

# Região metafisária da tíbia de coelhos: uma opção para estudos dos substitutos ósseos\*

## Metaphyseal region of the tibia of rabbits: an option for bone substitutes studies

Silvio Henrique de Freitas,\*\* Renata Gebara Sampaio Dória,\*\* Alois Foltran Müller,\*\* Thais Ribeiro Fadel,\*\*  
Fábio de Souza Mendonça,\*\*\* Lázaro Manoel de Camargo,\*\*\*\* Marcelo Diniz dos Santos,\*\*\*\* Carlos Eduardo Ambrósio\*\*

### Resumo

Apresenta-se um modelo experimental de ostectomia de tíbia em coelhos para estudo de biomateriais em processos de reparação óssea. Foi realizada falha segmentar de 6mm de diâmetro na região metafisária medial proximal de tíbia de 72 coelhos as quais foram preenchidas com substituto ósseo e avaliadas clinicamente, por exame radiográfico e por meio de tomografia computadorizada feixe cônico, em diferentes tempos. Conclui-se que a metafise medial proximal de tíbia de coelhos é adequada como modelo para estudos que avaliem o comportamento de enxertos e/ou biomateriais em falhas ósseas.

*Palavras-chave:* Biomaterial, enxerto ósseo, ortopedia, ostectomia.

### Abstract

Is presented an experimental model of tibial ostectomy in rabbits to study biomaterials during bone repair process. Segmental failure of 6 mm diameter was performed in the medial proximal tibial metaphyseal region of 72 rabbits, which were filled with bone substitute and evaluated by clinical exam, X-ray, and cone beam computed tomography at different times. It is concluded that the medial proximal tibial metaphysis region of rabbits is suitable as a model for studies that evaluate the behavior of grafts and/or biomaterials on bone defects.

*Keywords:* Biomaterials, bone grafts, orthopedics, ostectomy.

### Introdução

Os fenômenos que participam da reparação óssea, dada a sua complexidade biológica, são alvo de constante estudo a fim de contribuir com o avanço das pesquisas que envolvem as fraturas, principalmente as com perdas ósseas extensas (Moreira et al., 2014; Kuhl et al., 2017). Após lesão no tecido ósseo ocorre a formação de hematoma seguido de libertação de citocinas e fatores de crescimento. Posteriormente há migração e proliferação de células troncos mesenquimais, com formação de tecido conjuntivo fibrovascular, infiltração de vasos sanguíneos e consequente reabsorção osteoclástica seguida de deposição de tecido ósseo e, por último, a transformação em osso lamelar sob ação de forças mecânicas (Dias et al., 2013; Freitas et al., 2014).

A opção mais adequada para tratar as falhas ósseas é o enxerto autólogo, uma vez que é biologicamente compatível e realmente acelera a reparação óssea (Freitas et al., 2012; Dias et al., 2013; Morato et al., 2017). Outra opção são os biomateriais biológicos, que são os tecidos ósseos obtidos a partir de banco de ossos de animais da mesma espécie (aloimplantes), ou de espécies diferentes (heteroimplantes), que têm sido utilizados

com resultados satisfatórios na reparação de falhas ósseas de coelhos, cães e humanos (Silva et al., 2003; Alievi et al., 2007; Raposo-do-Amaral, 2010; Scorsato et al., 2019). Os defeitos ósseos também podem ser eficientemente preenchidos por biomateriais sintéticos, como cimento de fosfato de cálcio, hidroxiapatita, copolímero laticoglicólico, metilmetacrilato, quitosana, entre outros (Alves et al., 2010; De Marval et al., 2011; Spadeto Jr. et al., 2011; Kuhl et al., 2017; Katello et al., 2017; Rosendo et al., 2020). Além desses, existem também os compósitos que são biomateriais formados pela associação de dois ou mais constituintes diferentes em forma e/ou composição química, que quando combinados apresentam propriedades superiores quando de seu uso isolados (Freitas et al., 2012; Kuhl et al., 2017).

