

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS

**Ultrassonografia Power Doppler no acompanhamento da cicatrização óssea de falha
induzida em III metacarpiano de equinos**

Flávia Umpierre Bueno

PORTO ALEGRE

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS

**Ultrassonografia Power Doppler no acompanhamento da cicatrização óssea de falha
induzida em III metacarpiano de equinos**

Autor: Flávia Umpierre Bueno

Tese apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Doutor em
Medicina Animal: Equinos na área de
Cirurgia Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Marcelo
Meller Alievi

PORTO ALEGRE

2019

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior de Nível Superior – Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001

CIP - Catalogação na Publicação

Bueno, Flávia Umpierre
Ultrassonografia Power Doppler no acompanhamento da cicatrização óssea de falha induzida em III metacarpiano de equinos / Flávia Umpierre Bueno. -- 2019.
60 f.
Orientador: Marcelo Meller Alievi.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. calo ósseo. 2. cicatrização. 3. ultrassonografia. 4. Power Doppler. 5. cavalos. I. Alievi, Marcelo Meller, orient. II. Título.

Autor: Flávia Umpierre Bueno

Título: Ultrassonografia Power Doppler no acompanhamento da cicatrização óssea de falha induzida em III metacarpiano de equinos.

Aprovada em junho 2019.

APROVADO POR:

Prof. Dr. Marcelo Meller Alievi
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. André Luiz de Araújo Rocha
Membro da Banca

Prof. Dr. Carlos Afonso de Castro Beck
Membro da Banca

Dra. Aline Silva Gouvea
Membro da Banca

DEDICATÓRIA

A minha filha,
Eduarda Bueno Araújo

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marcelo Meller Alievi que aceitou me orientar.

Aos colegas veterinários Daiene, Luciano, Fábio e Fabíola pela ajuda na realização do experimento.

As residentes: Maíra, Kennya e Bruna, por me auxiliarem nas ecografias e raios-x e me darem suporte nos exames no período de pós-parto.

Aos funcionários do bloco Maysa e Émerson.

Ao meu amor, Sady Araújo que me ajudou na formatação do trabalho e sempre me apoiou nesta jornada.

Ao HCV pela infraestrutura cedida.

A EPTC por fornecerem os cavalos para esse projeto.

A UFRGS onde pude completar a graduação, o mestrado e agora o doutorado, tenho muito orgulho de fazer parte da família HCV como servidora. Que ela continue sendo sempre uma instituição pública, gratuita e de qualidade.

“A lei da mente é implacável.
O que você pensa você cria;
O que você sente você atrai;
O que você acredita, torna-se realidade.”

Buda

RESUMO

As fraturas mais comuns em equinos em treinamento são as fraturas de metacarpo. Além da radiologia, existem outras técnicas de diagnóstico por imagem como ultrassom modo B e Power Doppler que vem sendo utilizados na medicina humana e veterinária, tanto em pesquisa quanto na rotina clínica para ajudar no diagnóstico e avaliar melhor a consolidação óssea. No entanto, ainda não se têm definido os padrões de regeneração óssea através da ultrassonografia em medicina equina. Esse trabalho teve por objetivo comparar a técnica do ultrassom Power Doppler com a radiografia e ultrassonografia modo B na análise da formação do calo ósseo; definindo se a espécie equina apresenta um padrão tempo dependente de desenvolvimento da neovascularização de lesões ósseas não complicadas e avaliar o uso da fosfatase alcalina sérica como marcador da formação óssea equina. Para isso foi realizada uma ostectomia circular unicortical de 14 mm de diâmetro no III metacarpiano esquerdo de quatro cavalos machos castrados. A região foi submetida a avaliações radiográficas e ultrassonográficas (modo B e Power Doppler) no dia da cirurgia (dia 0) e nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 60, 90, 120, 150, 180 dias de pós-operatório. As imagens foram gravadas e avaliadas por três avaliadores especialistas da área de diagnóstico por imagem utilizando tabelas com escores de cicatrização e neovascularização. A presença de neovascularização na falha óssea foi observada primeiramente, no sétimo dia de pós-operatório assim como os primeiros sinais de cicatrização óssea através do ultrassom modo B. Já na radiologia, os sinais iniciais de consolidação óssea só foram vistos no 14º dia de pós-cirúrgico. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na dosagem da FA sérica ao longo do tempo neste experimento. Os resultados demonstraram que o uso da ultrassonografia modo B e Power Doppler permitem avaliar mais precocemente o processo de regeneração óssea de lesões ósseas circulares do que com a radiologia.

Palavras-Chave: calo ósseo, cicatrização, ultrassonografia, Power Doppler, cavalos.

ABSTRACT

The most common fractures in training horses are metacarpal fractures. In addition to radiology, there are other diagnostic imaging techniques such as B-mode and Power Doppler ultrasound that are being used in human and veterinary medicine, both in research and clinical routine to aid in diagnosis and to better evaluate bone healing. However, bone regeneration patterns have not yet been defined through ultrasonography in equine medicine. The aim of this study was to compare the Power Doppler ultrasound technique with radiography and B mode ultrasonography in the analysis of bone callus formation; defining whether the equine species presents a time-dependent pattern of development of neovascularization of uncomplicated bone lesions and evaluate the use of serum alkaline phosphatase as a marker of equine bone formation. A unicortical circular osteotomy of 14 mm diameter was performed in the left metacarpal III of four castrated male horses. The region was submitted to radiographic and ultrasonographic evaluations (mode B and Power Doppler) on the day of surgery (day 0) and days 7, 14, 21, 28, 35, 60, 90, 120, 150, 180 days post- operative. The images were recorded and evaluated by three expert evaluators in the area of diagnostic imaging using tables with healing scores and neovascularization. The presence of neovascularization in bone failure was observed first, on the seventh postoperative day, as well as the first signs of bone healing using the B-mode ultrasound. On radiology, the initial signs of bone healing were only seen on the 14th postoperative day -surgical. No statistically significant difference was found in serum AF over time in this experiment. The results demonstrated that the use of B mode and Power Doppler ultrasonography allows a more early evaluation of the bone regeneration process of circular bone lesions than with radiology.

