL-BÓ, Í. S.; BREGADIOLI, T.; DIAMANTE, G.; FIUZA, B.; DE ZOPPA, A. L. V.; FERRIGNO, C. R. A. Physics behind the implants used for high strain fractures: Literature review. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 55, n. 1, 2018.

MARICIC, M.; CHEN, Z. Bone densitometry. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 20, n. 3, p. 469–488, 2000.

MARKEL, M. D.; SIELMAN, E.; RAPOFF, A. J.; KOHLES, S. S. Mechanical Properties of Long Bones in Dogs. **American journal of veterinary research**, v. 55, n. 8, p. 1178–83, 1

ago. 1994.

MARSELL, R.; EINHORN, T. A. The biology of fracture healing. **Injury**, v. 42, n. 6, p. 551–555, 2011.

MARTIN, R. B.; BURR, D. B.; SHARKEY, N. A.; FYHRIE, D. P. Mechanical Properties of Bone. In: **Skeletal Tissue Mechanics**. 2nd. ed. New York, NY: Springer International Publishing, 2015. p. 355–422.

MASON, D. R.; WOODS, A. Introduction to “Working Across Species”. **History and Philosophy of the Life Sciences**, v. 40, n. 2, p. 1–11, 2018.

MASSIE, A. M.; KAPATKIN, A. S.; GARCIA, T. C.; GUZMAN, D. S. M.; CHOU, P. Y.; STOVER, S. M. Effects of Hole Diameter on Torsional Mechanical Properties of the Rabbit Femur. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 32, n. 1, p. 51–58, 2019.

MAYER, J.; BROWN, S.; MITCHELL, M. A. Survey to investigate owners’ perceptions and experiences of pet rabbit husbandry and health. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 26, n. 2, p. 123–131, 2017.

MCBRIDE, M.; DIVERS, S.; MARTINEZ-JIMENEZ, D.; BARRON, H. W.; BUDSBERG, S.; FOUTZ, T. Comparison of Two Methods of Long Bone Fracture Repair in Rabbits. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 19, n. 2, p. 183–188, 2010.

MCCANN, M. R.; SÉGUIN, C. A. Notochord cells in intervertebral disc development and degeneration. **Journal of Developmental Biology**, v. 4, n. 1, 2016.

MEJIA, C.; MENA, L.; MOGOLLÓN, C.; FIGUEROA-ROMERO, R.; HERNÁNDEZ-CALDERÓN, E.; AGUILAR-FERNÁNDEZ, A.; CHACÓN, J.; MIÑAN-TAPIA, A.; TOVANI-PALONE, M. R.; HERNÁNDEZ-ARRIAGA, G. Compulsive gaming in secondary school students from five Peruvian cities: Usage and addiction to the Pokémon GO game. **Electronic Journal of General Medicine**, v. 16, n. 5, 2019.

-
- MEREDITH, A. General biology and husbandry. In: MEREDITH, A.; LORD, B. (Ed.). **BSAVA Manual of Rabbit Medicine and Surgery**. 2nd. ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2000. p. 1–12.
- MIRANDA, D. L.; PUTMAN, M.; KANDAH, R.; CUBRIA, M.; SUAREZ, S.; NAZARIAN, A.; SNYDER, B. A pediatric animal model to evaluate the effects of disuse on musculoskeletal growth and development. **Journal of Biomechanics**, v. 49, n. 14, p. 3549–3554, 2016.
- MIRZAALI, M. J.; SCHWIEDRZIK, J. J.; THAIWICHAI, S.; BEST, J. P.; MICHLER, J.; ZYSSET, P. K.; WOLFRAM, U. Mechanical properties of cortical bone and their relationships with age, gender, composition and microindentation properties in the elderly. **Bone**, v. 93, p. 196–211, 2016.
- MIZIARA, I. D.; MAGALHÃES, A. T. M.; SANTOS, M. A.; GOMES, E. F.; OLIVEIRA, R. A. Research ethics in animal models. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 78, n. 2, p. 128–131, 2012.
- MUIR, P.; JOHNSON, K. A.; MARKEL, M. D. Area Moment of Inertia for Comparison of Implant Cross-Sectional Geometry and Bending Stiffness. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 8, n. 3, p. 146–152, 1995.
- NAFF, K. A.; CRAIG, S. The Domestic Rabbit, *Oryctolagus Cuniculus*: Origins and History. In: SUCKOW, M. A.; STEVENS, K. A.; WILSON, R. P. (Ed.). **The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents**. 1st. ed. Cambridge: Academic Press Inc., 2012. p. 157–162.
- NGUYEN, H. H.; WONG, P.; STRAUSS, B. J.; JONES, G.; EBELING, P. R.; MILAT, F.; VINCENT, A. Delay in estrogen commencement is associated with lower bone mineral density in Turner syndrome. **Climacteric**, v. 20, n. 5, p. 436–441, 2017.
- NIDHI, N.; SRIKRISHNA, K.; KUMAR, V. Correlation of OPG and DEXA: A Case Control Study. **International Journal of Contemporary Medical Research [IJCMR]**, v. 6, n. 1, p. 25–26, 2019.