Porém, para que esses substitutos ósseos possam ser utilizados, eles devem ser classificados como biocompatíveis. Para isso, testes tanto *in vitro* quanto *in vivo*, precisam ser realizados para que os mesmos possam ser empregados com segurança em tratamentos ortopédicos, tanto em humanos como em animais (Khan, 2000; Alievi et al., 2007; Turrer e Ferreira, 2008; Freitas et al., 2013).

\*Recebido em 6 de setembro de 2018 e aceito em 31 de agosto de 2020.

\*\*Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

\*\*\*Laboratório de Diagnóstico Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

\*\*\*\*Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Cuiabá.

Autor para correspondência: alois.muller@usp.br.

Vários modelos experimentais descritos na literatura são úteis para o estudo de enxertos e/ou biomateriais. No entanto, algumas restrições tornam os modelos clássicos impróprios para se pesquisar substitutos ósseos (Freitas et al., 2014; Kuhl et al., 2017). O rato e o camundongo possuem a anatomia e a biologia óssea diferentes da do ser humano, e devido ao porte reduzido, apresentam dificuldades na técnica cirúrgica para a realização da ostectomia. Já os primatas e animais domésticos são de manuseio trabalhoso e de custo elevado quando se trabalha com grupos com grandes amostragens (Matos et al., 2001).

Sendo assim, propõe-se com este estudo descrever um modelo experimental para se avaliar o comportamento de biomateriais em metáfise medial proximal da tíbia de coelhos.

## Material e métodos

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UNIC, da Universidade de Cuiabá, sob o número 0307-185, de 29 fevereiro de 2008, Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo, sob o número 0664/10, de 28 de maio de 2010 e pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UNIC, da Universidade de Cuiabá, sob o número 028/2018, de 26 de junho de 2018, de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

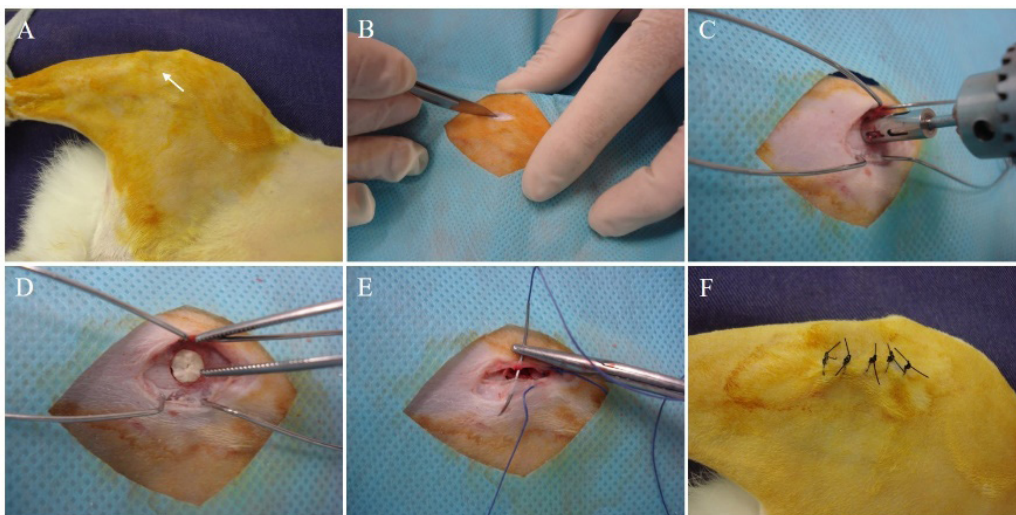
Foram utilizados 72 animais, ao longo dos anos de 2008 a 2017, que participaram dos experimentos de Freitas et al. (2008, 2012, 2013, 2014), Moreira et al. (2014) e Kuhl et al. (2017). Os coelhos eram da raça Nova Zelândia, adultos, pesando de 2 a 3kg, com idades variando de 2 a 3 meses.