Keywords: bone callus, healing, ultrasonography, Power Doppler, horses.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1-** Procedimento anestésico. A- Posicionamento do equino na sala de indução. B- Cavalos em decúbito lateral após indução anestésica28
- Figura 2-** Cirurgia de osteotomia em III metacarpiano de equino para confecção de falha circular de 14 mm. A e B- Incisão de pele em semi-círculo. C- Incisão de subcutâneo e periósteo. D- Realização da osteotomia com trefina de 14 mm e instilação de solução fisiológica. E- Aspecto final da falha óssea no III Mtc. F- Sutura de pele com pontos isolados simples.....29
- Figura 3-** Fragmento ósseo removido após osteotomia do III metacarpiano (seta vermelha)..... 29
- Figura 4-** Antes e depois da preparação de equino para realização do projeto.....33
- Figura 5-** Gráfico da avaliação radiográfica por escore realizada pelos avaliadores (mediana) ao longo dos 180 dias de pós-operatório de osteotomia do III metacarpiano equino.....35
- Figura 6-** Evolução da cicatrização da falha no III Mtc de equino através da radiologia. Os primeiros sinais de preenchimento ósseo foram observados no 14º dia de pós-operatório (grau 1), aumentando o grau de cicatrização no D150 e se manteve até o D18037
- Figura 7-** Gráfico da avaliação ultrassonográfica modo B por escore realizada pelos avaliadores (mediana) ao longo dos 180 dias de pós-operatório de osteotomia do III metacarpiano equino.....38
- Figura 8-** Evolução da cicatrização da falha no III Mtc de equino através do US modo B. Os primeiros sinais de preenchimento ósseo foram observados no sétimo dia de pós-operatório (grau 1), aumentando o grau de cicatrização no dia 28, quando então o grau de preenchimento aumentou no D90 (grau 2) e se manteve até os 180 dias39

Figura 9- Gráfico da avaliação ultrassonográfica PD por escore realizada pelos avaliadores (mediana) ao longo dos 180 dias de pós-operatório de ostectomia do III metacarpiano equino.....38

Figura 10- Evolução da neovascularização da falha no IIIMTc de equino através do US PD. A presença de vasos na falha óssea foi observada no sétimo dia de pós- operatório (grau 1), seguido de um pico no dia 35 (grau 1,5) e diminuição de sinais de vascularização na falha, do dia 60 ao 150 (grau 1), até 180 dias sem nenhuma apresentação vascular41

Figura 11- Comparação dos gráficos dos escores de raio-x, ultrassom modo B e Power Doppler (mediana) ao longo dos 180 dias de pós-operatório de ostectomia do III metacarpiano equino.....42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Escala do grau de preenchimento ósseo através dos raios-x em projeção latero-medial e dorsopalmar	31
Tabela 2- Escala do grau de preenchimento ósseo através da avaliação Ultrassonográfica modo B	31
Tabela 3- Escala do grau de neovascularização óssea através do US Power Doppler	32
Tabela 4- Tabela comparativa da concentração da FA sérica (U/L) em equinos submetidos à ostectomia circular diafisária do III metacarpiano	35
Tabela 5- Tabela comparativa dos escores de raio-x, ultrassom modo B e Power Doppler (mediana) ao longo dos 180 dias de pós-operatório de ostectomia do III metacarpiano equino.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST- Aspartato aminotransferase
CEUA- Comissão de Ética no Uso de Animais
CK- Creatina quinase
EPTC- Empresa Pública de Transporte e Circulação
FA- Fosfatase alcalina
FC- Frequência cardíaca
FR- Frequência respiratória
HCV- Hospital de Clínicas Veterinárias
IM- Intramuscular
IIIIMTc- Terceiro metacarpiano
IV- Intravenoso
LACVet- Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias
MPA- Medicação pré-anestésica
OMIP- Osteossíntese minimamente invasiva com placa
PD- *Power doppler*
RM- Ressonância magnética
ROT- *Otawa Rules Test*
SID- Uma vez por dia
TEDC- Tendão extensor digital comum
TPC- Tempo de preenchimento capilar
TR- Temperatura retal
UFPEL- Universidade Federal de Pelotas
UFRGS- Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UFSM- Universidade Federal de Santa Maria
US- Ultrassonografia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA	166
2.1 Fraturas em equinos	16
2.2 Diagnóstico de fraturas	16
2.2.1 Radiologia	16
2.2.2 Ultrassonografia	18
2.2.2.1 Ultrassonografia para avaliação de fraturas em humanos	20
2.2.2.2 Ultrassonografia para avaliação de fraturas em outras espécies	21
2.2.2.3 Ultrassonografia para avaliação de fraturas em equinos	23
2.3 Marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo	24
3 OBJETIVOS	25
3.1 Geral	25
3.2 Específicos	25
4 MATERIAL E MÉTODO	26
4.1 Animais	26
4.2 Delineamento Experimental	26
4.3 Seleção Animais.	26
4.4 Procedimentos Pré-Operatórios	27
4.5 Procedimento Anestésico e Terapia Antimicrobiana Profilática	27
4.6 Procedimento Cirúrgico	28
4.7 Cuidados pós-operatórios	29
4.8 Métodos de avaliação	30
4.8.1 Avaliação clínica	30
4.8.2 Avaliação da ferida cirúrgica	30
4.8.3 Avaliação laboratorial	30
4.8.4 Avaliação radiológica	30
4.8.5 Avaliação ultrassonográfica Modo B	31
4.8.6 Avaliação ultrassonográfica Power Doppler	31
4.9 Análise estatística	32
5 RESULTADOS	33

5.1 Preparação animais	33
5.2 Protocolo anestésico e analgésico	33
5.3 Protocolo cirúrgico	34
5.4 Avaliação clínica	34
5.5 Avaliação da ferida cirúrgica	34
5.6 Avaliação laboratorial- FA sérica	34
5.7 Avaliação radiográfica	35
5.8 Avaliação ultrassonográfica modo B	37
5.9 Avaliação ultrassonográfica power doppler	39
6 DISCUSSÃO	44
7 CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS	53
APÊNDICE A- Ficha de Exame Clínico e Avaliação da Ferida Cirúrgica	58
ANEXO 1	60
ANEXO 2	61

1 INTRODUÇÃO

As fraturas mais comuns em ossos longos em cavalos de corrida em treinamento são as fraturas de côndilos de metacarpiano e metatarsiano. Em um estudo retrospectivo (1999-2009) pode-se identificar que 58,1% ocorreram em machos castrados, 21,8% em animais inteiros e 20,1% ocorreram em fêmeas. Os membros mais afetados foram os torácicos (59,8%) em relação aos membros pélvicos (40,2%) (JACKLIN & WRIGHT, 2012).