NIETZSCHE, F. **Thus Spoke Zarathustra: A Book for All or None**. 10th. ed. [s.l.] Cambridge University Pressd, 2006.

NOBEL FOUNDATION. **Nobel prizes**. Disponível em: <http://nobelprize.org/nobel_prizes>. Acesso em: 1 jan. 2019.

OKI, Y.; DOI, K.; MAKIHARA, Y.; KOBATAKE, R.; KUBO, T.; TSUGA, K. Effects of continual intermittent administration of parathyroid hormone on implant stability in the presence of osteoporosis : an in vivo study using resonance frequency analysis in a rabbit model. **Journal of Applied Oral Science**, v. 25, n. 5, p. 498–505, 2017.

PEARCE, A. I.; RICHARDS, R. G.; MILZ, S.; SCHNEIDER, E.; PEARCE, S. G. Animal models for implant biomaterial research in bone: A review. **European Cells and Materials**, v. 13, p. 1–10, 2007.

PERIC, M.; DUMIC-CULE, I.; GRCEVIC, D.; MATIJASIC, M.; VERBANAC, D.; PAUL, R.; GRGUREVIC, L.; TRKULJA, V.; BAGI, C. M.; VUKICEVIC, S. The rational use of animal models in the evaluation of novel bone regenerative therapies. **Bone**, v. 70, p. 73–86, 2015.

PERREN, S. M. Physical and biological aspects of fractures healing with special reference to internal fixation. **Clinical orthopaedics and related research**, v. 138, p. 175–196, 1979.

PIASSI, L. P. Clássicos do cinema nas aulas de ciências - A física em 2001: uma odisseia no espaço. **Ciência & Educação (Bauru)**, v. 19, n. 3, p. 517–534, 2013.

PRESTON, T.; GLYDE, M.; HOSGOOD, G.; SNOW, L. Morphometric description of the feline radius and ulna generated from computed tomography. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 17, n. 12, p. 991–999, 2015.

PREVRHAL, S.; FUERST, T.; FAN, B.; NJEH, C.; HANS, D.; UFFMANN, M.; SRIVASTAV, S.; GENANT, H. K. International Original Article Quantitative Ultrasound of the Tibia Depends on Both Cortical Density and Thickness. p. 28–34, 2001.