O tecido ósseo cortical (TOC) foi coletado de forma asséptica da diáfise da tíbia de canino hígido que veio a óbito por trauma. Em continuidade, os tecidos moles adjacentes, epífises e medula óssea da tíbia foram removidos, as epífises, a medula óssea, e a diáfise coletadas, lavadas com solução salina 0,9% (Solução salina 0,9%, JP Indústria Farmacêutica S/A, Brasil) e acondicionadas em frasco estéril contendo glicerol a 98% (Glicerina, VIC Pharma Indústria e Comércio Ltda, Brasil) em temperatura ambiente e conservadas por período não inferior a 30 dias. Para uso, o TOC foi hidratado em solução salina 0,9% por 10 minutos e particulado

em fragmentos de aproximadamente 2mm, com uso de cislha ortopédica. O tecido ósseo cortical fragmentado (TOCF) foi misturado, na mesma proporção, ao polimetilmetacrilato (Vipi Flash, Vipi Indústria Comércio Exportação e Importação, Brasil) na consistência pastosa e moldada em formato circular com 6mm de diâmetro por 2mm de espessura, resultando no biomaterial que foi acondicionado em papel grau cirúrgico e esterilizado em autoclave a 121C° por 15 minutos (Freitas et al., 2008, 2012, 2013, 2014; Moreira et al., 2014; Kuhl et al., 2017).

Após tricotomia da região metafisária medial das tíbias, os animais foram anestesiados com associação de acepromazina (0,1mg/kg) (Acepran 0,2%, Univet S/A, Brasil) e tiletamina/zolazepam (20mg/kg) (Zoetil 50, Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda, Brasil), via intramuscular, seguido de bloqueio anestésico local infiltrativo, com 0,4ml de lidocaína à 2,0% (Lidovet, Bravet, Brasil) e posicionados em decúbito dorsal sobre uma calha. A seguir, foi realizada a antisepsia com povidona iodo (Riodeine tópic – Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda, Brasil) e/ou clorexidine (Cloroxidina – Vic Pharma – Taquaritinga, SP) e álcool à 70% (Álcool etílico 70% - Vic Pharma, Brasil) e proteção da área cirúrgica com panos de campo. Na sequência, realizou-se uma incisão na pele de aproximadamente 3,0cm com o auxílio de bisturi, divulsionando o tecido subcutâneo com tesoura Metzenbaum, incisão longitudinal sobre o perióstio e exposição do córtex metafisário medial proximal de tíbia, com uso de afastadores. Em seguida, posicionou-se a broca trefina (Broca trefina – Dental Aragão, Brasil) sobre a córtex da tíbia dissecada e, com movimentos giratórios realizados com furadeira elétrica de baixa rotação autoclavável (Furadeira elétrica autoclavável – Cãomédica, Brasil), realizou-se uma falha óssea, pela remoção de um segmento cortico-endosteal de 6 mm de diâmetro (Figuras 1 A, B e C) (Freitas et al., 2014; Li et al., 2015).

O defeito ósseo previamente criado na região metafisária medial proximal da tíbia foi preenchido com o biomaterial preparado e anteriormente descrito. O perióstio e o subcutâneo foram suturados com fio sintético absorvível 3-0 (Vicryl – Ethicon/Johnson & Johnson Company, Brasil), utilizando padrão de sutura simples contínua e a pele suturada com fio sintético não absorvível 3-0 em padrão simples separado (Nylon – Brasmédica, Brasil) (Figura 1 D, E e F).



**Figura 1:** Criação de falha óssea e implantação de biomaterial em tíbia de coelho. Metáfise medial proximal: local de incisão (A – seta branca); incisão cutânea com uso de bisturi (B); criação de falha óssea com uso de broca trefina (C); implantação de biomaterial em falha óssea (D); aposição do tecido subcutâneo e pele (E, F).

No pós-operatório, cada animal recebeu uma aplicação de enrofloxacin (Flotril 2,5%®, Intervet – Schering-Plough, Brasil) (10mg/kg), por via subcutânea, a cada 24h, por cinco dias; uma aplicação de meloxicam (Maxicam 0,2%, Ourofino, Brasil) (0,2mg/kg), por via subcutânea, a cada 24h, por três dias; cloridrato de tramadol (Cloridrato de tramadol®, Hipolabor, Brasil) (4mg/kg), por via subcutânea, a cada 12h, por três dias e curativo local com rifamicina (Rifocina spray, Laboratório Farmacêutico do Estado do Pernambuco, Brasil), a cada 24h, até a retirada do dos pontos. Em seguida os animais permaneceram alojados individualmente em gaiolas e alimentados com ração comercial e água *ad libitum*. Para proteger as feridas cirúrgicas até a retirada dos pontos, os coelhos foram mantidos com colar protetor ao redor do pescoço.