Segundo Watkins (2006), as fraturas de diáfise de terceiro metacarpiano/metatarsiano em potros são frequentes; ocorrem por perda de equilíbrio durante exercício vigoroso ou trauma direto. Conforme Sá *et al.* (1997) devido às características da espécie, a regeneração de fraturas em equinos é complexa.

Em um levantamento de 335 necropsias de equinos realizado na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), o segundo sistema mais afetado foi o musculoesquelético, acometendo 14% dos animais, sendo a fratura a principal causa e os membros mais afetados os torácicos (60% casos). A maior parte dos casos de fratura ocorreu em animais de 1 a 5 anos de idade (47,4%) (PIEREZAN *et al.*, 2009). Em outro trabalho realizado na Suécia, o principal sistema relacionado à morte de cavalos de sangue quente foi o musculoesquelético (56-57%) e em cavalos de sangue frio este sistema ficou em segundo lugar (14%) (WALLIN *et al.*, 2000). Em um estudo recentemente realizado no sul do Brasil, revisando protocolos de necropsia e materiais entregues de equinos no Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), entre janeiro de 1978 e dezembro de 2012, observou-se que de 60 casos classificados como outras doenças, 37 (61,67 %) eram fraturas (MARCOLONGO-PEREIRA *et al.*, 2014).

No levantamento do Setor de Patologia da UFSM, a maior parte dos equinos com diagnóstico de fratura foi eutanasiado (79,2%); e as principais fraturas foram de membro torácico, seguidas de membro pélvico, vértebras e mandíbula, respectivamente. Apenas 8,3% tiveram relato de morte natural, segundo o autor devido à dificuldade de tratamento cirúrgico desta enfermidade (PIEREZAN *et al.*, 2009).

Em pequenos animais, trabalhos já avaliaram os ossos longos através da ultrassonografia modo B (RISSELADA *et al.*, 2003) e a cicatrização de fraturas não

complicadas, que variaram do tipo simples a cominutiva, tratadas por redução externa até osteossíntese com placa (RISSELADA *et al.*, 2007).

Na medicina, a técnica de ultrassonografia com Power Doppler (PD) vem sendo utilizada em diversos trabalhos para monitorar o calo ósseo de fraturas (CARUSO *et al.*, 2000); avaliar tratamento de fraturas com ultrassom de baixa intensidade (RAWOOL *et al.*, 2003); avaliar fraturas e pseudoartroses (PAGANINI *et al.*, 2010); avaliar casos de artrite reumatóide (FOLTZ *et al.*, 2012) e fraturas diafisárias de úmero (SU *et al.*, 2013). Na odontologia, na avaliação de lesões periapicais (RAJENDRAN & SUNDARESAN, 2007; TIKKU *et al.*, 2010). Em veterinária, RISSELADA *et al.* (2006) utilizaram a técnica de Power Doppler em fraturas de cães e gatos e após osteotomia (RISSELADA *et al.*, 2007).

O ultrassom tem se mostrado uma técnica eficiente, não invasiva e de baixo custo para avaliação da cicatrização óssea (THURMULLER *et al.*, 2002). E ainda mais informações podem ser obtidas se utilizado com Doppler, pois esse recurso permite avaliar vascularização dos tecidos moles ao redor da lesão óssea e no local da fratura, minimizando a exposição dos pacientes e da equipe a radiação (AUGAT *et al.*, 2014).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fraturas em equinos

Segundo Sá *et al.* (1997) as fraturas de cavalos são um assunto de grande interesse em veterinária já que são de difícil reparação, tanto pela resistência da musculatura, que dificulta a redução, quanto pelo peso do paciente. As fraturas nesta espécie normalmente estão associadas a traumas por quedas ou coices (SWOR & WATKINS, 2005). Normalmente, as fraturas em equinos não são lesões determinantes de óbito do paciente, entretanto, muito frequentemente apresentam um prognóstico ruim para o retorno funcional com vigor por causa do tipo de fratura, das diversas complicações desenvolvidas e do alto custo financeiro necessário para tratamento adequado (ORSINI, 2012).

Apesar de tantos estudos ao longo dos anos, nos dias de hoje a correção de fraturas em equinos ainda é um tópico que gera grande desafio aos veterinários. Em um estudo retrospectivo, Crawford & Fretz (1985) identificaram as fraturas de III metatarso como as de ocorrência mais comum na espécie equina. Diversos estudos têm sido feitos para melhoramento e descoberta de novas técnicas para tratamento de fratura em equinos. Alguns estudos utilizaram enxertos ósseos alternativos (DORNUSCH *et al.*, 2010; SELIM, 2013; NÓBREGA, 2014), outros tentaram criar um modelo de defeito ósseo em grandes animais não terminal para se poder avaliar a eficácia de tratamentos farmacológicos e regenerativos desenvolvidos para melhorar a cicatrização óssea (SARRAFIAN *et al.* 2014).

Para estudar o processo de cicatrização de fraturas são utilizados modelos experimentais, contudo por causa das diferenças anatômicas, biológicas e técnicas, nem sempre esses modelos tem parâmetros adequados para a espécie de interesse final (LACRETA *et al.*, 2010).