-
- RAHN, B. A. Bone healing: histological and physiological concepts. In: SUMNER-SMITH, G.; FACKELMAN, G. E. (Ed.). **Bone in clinical orthopedics**. 2nd. ed. Stuttgart, Germany: Thieme, 2002. p. 287–300.
- REN, H.; LIANG, D.; SHEN, G.; YAO, Z.; JIANG, X.; TANG, J.; CUI, J.; LIN, S. Effects of combined ovariectomy with dexamethasone on rat lumbar vertebrae. **Menopause**, v. 23, n. 4, p. 441–450, 2016.
- REUTER, J. D. O. N. D.; OVADIA, S.; HOWELL, P.; JASKWICH, D. H. Femoral Fracture Repair and Postoperative Management in New Zealand White Rabbits. p. 49–52, 2002.
- REZNIKOV, N.; CHASE, H.; BEN ZVI, Y.; TARLE, V.; SINGER, M.; BRUMFELD, V.; SHAHAR, R.; WEINER, S. Inter-trabecular angle: A parameter of trabecular bone architecture in the human proximal femur that reveals underlying topological motifs. **Acta Biomaterialia**, v. 44, p. 65–72, 2016.
- ROE, S. C. Biomechanical basis of bone fracture and fracture repair. In: COUGHLAN, A. R., MILLER, A. (Ed.). **BSAVA Manual of small animal fracture repair and management**. 1st. ed. United Kingdom: British Small Animal Veterinary Association, 1998. p. 17–29.
- ROSENTHAL, N.; BROWN, S. The mouse ascending: Perspectives for human-disease models. **Nature Cell Biology**, v. 9, n. 9, p. 993–999, 2007.
- RUIZ, C. M. M. B. **Os paradoxos do imaginário: Ensaio de filosofia**. [s.l.] Unisinos, 2020.
- RYAN, S.; BACON, H.; ENDENBURG, N.; HAZEL, S.; JOUPPI, R.; LEE, N.; SEKSEL, K.; TAKASHIMA, G. WSAVA animal welfare guidelines for veterinary practitioners and veterinary teams. **Journal of Small Animal Practice**, v. 60, n. 5, p. 265–267, 2019.
- RYU, D. J.; BAN, H. Y.; JUNG, E. Y.; SONN, C.; HONG, D. H. Osteo-Compatibility of 3D Titanium Porous Coating Applied by Direct Energy Deposition (DED) for a Cementless Total Knee Arthroplasty Implant : In Vitro and In Vivo Study. 2020.
- SCHATZKER, J. Concepts of fracture stabilization. In: SUMNER-SMITH, G. (Ed.). **Bone in**

clinical orthopedics. 2nd. ed. Stuttgart, Germany: Thieme, 2002. p. 327–348.

SCHINDELER, A.; MILLS, R. J.; BOBYN, J. D.; LITTLE, D. G. Preclinical models for orthopedic research and bone tissue engineering. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 36, n. 3, p. 832–840, 2018.

SEVIL, F.; KARA, M. E. The effects of ovariectomy on bone mineral density, geometrical, and biomechanical characteristics in the rabbit femur. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 23, n. 1, p. 31–36, 2010.

SHARIR, A.; BARAK, M. M.; SHAHAR, R. Whole bone mechanics and mechanical testing. **Veterinary Journal**, v. 177, n. 1, p. 8–17, 2008.

SOHN, J.; COUTO, M. A. Anatomy, Physiology, and Behavior. In: SUCKOW, M. A.; STEVENS, K. A.; WILSON, R. P. (Ed.). **The Laboratory Rabbit, Guinea pig, Hamster and Other Rodents**. 1st. ed. London, UK: Elsevier Inc, 2012. Elsevierp. 194–213.

SURUAGY, A. A. P. da S.; ALVES, A. T. N. N.; SARTORETTO, S. C.; CALASANS-MAIA, J. de A.; GRANJEIRO, J. M.; CALASANS-MAIA, M. D. Physico-chemical and Histomorphometric Evaluation of Zinc-containing Hydroxyapatite in Rabbits Calvaria. **Brazilian Dental Journal**, v. 27, n. 6, p. 717–726, 2016.

TAN, H.; WANG, D.; LEBASCHI, A. H.; HUTCHINSON, I. D.; YING, L.; DENG, X. H.; RODEO, S. A.; WARREN, R. F. Comparison of bone tunnel and cortical surface tendon-to-bone healing in a rabbit model of biceps tenodesis. **Journal of Bone and Joint Surgery - American Volume**, v. 100, n. 6, p. 479–486, 2018.