As tíbias implantadas foram radiograficamente avaliadas com aparelhos radiográfico (Altus ST da SAWAE de 630 mA e 125 kV) e de tomografia computadorizada de feixe cônico - Cone beam (60KV - 2,5mA - 10,8s, modelo KODAK 9000 3D, Carestream Health, França), no pós-operatório imediato e aos 30, 60 e 90 dias do pós-operatório, visando acompanhar o comportamento do biomaterial no leito receptor. Para o procedimento de raio-x os animais foram contidos apenas manualmente, não sendo necessário, portanto, a sedação. Já durante a tomografia, os animais foram mantidos anestesiados.

Após cada tempo estipulado: 30, 60 e 90 dias pós-operatório, os animais foram eutanasiados com o uso do protocolo anestésico previamente descrito, seguido de parada cardiorrespiratória com o uso de propofol (Propovan®, Cristália, Brasil) e cloreto de potássio a 10% (Cloreto de potássio 10%, Alexistar, Brasil), por via intravenosa pela veia auricular.

## Resultados e discussão

A escolha do coelho como modelo para estudo do comportamento de substitutos ósseos foi feita baseada no fato desta espécie animal possuir o sistema haversiano ósseo semelhante ao do homem, apresentando, portanto, reparação óssea pós fratura equivalente. Além disso, o porte mediano dos coelhos torna a realização da técnica da osteotomia na região metafisária medial da tíbia um procedimento exequível, associada à praticidade no manuseio e à facilidade de acondicionamento em gaiola, garantindo o sucesso das técnicas cirúrgicas, incentivando a repetição da metodologia e ampliando a amostragem dos grupos experimentais (Matos et al., 2001; Freitas et al., 2008; Kuhl et al., 2017; Morato et al., 2017).

A metáfise medial proximal da tíbia de coelhos foi escolhida para ser o leito receptor do biomaterial pois é de fácil acesso anatômico e possui delgada camada de tecido mole, tornando o procedimento cirúrgico exequível e rápido (Freitas et al., 2013; Moreira et al., 2014; Kuhl et al., 2017). Associada à praticidade, essa região também é sede de reabsorção óssea e de propriedades osteogênicas da medula óssea, sendo, inclusive, metabolicamente, a região óssea mais ativa. Essas características são desejáveis e contribuem para uma resposta fisiológica mais rápida e eficiente entre o enxerto e/

ou biomaterial (Turrer e Ferreira, 2008; Freitas et al., 2013, Li et al., 2015).

Durante a perfuração da falha óssea da metáfise medial proximal da tíbia, a extremidade da broca trefina tem que estar paralela à cortical e sobre leve pressão, para que, durante a rotação exercida pela furadeira, os dentes da broca cortem apenas a cortical medial. Logo, a pressão exercida na furadeira pela mão do cirurgião durante a criação a falha tem que ser controlada, para prevenir danos à cortical lateral e área medular. Após o corte, o fragmento ósseo da cortical fica retido no copo da broca, o que facilita a sua remoção (Freitas et al., 2012; Moreira et al., 2014; Kuhl et al., 2017).

Embora a região metafisária medial proximal da tíbia seja a de eleição para a criação de defeitos ósseos e estudo do comportamento de biomateriais, cuidados especiais devem ser tomados para que a técnica cirúrgica não interfira nos resultados dos estudos, se mal emprega. Sendo assim, para a criação do defeito ósseo, a cortical lateral da tíbia não deve ser perfurada pelos dentes da broca trefina (Freitas et al., 2012; Kuhl et al., 2017). Isso pode ocorrer porque o canal medula da tíbia proximal tem o formato triangular, sendo mais estreito na sua porção cranial (crista da tíbia). Logo, durante a perfuração, a broca trefina tem que ser posicionada num ponto médio da metáfise medial da tíbia (Figura 2), para evitar danos à cortical lateral.



**Figura 2:** Falha óssea na região metafisária proximal medial da tíbia de coelho criada com broca trefina. Note que mesmo após remoção de segmento de 6mm de diâmetro, a cortical remanescente é considerável e encontra-se preservada (asteriscos).