2.2 Diagnóstico de fraturas

2.2.1 Radiologia

É uma técnica amplamente utilizada para avaliação de fraturas. As fraturas são observadas no exame radiográfico comumente como uma linha radioluscente. Nas fraturas

impactadas podem-se criar um aumento de opacidade e micro fraturas são frequentemente não visíveis (OWENS & BIERY, 1999). Entretanto, estudos tem demonstrado que existe certa falha nesta técnica de diagnóstico por imagem. Turk *et al.* (2010) avaliaram por ultrassom (US) vinte pessoas que não apresentavam alterações radiológicas, entretanto, permaneciam com sintomatologia de trauma torácico. A técnica diagnosticou 26 fraturas de costela em 18 pacientes, sendo que nenhuma havia sido identificada anteriormente. Daniels *et al.* (2016) diagnosticaram uma fratura no tornozelo não detectada pela radiografia comum. Fraturas de cartilagem costal podem não ser vistas em radiologia, salvo aquelas de cartilagem com calcificação espessa, no entanto são facilmente detectadas através da tomografia computadorizada ou ultrassonografia (MALGHEM *et al.*, 2001).

Em alguns tipos de lesões, como na torção de tornozelo, 85% dos pacientes que se submetem ao exame radiográfico não apresentam fratura. Com o uso da triagem por ultrassom pode-se reduzir os pedidos de radiologia, diminuindo custos, exposição à radiação e se instituindo tratamento mais rápido para o paciente com lesão no tornozelo (HEDELIN *et al.*, 2013). O Teste das Regras de Ottawa¹ (ROT), que servem para localizar fraturas no tornozelo ou meio do pé, foi globalmente aceita para reduzir o uso abusivo da radiologia, diminuindo o número de radiografias para apenas 30-40% dos casos de pacientes sem fratura (BACHMANN *et al.*, 2003).

Estudos tem demonstrado que a técnica radiográfica não é ideal para monitorar a cicatrização. Existem muitas variáveis envolvendo o processamento e o desenvolvimento do filme radiográfico; sobreposição de estruturas, variação na interpretação, impossibilidade de observação de mudanças da densidade óssea em pouco tempo (MAITY *et al.*, 2011).

Em humanos não diagnosticados, o uso de um protocolo de tratamento não adequado pode levar ao atraso na volta ao trabalho e na resolução da dor; dependendo da maneira como aconteceu o acidente, podem também surgir problemas legais (TURK *et al.*, 2010).

¹ Nos traumatismos de entorse do tornozelo, as radiografias do tornozelo só serão necessárias se houver dor na região maleolar associada a palpação dolorosa dos 6 cm distais e posteriores do maléolo lateral ou medial ou incapacidade de suportar carga e imediatamente e durante observação clínica. As radiografias do pé, só serão importantes se houver dor no médio-pé associada a palpação dolorosa do navicular ou da base do 5º metatársico ou incapacidade para suportar carga imediatamente e durante observação clínica (MATOS, 2010).

É muito importante que se desenvolva novas técnicas diagnósticas que não causem efeitos adversos ao corpo, como por exemplo, a ultrassonografia (US). São raros os artigos que relatam o uso do US na avaliação de calos ósseos, mas esse pode ser um método igual ou até melhor do que a avaliação radiográfica (WAWRZYK *et al.*, 2015). Segundo o 13º Relatório Americano de Carcinogênicos os raios-x são oficialmente um fator de desenvolvimento de linfoma, câncer de tireóide, pulmão e leucemia.

2.2.2 Ultrassonografia

Conforme Reef *et al.* (2004), a ultrassonografia é uma ótima técnica para avaliar equinos com possíveis doenças musculares e ósseas. O US realizado em série permite a avaliação do processo de cicatrização da fratura *in vivo*, com aparente similaridade entre as imagens e o que se conhece da histologia da cicatrização de fraturas (MAFFULLI & THORNTON, 1995).

Para Thurmuller *et al.* (2002), o US tem se mostrado uma técnica eficiente, não invasiva e de baixo custo para avaliação da cicatrização óssea. De acordo com Maity *et al.* (2011), a máquina de US, quando comparada com outras modalidades de imagem avançadas, possui custo um pouco menor. Conforme Turk *et al.* (2010), o ultrassom é de fácil acesso e manuseio ao contrário das técnicas de cintilografia e tomografia computadorizada. Além disso, Augat *et al.* (2014) relataram que através do ultrassom pode-se avaliar além da vascularização dos tecidos adjacentes à área de fratura, a própria fratura, evitando a exposição à radiação de pacientes.

Segundo Wawrzyk *et al.* (2015), dentre as diversas vantagens do uso do ultrassom para avaliação de fraturas estão: não uso de radiação ionizante, avaliação da musculatura e avaliação qualitativa do calo através da vascularização; não indolor e bem tolerado. De acordo com Daniels *et al.* (2016) o fato de não utilizar radiação ionizante permite que o ultrassom seja usado para exames em série. Segundo Maity *et al.* (2011) nenhum efeito prejudicial aos tecidos foi observado como resultado das ondas do exame de ultrassom.

O processo de cicatrização de fraturas secundárias pode ser dividido em cinco estágios para avaliação US. No estágio I (0- 7 dias pós-trauma), as áreas superficiais e

profundas da fenda da fratura aparecem homogêneas, hipocóica e até anecóica, devido à formação do hematoma (RISSELADA *et al.*, 2005).