THIELKE, L. E.; UDELL, M. A. R. The role of oxytocin in relationships between dogs and humans and potential applications for the treatment of separation anxiety in dogs. **Biological Reviews**, v. 92, n. 1, p. 378–388, 2017.

TSAI, H.-Y.; LO, Y.-J.; FAN, K.-H.; LIN, C.-T.; FENG, S.-W.; HUANG, H.-M.; CHANG, Y.-L.; HUANG, Y.-C. Bone Healing Improvements Using Hyaluronic Acid and

Hydroxyapatite/Beta-Tricalcium Phosphate in Combination: An Animal Study. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1–8, 2016.

UNAL, M.; CINGOZ, F.; BAGCIOGLU, C.; SOZER, Y.; AKKUS, O. Interrelationships between electrical, mechanical and hydration properties of cortical bone. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 77, n. July 2017, p. 12–23, 2018.

UWAGIE-ERO, E. A.; ABIAEZUTE, C. N.; NWAEHUJOR, C. O.; NNAJI, T. O.; ODIGIE, E. A.; EKEOLU, O. K.; OCHEJA, O. B. Osteocyte viability and bone density in cadmium chloride-induced osteoporosis ameliorated with *Pilostigma thonningii* stem bark-extracted D-3-O-methy-chiroinositol. **Animal Models and Experimental Medicine**, n. December 2018, p. 1–9, 2019.

VARDIGANS, C.; MALLOY, M.; MEYNELL, L. Breaking barriers to ethical research: An analysis of the effectiveness of nonhuman animal research approval in Canada. **Accountability in Research**, v. 26, n. 8, p. 473–497, 2019.

VELLA, D.; DONNELLY, T. M. Basic anatomy, physiology, and husbandry. In: QUESENBERY, K. E.; CARPENTER, J. W. (Ed.). **Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery**. 3rd. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2012. p. 157–173.

VERGARA-ALERT, J.; VIDAL, E.; BENSAID, A.; SEGALÉS, J. Searching for animal models and potential target species for emerging pathogens: Experience gained from Middle East respiratory syndrome (MERS) coronavirus. **One Health**, v. 3, p. 34–40, 2017.

VERGARA, P.; MORAHAN, G. The development and application of Laboratory Animal Science in China. **Animal Models and Experimental Medicine**, v. 1, n. 4, p. 247–249, 2018.

VOLAIT-ROSSET, L.; PIGNON, C.; MANOU, M.; DONNELLY, T. M. Surgical management of a calcaneus fracture in a pet rabbit. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 29, p. 110–114, 2019.

WANDERMAN, N. R.; MALLET, C.; GIAMBINI, H.; BAO, N.; ZHAO, C.; AN, K. N.;

-
- FREEDMAN, B. A.; NASSR, A. An ovariectomy-induced rabbit osteoporotic model: A new perspective. **Asian Spine Journal**, v. 12, n. 1, p. 12–17, 2018.
- WANG, X.; MABREY, J. D.; AGRAWAL, C. M. An interspecies comparison of bone fracture properties. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v. 8, p. 1–9, 1998.
- WEISBROTH, S.; FLATT, R.; KRAUS, A. **The biology of the laboratory rabbit**. Londres: Academic Press Inc., 2013.
- WHAN, G.; RUNCIMAN, R. J. Determining Effective Centroid Position in Biomechanical Testing : A Technique for Simplifying Whole Bone Analysis. v. 127, n. October 2005, 2016.
- WHITE, A. A.; PANJABI, M. M.; HARDY, R. J. Analysis of mechanical symmetry in rabbit long bones. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 45, n. 1, p. 328–336, 1974.
- WHO SCIENTIFIC GROUP ON PREVENTION, MANAGEMENT OF OSTEOPOROSIS, & W. H. O. **Prevention and management of osteoporosis: report of a WHO scientific group**. Genova: World Health Organization, 2003.
- WOODS, A.; BRESALIER, M.; CASSIDY, A.; DENTINGER, R. M. **Animals and the shaping of modern medicine: One Health and its histories**. 1st ed ed. London: Palgrave Macmillan, 2018.
- WRIGHT, N. C.; LOOKER, A. C.; SAAG, K. G.; CURTIS, J. R.; DELZELL, E. S.; RANDALL, S.; DAWSON-HUGHES, B. The recent prevalence of osteoporosis and low bone mass in the United States based on bone mineral density at the femoral neck or lumbar spine. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 29, n. 11, p. 2520–2526, 2014.
- YANNI, A. E. The laboratory rabbit: An animal model of atherosclerosis research. **Laboratory Animals**, v. 38, n. 3, p. 246–256, 2004.
- ZDERO, R. **Experimental Methods in Orthopaedic Biomechanics**. 1st. ed. London, UK: Academic Press, 2016.
- ZHANG, W.; FENG, C.; YANG, G.; LI, G.; DING, X.; WANG, S.; DOU, Y.; ZHANG, Z.;