Da mesma forma, é preciso que o defeito ósseo seja feito com precisão e tenha o mesmo tamanho do substituto ósseo, para que o enxerto e/ou biomaterial se acomode perfeitamente na falha óssea e permaneça no leito receptor durante o período de experimentação (Freitas et al., 2014; Moreira et al., 2014; Kuhl et al., 2017). Para isso, a utilização da broca trefina é recomendada, já que a confecção de falhas ósseas grandes,



com o uso de brocas cirúrgicas, podem causar irregularidades às bordas do defeito ósseo, além de fissuras e/ou fraturas da cortical pela pressão exercida pelos cortes da broca (Freitas et al., 2014). Com este estudo ficou demonstrado que falhas ósseas de 6mm de diâmetro na tíbia de coelhos de 2 a 3 Kg podem ser realizadas com segurança, já que no período pós-operatório não foram observadas complicações como fratura e ou fissuras no foco do defeito ósseo, de forma a observar o apoio do membro operado de todos os animais em estudo.

Vários são os materiais disponíveis que podem ser utilizados para reparar falhas ósseas, ficando a decisão a critério do pesquisador (Silva e Mazzoneto, 2006; Freitas et al., 2014). Os enxertos e/ou biomateriais utilizados em experimentos podem ter características físicas como blocos, que preenche por completo o defeito ósseo, na forma de fragmentos menores ou mesmo em pó, podendo ser empregados de forma isolada ou pela combinação destes com plasma e/ou sangue (Freitas et al., 2008; Calasans-Maia, 2009; Oliveira et al., 2012; Moreira et al., 2014).

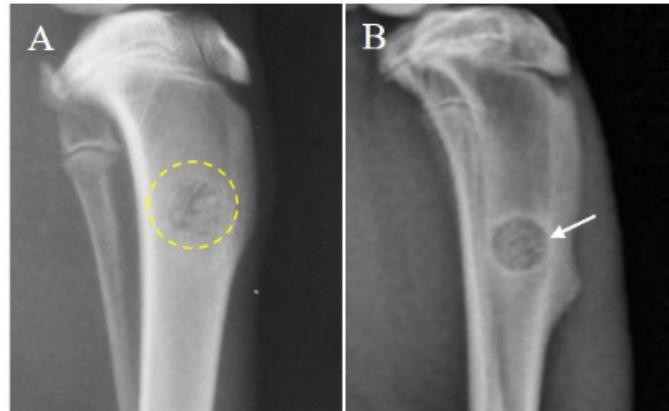
O emprego da técnica radiológica permite acompanhar o comportamento dos substitutos ósseos no leito receptor de tíbias de coelhos, configurando-se como um método confiável e eficiente (Silva et al., 2003; Freitas et al., 2012; Rocha et al., 2011; Kuhl et al., 2017). Por meio de avaliações radiográficas sequenciais, em diferentes tempos, é possível acompanhar as reações ósseas pela observação de áreas radioluscentes (polimetilmetacrilato) e radiopacas (TOC) (Figura 3).

Da mesma forma, exames tomográficos estão sendo amplamente utilizados para avaliar tecido ósseo mineralizado e acompanhar remodelações ósseas, já que esta técnica permite a reprodução imagens tridimensionais (3D) dos tecidos com mínima distorção e, também, avaliação detalhada por meio de cortes sequenciais em planos sagital (Figura 4A) e axial (Figura 4B) (Silveira e Wassal, 2009; Iwaki et al., 2011; Freitas et al., 2012, 2014). Por ser de alto valor diagnóstico e pela facilidade do posicionamento da região proximal medial de tíbia de coelho no aparelho de tomografia computadorizada, atualmente recomenda-se a utilização desta técnica, com os animais anestesiados, para estudar o comportamento dos substitutos ósseos em falhas ósseas (Freitas et al., 2014).