No estágio II (8-14 dias pós-trauma), dentro do espaço da fratura, o tecido aparece de hipocóico à anecóico, sendo mais heterogêneo (hematoma reabsorvido). No estágio IIIa e IIIb (15-28 dias pós-trauma), em virtude da reabsorção óssea os limites da fratura tornam-se irregulares e romboides. A formação do início do calo ósseo aparece como superfície hiperecólica irregular ou ondulante. Os tecidos na volta aparecem heterogeneamente ecogênicos (hematoma reorganizado e calo não ossificado). No IIIa (15-21 dias pós-trauma), quando comparado a musculatura adjacente, o tecido mostra-se com uma ecotextura hipocóica a isoecóica. No estágio IIIb (22-28 dias pós-trauma) os tecidos superficiais (calo não ossificado) ficam progressivamente mais ecogênicos. No estágio IV (29-42 dias pós-trauma), ocorre aumento da ecogenicidade do calo, ficando heterogêneo, indicando imaturidade e ossificação incompleta. O calo fica com aparência laminar contínua, mais ecogênico, sendo sua superfície irregular. No estágio V (mais de 43 dias pós-trauma), a consolidação é completa. O córtex cicatrizado apresenta-se como uma linha hiperecólica contínua, homogênea, margem marcada (RISSELADA *et al.*, 2005).

Existem poucos trabalhos em medicina veterinária para avaliação de cicatrização óssea com o uso do ultrassom quando comparados a estudos em humanos. O primeiro trabalho, em veterinária avaliando a cicatrização de fraturas pelo ultrassom, foi publicado em 2000 (RISSELADA *et al.*, 2005).

De acordo com Augaut *et al.* (2014), a radiologia não consegue evidenciar os sinais iniciais da cicatrização óssea. Conforme Risselada *et al.* (2003) devido a capacidade de avaliar os tecidos moles, a ultrassonografia pode gerar informação mais precoce e adicional da cicatrização óssea. A formação do calo ósseo está intimamente ligada à proliferação vascular, e tem se sugerido que o ultrassom com Doppler pode ser um monitor para avaliar mais precocemente os sinais de cicatrização óssea se comparado ao ultrassom em escala de cinza (CARUSO *et al.*, 2000).

O diagnóstico da cicatrização de fraturas pode ser realizado em média 2 semanas mais cedo através da avaliação ultrassonográfica quando comparada aos exames radiográficos. Além disso, casos de cicatrização tardia ou não união óssea também são

observados mais cedo (CHACHAN *et al.*, 2015). Dessa forma, a ultrassonografia pode ser introduzida na rotina clínico-cirúrgica já que é método não invasivo e de fácil aplicação; complementando a avaliação radiológica (MARCONDES *et al.*, 2015).

Em pequenos animais, Risselada *et al.* (2006) observaram através do US Power Doppler (PD) sinais de neovascularização no calo ósseo e nas suas proximidades a partir do 10º dia após o trauma, tendo um pico entre 11º-30º dias, diminuindo gradualmente.

Maity *et al.* (2011), ao avaliarem a cicatrização após terapia endodôntica não cirúrgica, observaram que o US pode identificar sinais de cicatrização em 8 de 10 pessoas avaliadas com 6 semanas, enquanto que nas radiografias foi observada apenas no final de 3 meses. Além disso, foi capaz de promover informação importante como formação óssea e mudanças na vascularização. Ademais, segundo Tikku *et al.* (2010), a ultrassonografia com Power Doppler é efetiva para monitorar a cicatrização de lesões periapicais após cirurgia odontológica, permitindo uma avaliação que não é possível fazer através da técnica de radiologia.

A ultrassonografia é a melhor opção para avaliação minuciosa em casos que a pessoa apresenta dor contínua e não apresenta evidências radiográficas de fratura. Além de mostrar as irregularidades da cortical (fraturas), pode identificar lesões de tecido mole (DANIELS *et al.*, 2016).

2.2.2.1 Ultrassonografia para avaliação de fraturas em humanos

Existem publicados estudos em humanos para avaliar fraturas, a sua cicatrização e pseudoartrose, tanto com modo B quanto com o uso de Doppler (CRAIG *et al.*, 1999; CARUSO *et al.*, 2000; PAGANINI *et al.*, 2010).

Foltz *et al.* (2012) compararam o uso da ultrassonografia Power Doppler com a ressonância magnética (RM) para avaliar se pacientes com artrite reumatoide, em remissão da doença ou com baixo nível de sua atividade, teriam retardo ou progressão radiográfica da doença. O Power Doppler conseguiu prever os pacientes que estavam com a doença controlada e aqueles que estavam com sinais de sinovite, demonstravam recaída enquanto que a RM não.

Hedelin *et al.* (2013) avaliaram 122 casos de torção de tornozelo através do US, raios-x e ROT. Com o treinamento de médicos conseguiu-se fazer uma triagem segura com US nos pacientes com trauma e o uso de técnica pareceu ser capaz de diminuir a quantidade de exames radiográficos mais que o ROT.

Daniels *et al.* (2016) relataram um caso de fratura no tornozelo que não foi detectada pelo exame radiográfico e que posteriormente foi identificado pelo ultrassom, já que o paciente apresentava dor persistente e foi reavaliado.

Em odontologia, estudos avaliaram a cicatrização periapical após tratamento endodôntico cirúrgico por ultrassom modo B e doppler colorido (RAJENDRAN & SUNDARESAN, 2007) e também radiologia (TIKKU *et al.*, 2010). Após tratamento não cirúrgico por meio da radiologia e doppler colorido (MAITY *et al.*, 2011) e o reparo de fraturas de mandíbula através de radiologia e ultrassom modo B (THURMULLER *et al.*, 2002).

Wawrzyk *et al.* (2015) utilizaram o ultrassom na avaliação de calos ósseos de 28 fraturas de ossos longos em 24 crianças, de 9 a 11 anos, e obtiveram uma alta eficácia deste método na avaliação da formação do calo ósseo possibilitando seu uso como alternativa para os exames radiográficos.

2.2.2.2 Ultrassonografia para avaliação de fraturas em outras espécies

Risselada *et al.* (2003) investigaram quais eram as melhores e mais fáceis janelas de acesso para avaliação ultrassonográfica dos ossos longos de cães adultos (úmero, rádio, ulna, fêmur e tibia) e concluíram que pode-se obter imagens em sequência, devendo-se utilizar um transdutor linear em orientação longitudinal colocado perpendicularmente a superfície óssea.