CHANG, J.; WU, C.; JIANG, X. 3D-printed scaffolds with synergistic effect of hollow-pipe structure and bioactive ions for vascularized bone regeneration. **Biomaterials**, v. 135, p. 85–95, 2017.

ZOTTI, A.; RIZZI, C.; CHIERICATO, G.; BERNARDIN, D. Accuracy and precision of dual-energy x-ray absorptiometry for ex vivo determination of mineral content in turkey poult bones. v. 44, n. 1, p. 50–52, 2003.

ANEXOS

DEPARTAMENTO DE ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA
Prof. Dr. Tarcísio E.P. Barros Filho
Prof. Dr. Olavo Pires de Camargo
Prof. Dr. Gilberto Luís Camanho

Memo/CC-DOT/146/2017

São Paulo, 27 de outubro de 2017.

Ilmo. Sr.
Prof. Cassio Ricardo Auada Ferrigno
Pesquisador Responsável

Ref: Protocolo de Pesquisa da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP – CEUA/FMVZ nº 1793171215, “Estudo das propriedades biomecânicas dos ossos longos de coelho (*Oryctolagus cuniculus*).”.

Pesquisador Responsável do IOT: César Augusto Martins Pereira

Pesquisadora Executante: Aline Schafrum Macedo

Grau da Pesquisa: Projeto Regular

A Comissão Científica do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo **analisou e aprovou em 27/10/2017**, o protocolo de pesquisa acima mencionado.

Atenciosamente,

Prof. Raphael Martus Marcon
Presidente
Comissão Científica – DOT

CAMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL
Via Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, Km 5 Rural - CEP 14884-900 - Tel. (016)3209-2705 - e-mail: posgrad@fcav.unesp.br

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins, que foram doados os cadáveres de 40 coelhas adultas (*Oryctolagus cuniculus*) para a aluna de Doutorado da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) **Aline Schafrum Macedo**, autorizando sua utilização no projeto de pesquisa intitulado: "*Propriedades biomecânicas de ossos longos de coelhos: correlação com medidas de absorciometria de raios-x de dupla energia*". Estes animais eram remanescentes do projeto de pesquisa do aluno egresso de Mestrado **Juliellton de Souza Barata**, intitulado "*Uso do laser de baixa intensidade como potencializador da cicatrização tecidual em retalhos cutâneos tubulares de padrão subdérmico empregados em coelhos*", aprovado pela CEUA da Unesp Jaboticabal sob o protocolo 7887/2016, realizado entre 01/10/2016 e 20/06/2017, e seriam destinados para descarte de material biológico após a eutanásia.