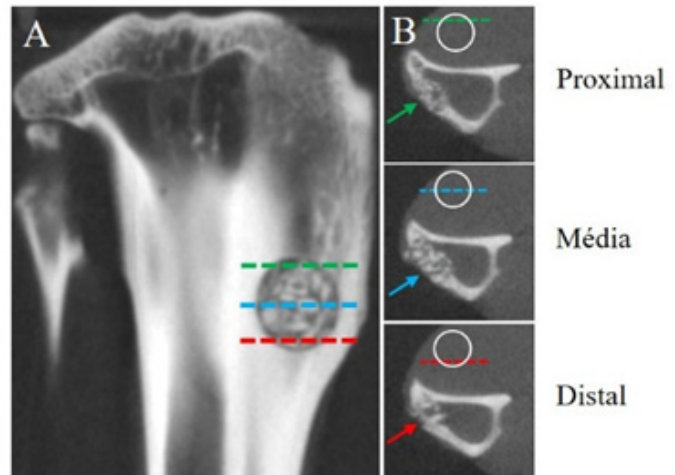
Avaliações tomográficas de feixe cônico, ao corte axial, em tíbias dos coelhos no pós-operatório imediato (Figura 4A) e aos 30, 60 (Figuras 4B) e 90 dias permitiram confirmar presença de biomateriais em leitos e avaliar a diferença de densidades de seus constituintes, definidas por áreas radioluscentes (polimetilmetacrilato) e áreas radiopacas (TOT). Além disso, também se notou maior radiopacidade nas interfaces biomaterial-leito receptor dos animais dos grupos G60 e G90, caracterizada pela incorporação, que de acordo com Freitas et al. (2013) e Moreira et al. (2014), se deve às propriedades osteoindutoras e condutoras presentes no biomaterial.

## Agradecimentos

Universidade de Cuiabá - UNIC, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - FZEA/USP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso – FAPEMAT (Edital nº. 003/2010) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo nº 2015/25723-0).



**Figura 3:** Imagem radiográfica lateromedial da metáfise de tíbia de coelho no pós-operatório imediato (A) e aos 60 dias (B). Notar biomateriais com áreas radioluscentes (polimetilmetacrilato) e radiopaca (TOC), em leito receptor (círculo amarelo pontilhado) e com área circular radiopaca na sua interface (seta branca) (50mA, 0,04s e 40KV).



**Figure 4:** Imagem tomográfica de feixe cônico da região proximal da tíbia de coelho. Pós-operatório imediato (A): biomaterial posicionado no leito receptor com áreas radioluscente (polimetilmetacrilato) e radiopaca (TOC), corte sagital: 0,8mm de espessura e aos 60 dias (B): biomaterial posicionado no leito receptor com áreas radioluscente (polimetilmetacrilato) e radiopaca (TOC), regiões: proximal do - seta e linha tracejada verde, média - seta e linha tracejada azul e distal - seta e linha tracejada vermelha, cortes axiais: 0,076mm de espessura e intervalo de 1,1mm.

## Conclusões

A região da metáfise medial proximal de tíbia de coelhos, nas condições que foram realizados os experimentos, mostrou-se adequada para estudos que avaliam o comportamento de biomateriais.