Em outro estudo, pesquisaram a viabilidade do uso do Power Doppler na avaliação da neovascularização óssea durante a cicatrização de fraturas de cães e gatos, juntamente com avaliação US modo B e radiologia, e observaram que a neovascularização do calo ósseo em pequenos animais pode ser vista através do Power Doppler sendo que o diâmetro e a quantidade dos vasos seguem um padrão tempo dependente de desenvolvimento

da vascularização nos primeiros 20 dias e desaparece nos próximos 60 dias, podendo servir como indicador do progresso de cicatrização de fratura (RISSELADA *et al.*, 2006).

Risselada *et al.* (2007) também avaliaram por meio do ultrassom (modo B e Power Doppler) e radiologia, fraturas de cães tratadas por osteossíntese em placa. Em muitos cães a cicatrização através do US pode ser vista antes do que a imagem radiográfica; os sinais do Power Doppler podem ser vistos durante a cicatrização da fratura mas o acesso teve que ser feito longe da placa.

Doria *et al.* (2007) avaliaram através do Power Doppler e da cintilografia a evolução de fraturas proximais de fêmur de 12 coelhos após osteotomia intertrocanterica. A avaliação foi realizada no 7º dia e após 6 semanas de pós-operatório e cada técnica demonstrou ter valor para avaliação das fraturas, sendo que o Power Doppler demonstrou maior acurácia para avaliar pequenas áreas vasculares e a cintilografia para discriminar a quantidade de vasos por área.

Pozzi *et al.* (2012) avaliaram a cicatrização de fraturas de rádio e ulna de cães, após dois tipos de técnicas de redução cirúrgica, através da radiologia, US modo B e Power Doppler; e concluíram que a técnica de osteossíntese minimamente invasiva com placa (OMIP) obteve mais rapidez na cicatrização da fratura do que a técnica de fixação interna. A radiografia revelou uma formação de calor maior e a Power Doppler mostrou uma vascularização mais abundante nos casos de fratura reduzida através da OMIP.

Rahinzadeh *et al.* (2012) criaram defeito ósseo no rádio de 18 coelhos e avaliaram através da radiologia e Power Doppler o grupo controle e o grupo em que foi colocado no local do defeito um molde de osso esponjoso revestido com nano-hidroxiapatita após fixação da fratura. As avaliações foram realizadas no dia 0, 15, 30, 60 e 90. A formação de vascularização apareceu no US com 15 dias, nos coelhos com enxerto e com 30 dias no grupo controle.

Chen *et al.* (2014) avaliaram fraturas induzidas em tíbias de ratos (n=18) através da ultrassonografia (50 MHz), monitorando a inflamação tecidual e a resposta aos tratamentos com drogas. As avaliações foram realizadas no dia 0 e nos dias 2, 4, 7 e 14 após a cirurgia. As imagens mostraram correlação positiva da hiperecogenicidade com a resposta inflamatória ao

redor da fratura. O US demonstrou que a aspirina inibiu a resposta inflamatória na fratura, mostrando uma diminuição de ecogenicidade, quando comparada com grupo sem tratamento.

Marcondes *et al.* (2015) avaliaram, durante 60 dias, através de radiologia, ultrassom e termografia o processo de cicatrização óssea de 6 ovelhas que sofreram osteotomia unicortical induzida experimentalmente no III/IV metacarpianos. Sendo as avaliações realizadas aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias pós-cirurgia e concluíram que todas as técnicas permitiram a análise da reparação óssea desde fase inicial de seu processo até sua finalização; mas o US permitiu a observação mais precoce do processo de regeneração óssea.

Em outro estudo, Baccarelli (2016) realizou falhas ósseas na tíbia de 12 ovinos, sendo um membro com colocação de biomaterial e outro controle. As falhas foram avaliadas através de PD e termografia, sendo PD eficiente na detecção no surgimento de novos vasos no local nos dois grupos. Nos primeiros sete dias não houve visualização de vasos. Aos 21 dias, houve diferença estatística entre os grupos ocorrendo maior vascularização no membro controle.

Baccarelli *et al.* (2017) relataram o uso do Power Doppler na avaliação do pós-operatório de uma osteossíntese com placa bloqueada em uma tíbia de ovino. As avaliações foram realizadas nos dias 14, 21, 28 e 35. Os sinais de vascularização foram vistos no dia 14, sendo no 21º dia visualizados muitos vasos, havendo regressão nas avaliações posteriores.

2.2.2.3 Ultrassonografia para avaliação de fraturas em equinos

Estudos avaliaram o uso do ultrassom para diagnosticar fraturas da pelve (SHEPHERD & PILSWORTH, 1994; WALKER *et al.*, 2012); identificar alterações na pelve em cavalos com dor sacroilíaca (TOMLINSON *et al.*, 2003); comparar a técnica radiográfica com US em animais com fratura na região pélvica ou alterações na articulação coxofemoral (GEBUREK *et al.*, 2009).

O estudo de Nóbrega (2014) avaliou a viabilidade do polímero de mamona acrescido de carbonato de cálcio em falhas induzidas no III metacarpo de equinos, através de diversas técnicas de imagem entre elas a ultrassonografia e o Power Doppler. A primeira

avaliação foi realizada aos sete dias, seguida de outras aos 15, 30, 60, 90 e 120 dias do pós-cirúrgico, sendo encontrados sinais de neovascularização aos 15 dias. Entretanto, não existem estudos que avaliem somente os parâmetros de vascularização do calo ósseo para esta espécie através da ultrassonografia Power Doppler.

2.3 Marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo

Os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo podem ser definidos como substâncias que retratam a formação e a reabsorção óssea (VIEIRA, 1999). O monitoramento da atividade de formação óssea (osteoblastos) e reabsorção óssea (osteoclastos) podem ser realizados por suas enzimas específicas. Durante a mineralização da matriz ocorre o aumento no soro da fosfatase alcalina específica óssea enquanto que o nível de osteocalcina parece ser mais sensível à maturação dos osteoblastos (SEEBECK *et al.*, 2005).