Coloco-me à disposição para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Atenciosamente,

Bruno Watanabe Minto
PROFESSOR ASSOCIADO
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária
Unesp Jaboticabal

Jaboticabal, 20 de março de 2019

Comissão de Ética no Uso de Animais

Em anexo está o termo de doação, foram 40 cadáveres mas no delineamento experimental inicial não iríamos utilizar todos mas o n de cada grupo mudou e utilizamos 30 animais (10 por grupo, ficamos com apenas 3 grupos). Algumas pequenas mudanças foram feitas na metodologia, e os testes foram realizados no Laboratório de Biomecânica no IOT da HC FMUSP e não na FMVZ, mas o projeto também foi submetido a conselho de ética lá tb e tb foi aprovado (DOT/IOT - 146/2017

06/12/2017 : **APROVADO** - **AQprovado**
(PARECER CEUA)

06/12/2017 : **PENDENTE** - **TERMO DE DOAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO DEVE SER INCLUÍDO**
(PARECER CEUA)

06/12/2017 : **PENDENTE** - **TERMO DE DOAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO DEVE SER INCLUÍDO**
(PARECER CEUA)

06/12/2017 : **PENDENTE** - **TERMO DE DOAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO DEVE SER INCLUÍDO**
(PARECER CEUA)

18/06/2018 - Alteração do cadastro

Alteração do título do trabalho

Gostaria de solicitar a modificação do título do trabalho de Doutorado da Aluna Aline Schafrum Macedo

Título atual: Estudo das propriedades biomecânicas do fêmur de coelho (*Oryctolagus cuniculus*)

Título modificado:

Propriedades biomecânicas de ossos longos de coelhos - correlação com medidas de absorciometria de raios-x de dupla energia

Título em inglês modificado:

Biomechanical properties of rabbit long bones - correlation with dual energy x-ray absorptiometry measurements

04/09/2018 : **APROVADO** - **Solicitação de título aprovada.**

Título atual: Estudo das propriedades biomecânicas do fêmur de coelho (*Oryctolagus cuniculus*)

Título modificado: Propriedades biomecânicas de ossos longos de coelhos - correlação com medidas de absorciometria de raios-x de dupla energia

(PARECER CEUA)

20/09/2018 - Relatório Final

1. Os objetivos propostos foram todos cumpridos?

Resp: sim

Os resultados obtidos propiciaram a criação de novos projetos?

Resp: Foi criado um banco de dados para novas investigações científicas

2. O N amostral proposto inicialmente foi suficiente?

Resp: sim

3. Houve perdas? se sim, quantas?

Resp: não houve

4. Ocorreu algum evento adverso durante a condução do estudo?

Resp: não houve

5. Resultados já apresentados em congresso?

Resp: ainda não

6. Resultados já publicados?

Resp: ainda não

Em anexo está o termo de doação, foram doados inicialmente 40 cadáveres, mas no delineamento experimental inicial não iríamos utilizar todos. Posteriormente o projeto sofreu algumas alterações que culminaram na mudança do título, mas o número de cada grupo mudou e utilizamos 30 animais (10 por grupo, ficamos com apenas 3 grupos). Algumas das pequenas mudanças foram feitas na metodologia, e os testes foram realizados no Laboratório de Biomecânica no IOT da HC FMUSP e não na FMVZ, mas o projeto também foi submetido ao conselho de ética lá tb e tb foi aprovado (DOT/IOT - 146/2017), e lá estão alocados os ossos remanescentes.

12/12/2018 : **PENDENTE** - Quando da inclusão de resumo (e não dissertação, tese ou artigo), o mesmo deve ser assinado pelo pesquisador responsável e executor.

(PARECER CEUA)

22/03/2019 : **PENDENTE** - TERMO DE DOAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO DEVE SER INCLUÍDO

(Liberado pela Secretaria para inserção do Documento correto)

(PARECER CEUA)

22/03/2019 : **PENDENTE** - Quando da inclusão de resumo (e não dissertação, tese ou artigo), o mesmo deve ser assinado pelo pesquisador responsável e executor.

(Liberado pela Secretaria para inclusão do resumo assinado)

(PARECER CEUA)

17/04/2019 : **APROVADO** - Pendência atendida.

(PARECER CEUA)

19/06/2019 : **APROVADO** - resumo assinado apresentado.

(PARECER CEUA)

HISTÓRICO DE SUSPENSÃO