## Referências

- ALIEVI, M.M.; SCHOSSLER, J.E.W.; GUIMARAES, L.D. OLIVEIRA, A.N.C.; TRAESLEL, C.K.; FERREIRA, P.A. Implante ósseo cortical alógeno conservado em mel na reconstrução de falha óssea diafisária em fêmur de cães: avaliação clínica e radiográfica. *Ciência Rural*, v.37, p.450-457, 2007.
- ALVES, E.G.L.; REZENDE, C.M.F.; OLIVEIRA, H.P.; BORGES, N.F.; MANTOVANI P.F.; ROSADO, I.R. Emprego experimental da placa de compósito poli-hidroxitirado/hidroxiapatita na fixação femoral em gatos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, p.1128-1134, 2010.
- CALASANS-MAIA, M.D.; ASCOLI, F.O.; NOVELLINO, A.T.N.A.; ROSSI, A.M.; GRANJEIRO, J.M. Avaliação histológica comparativa de reparo ósseo em tibia de coelho tratada com xenoenxertos. *Acta ortopédica Brasileira*, v.17, n.6, p.340-343, 2009.
- CATELLO, J.C.; DÓRIA, RENATA G.S.; FANTINATO NETO, P.; CAMARGO, LÁZARO M.; SHIMANO, A.C.; YAUMACHI, K.C.I.; AMBROSIO, C.E.; FREITAS, S.H. Estudo comparativo da resistência mecânica da força de compressão entre biomateriais naturais, sintéticos e mistos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.37, p.91 - 96, 2017.
- DE MARVAL, C.A.; ALVES, G.E.S.; LAS CASAS, E.B.; COSTA, C.G.; SAFFAR, J.M.E.; LAGO, L.A.; CARVALHO, W.T.V.; LEAL, B.B.; FALEIROS, R.R. Análise biomecânica ex vivo de um modelo de haste intramedular de polipropileno para osteossíntese em úmeros de bezerras. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, p.273-278, 2011.
- DIAS, M.I.R.; SOUSA, C.M.P.; CARVALHO, M.P.C.; LEMPEK M.R.; VIEGAS C.A.A.; AZEVEDO J.M.T. Enxertos e substitutos ósseos em cirurgia ortopédica reconstrutiva nos animais de companhia: um breve revisão. *Revista Brasileira de Medicina veterinária*, v.35, n.4, p.339-350, 2013.
- FREITAS S.H.; DÓRIA R.G.D.; MENDONÇA F.S.; CAMARGO L.M.; PRESSER, C.I.; SANTOS, M.D.; SHIMANO, A.C., AMBRÓSIO, C.E. Avaliação morfológica e por imagem radiográfica da matriz óssea mineralizada heteróloga fragmentada e metilmetacrilato, preservados em glicerol para reparação de falhas ósseas em tíbias de coelhos *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.33, n.6, p.765-770, 2013.
- FREITAS S.H.; DÓRIA R.G.S.; MENDONÇA F.S.; SANTOS M.D.; MOREIRA R.; SIMÕES R.S.; CAMARGO L.M.; MARQUES A.T.C.; SIMÕES M.J. Tomografia computadorizada da matriz óssea mineralizada heteróloga fragmentada e metilmetacrilato na reparação de falhas ósseas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.64, p.1547-1554, 2012.
- FREITAS, S.H.; DÓRIA, R.G.D.; MENDONÇA, F.S.; EVÊNCIO NETO, J.; CAMARGO, L.M. Aspecto radiológico de heteroenxerto ósseo cortical fragmentado na reparação de falhas ósseas em coelhos. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.15, n.3, p.107-110, 2008.
- FREITAS, S.H.; DÓRIA, R.G.S.; MENDONÇA, F.S.; SANTOS, M.D.; ENGRÁCIA FILHO, J.R.; VIDANE, A.S.; MARQUES, A.T.C.; AMBRÓSIO, C.E. Tomographic imaging of fragmented cortical bone heteroimplant and methylmethacrylate in segmental bone defect of rabbit tibia. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.29, n.12, p.794-800, 2014.
- IWAKI, L.C.V.; IWAKI FILHO, L.; BARBOSA, M.A.L.; SILVA, J.B.L.; TAKESHITA, W.M. Avaliação da densidade óssea e da resistência à fratura entre enxertos alógenos com fosfato de cálcio bifásico e tecido ósseo em tíbias de coelhos. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, v.11, n.4, p.511-17, 2011.
- KHAN, S. N. Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthopedic Clinics*, v.31, p.389-98, 2000.
- KUHL, G.S.; RIGO, E.C.S.; VERCIK, L.C.O.; DÓRIA, R.G.S.; SANTOS, M.D.; HAGE, M.C.F.N.S.; AMBRÓSIO, C.E. AMBROSIO; FREITAS, S.H. Aspecto morfológico da interface entre o compósito, constituído de quitosana e polimetilmetacrilato, e a falha óssea de tibia de coelhos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.37, n.12, p.1491-1498, 2017.
- LI, Y.; CHEN, S.K.; LI, L.; QIN, L.; WANG, X.L.; LAI, Y.X. Bone defect animal models for testing efficacy of bone substitute biomaterials. *Journal of Orthopaedic Translation*, v.3, p.95-104, 2015.
- MATOS, M.A.; GONÇALVES, R.R.; ARAÚJO, F.P. Modelo experimental de osteotomia em coelhos imaturos. *Acta Ortopédica Brasileira*, v.9, n.4, p.21-26, 2001.
- MORATO, G.O., ROCHA, A.G., CHUNG, D.C., MORAES, P.C., PADILHA FILHO, J.G. Enxertos ósseos em medicina veterinária, *Investigação*, v.16, n.1, p.1-5, 2017.
- MOREIRA, R.; DÓRIA, R.G.S.; CAMARGO, L.M.; SANTOS, M.D.; MINTO, B.W.; DE NARDI, A.B.; AMBRÓSIO, C.E.; FREITAS, S.H. Aspecto radiológico e macroscópico de matriz óssea mineralizada heteróloga e polimetilmetacrilato autoclavado em falha óssea de tibia de coelhos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.34, n.2, p.173-78, 2014.
- OLIVEIRA, D.M.M.C.; LEME JUNIOR, P.T.O.; CASTRO, J.L.C.; SCHOSSLER, J.E. Plasma rico em plaquetas (PRP) na reparação osteo-articular em pequenos animais – revisão. *Medvop: Revista Científica de Medicina Veterinária*, v.10, n.32, p.62-66, 2012.
- RAPOSO-DO-AMARAL, C. A. A.; RAPOSO-DO-AMARAL, C. E.; ROLAND, F. G.; SILVA, J.V.L.; PASCHOAL, G.H.L.; SILVA, A.M.; CARONE, D.R.; MENON, D.N.; SILVA, M.P.A.; BENTO, D.F.; ALMEIDA, F.L.; BUZZO, C.L. Implantes pré-fabricados customizados nas grandes perdas ósseas do esqueleto craniofacial. *Revista Brasileiro Cirurgia Craniomaxilofacial*, v.3, p.175-179, 2010.
- ROCHA, F.S.; RAMOS, L.M.A.; BATISTA, J.D.; ZANETTA-BARBOSA, D.; DECHICHI, P. Enxerto bovino orgânico associado ao PRP em calvária de coelhos. *Arquivos Internacionais de Otorrinolaringologia*, v.15, n.2, p. 208-213, 2011.
- ROSENDO, R.A.; ANDRADE, A.A.; FIGUEIREDO, A.B.M.; TAVARES, A.H.; CASTRO, D.L.; SIQUEIRA, R.R.; SANTOS, A.; MEDEIROS, M.F.; PENHA, E.S.; MEDEIROS, L.A.D.M. Estruturas de quitosana utilizadas para regeneração óssea in vivo: uma revisão da literatura. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, v.9, n.7, 2020 e891974538. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4538>. Disponível em: Acesso em 24 ago. 2020.