Normalmente, os tipos ósseo e hepático predominantes da fosfatase alcalina (FA) estão presentes em quantidade iguais na circulação (> 90% do total) enquanto que a forma intestinal representa menos de 5% do total. Por décadas, a mensuração da atividade total de FA foi usada como base no estudo de doenças hepáticas e ósseas, pressupondo que o aumento da atividade total estaria relacionado à isoenzima específica da doença (VIEIRA, 1999).

Um estudo de Komnenou *et al.* (2005) correlacionou a cicatrização de fraturas diafisiárias de ossos longos, em cães, com a atividade da FA sérica. A FA seguiu o mesmo padrão nos grupos A e B (cicatrização normal em 2 meses e atrasada em 3 a 5 meses, respectivamente), com um aumento inicial e pico no 10º dia pós-cirúrgico e redução gradual durante o período do experimento. No grupo C a atividade da enzima não foi significativa durante o período de avaliação, indicando falha na cicatrização óssea. Concluindo então que a medição seriada da FA sérica durante a cicatrização óssea associada com exame físico e radiológico pode ser uma ferramenta útil para prever quais as fraturas que terão risco de não união.

Nóbrega (2014) aferiu a FA em cavalos com lesão circular induzida de metacarpo associada a enxerto ósseo; encontrando o pico da enzima nos 30 dias de pós-operatório e após, os níveis foram diminuindo gradativamente.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Verificar se a ultrassonografia Power Doppler na avaliação de defeito induzido em metacarpo de equinos permite avaliar mais precocemente a cicatrização óssea do que a técnica de radiografia e ultrassonografia modo B na análise da formação do calo ósseo.

3.2 Específicos

Definir se a espécie equina apresenta um padrão tempo dependente de desenvolvimento da neovascularização de lesões ósseas não complicadas como os cães.

Avaliar o uso da FA sérica como marcador da formação óssea equina, comparando sua oscilação no soro com os dados observados de formação de calo ósseo através dos exames de imagem realizados.

4 MATERIAL E MÉTODO

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), sob o número 33515 (Anexo 2).

4.1 Animais

Foram utilizados quatro equinos adultos hígidos, machos, castrados, sem raça definida, provenientes do Abrigo de Grandes Animais da Empresa Pública de Transporte e Circulação (EPTC) da Prefeitura Municipal de Porto Alegre. Os animais foram selecionados com escore corporal entre 2-4 para o projeto, sendo utilizada uma tabela com escores de 0 a 5 (CARROLL & HUNTINGTON, 1988).

Os animais foram mantidos em baias individuais de alvenaria, cobertas, com área de 3,5m x 4m, sobre cama de maravalha, no Setor de Grandes Animais do Hospital de Clínicas Veterinárias (HCV) da UFRGS. O tempo de adaptação foi de 30 dias. O fornecimento de água foi *ad libitum* e a alimentação foi realizada três vezes ao dia com alfafa e ração comercial, durante o período de adaptação e ao longo do experimento.

4.2 Delineamento experimental

Após passarem por uma ostectomia na diáfise proximal do III osso metacarpiano, gerando uma falha circular unicortical de 14mm de diâmetro no membro torácico esquerdo, quatro equinos foram avaliados através de controle radiográfico, ultrassonográfico modo B e Power Doppler no pós-operatório imediato (dia 0) e nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 60, 90, 120, 150 e 180 dias. Sendo a avaliação da FA, exame clínico e avaliação da ferida iniciados nas primeiras 24 horas do pós-cirúrgico.

4.3 Seleção dos animais

Os equinos foram submetidos a exame clínico geral e coleta de amostra de sangue ao chegarem ao HCV-UFRGS. Foi realizada inspeção visual; avaliação da coloração das mucosas; tempo de preenchimento capilar (TPC); aferição da temperatura retal (TR) e verificação da frequência cardíaca (FC) e respiratória (FR). A coleta de sangue foi realizada

através da veia jugular, onde foi obtida uma amostra de 3 ml de sangue para realização de hemograma completo e dosagem de fibrinogênio e 3 ml para dosagem de fosfatase alcalina, albumina, aspartato alaninotransferase (AST) e creatina quinase (CK). Esse material, logo após a coleta, foi enviado ao Laboratório de Análises Clínicas Veterinário (LACVet) do HCV – UFRGS. Os animais foram vermifugados, por via oral com pasta a base de ivermectina (1,2g) e praziquantel (15g), conforme peso corporal, e receberam imidocarb 2 mg/kg, uma vez por dia (SID), intramuscular (IM), durante 3 dias.

Foi realizado exame radiográfico do III metacarpiano esquerdo, em duas projeções (dorsopalmar e latero-medial), inspeção visual da conformação dos membros torácicos e casqueamento corretivo com ferreiro experiente.

4.4 Procedimentos pré-operatórios

Nova coleta de sangue foi realizada para avaliação de hemograma, fibrinogênio, FA, albumina, AST e CK, 48 horas antes da cirurgia (Anexo 1). Os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas no pré-cirúrgico.

No dia da cirurgia foi realizada avaliação clínica dos animais, onde se aferiu a FC, FR, TR, TPC e coloração de mucosas. Foi realizada tricotomia ampla na região do terceiro metacarpiano esquerdo, no limite proximal da altura do carpo até o limite distal do boleto.

Foi estabelecido um acesso endovenoso na veia jugular dos animais, de forma asséptica, através da realização de tricotomia no local, desinfecção com álcool, iodo e álcool e introdução de cateter número 14.

4.5 Procedimento anestésico e terapia antimicrobiana profilática

Os animais foram conduzidos à sala de indução anestésica, onde se iniciou a anestesia através da medicação pré-anestésica (MPA), com cloridrato de xilazina 10% 0,6 mg/kg, intravenoso (IV) e, após 10 minutos, receberam midazolam (0,1mg/kg, IV) associado com cloridrato de cetamina (2mg/kg, IV) para indução anestésica (Figura 1). Após deitarem, foram colocados na mesa cirúrgica, onde foram intubados e submetidos à anestesia inalatória com isoflurano vaporizado em oxigênio 100%, mantendo-o ao longo da cirurgia sob

manutenção a 2,5%. Aplicou-se uma dose de 0,1 mg/kg de morfina, IM, para analgesia no transcirúrgico.