SCORSATO, P.S.; RAHAL, S.C.; T.L. TEIXEIRA, T.L.; SCORSATO, M.F. Tratamento de estenose pélvica em gato com enxerto heterólogo e colectomia subtotal. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.47, n.356, p.1-5, 2019.

SILVA, A. M.; DEL CARLO, R. J.; VILORIA, M. I. V.; SILVA, A.S.; FILGUEIRAS, R.R. Matriz óssea homóloga desmineralizada na preparação de falhas ósseas segmentares produzidas no rádio de coelhos. *Ciência Rural*, v.33, p.539-545, 2003.

SILVEIRA, A. C. G.; WASSALL, T. Análise da área doadora de enxerto mandibular por meio de tomografia computadorizada do feixe cônico para avaliação da remodelação óssea. *Revista Gaucha de Odontologia*, v.57, p.61-65, 2009.

SPADETO JR, O; RODRIGUES, L. B.; CARVALHO, W. T. V.; MOREIRA, D.O.; DE MARVAL, C.A.; COSTA, C.G.; ALVES, G.E.S.; LAS CASAS, E.B.; FALEIROS, R.R. Sistemas osso-implante ex vivo utilizando haste intramedular polimérica para imobilização de fraturas femorais em bovinos jovens, *Ciência Rural*, v.41, p.301-06, 2011.

TURRER, C.L.; FERREIRA, F.P.M. Biomateriais em cirurgia craniomaxilofacial: princípios básicos e aplicações: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*, v.23, p.234-239, 2008.