Os equinos, 30 minutos antes do procedimento cirúrgico, receberam terapia antimicrobiana profilática com associação de penicilinas e estreptomicina (benzilpenicilina benzatina, benzilpenicilina procaína, benzilpenicilina potássica, sulfato de diidroestreptomicina e sulfato de estreptomicina) na dose de 30.000 UI/kg IM e gentamicina (6,6 mg/kg, IV), além de soro antitetânico (5.000 UI/animal, IM).

Figura 1- Procedimento anestésico. A- Posicionamento do equino na sala de indução. B- Cavalo em decúbito lateral após indução anestésica.
Fonte: Bueno(2019)



4.6 Procedimento cirúrgico

Com os animais em decúbito lateral direito, foi realizada antissepsia cirúrgica na região com protocolo álcool-iodo-álcool. O procedimento iniciou com uma incisão de pele, em forma de semicírculo de 5 cm na região dorso-medial do osso, seguida do afastamento do tendão extensor digital comum (TEDC) e divulsão do tecido subcutâneo da região até se encontrar o perióstio. Após, foi realizada uma falha circular, unicortical de 14 mm de diâmetro no osso com auxílio de uma trefina, acoplada a perfuradora elétrica, mantendo resfriamento contínuo da região com solução de NaCl a 0,9%. O TEDC foi reposicionado e o tecido subcutâneo foi suturado com fio poligalactina 910 2.0 e sutura contínua. Após, realizou-se a sutura de pele com pontos simples e fio mononáilon 0 (Figura 2 e 3).

Figura 2- Cirurgia de osteotomia em III metacarpiano de equino para confecção de falha circular de 14 mm. A e B- Incisão de pele em semi-círculo. C- Incisão de subcutâneo e periósteo. D- Realização da osteotomia com trefina de 14 mm e instilação de solução fisiológica. E- Aspecto final da falha óssea no IIIMtc. F- Sutura de pele com pontos isolados simples. Fonte: Bueno (2019)

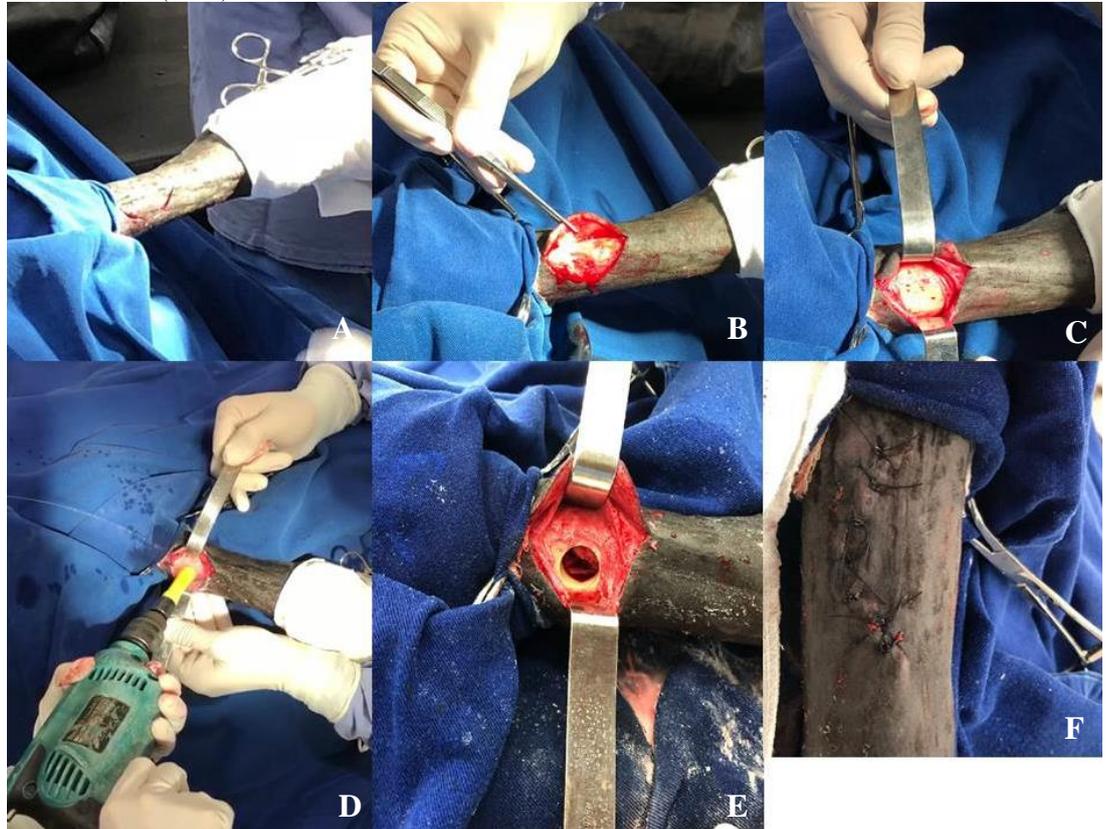


Figura 3- Fragmento ósseo removido após osteotomia do III metacarpiano (seta vermelha) Fonte: Bueno (2019)



4.7 Cuidados pós-operatórios

Os animais receberam como terapia analgésica e antiinflamatória, fenilbutazona na dose de 4,4mg/kg, IV, SID e terapia antibacteriana gentamicina (6,6 mg/kg, IV, SID),

durante 7 dias. A ferida cirúrgica foi limpa com solução de NaCl 0,9% e foi aplicado um curativo com gaze, micropore e atadura, sendo trocado uma vez por dia até a retirada de pontos de pele, aos 10 dias.

4.8 Métodos de avaliação

4.8.1 Avaliação clínica

Os animais foram avaliados através de exame clínico realizado uma vez por dia durante sete dias. Foram aferidas a FC, FR, TR, coloração de mucosas e TPC com o equino em repouso. Avaliou-se a claudicação do animal com este a passo, no pós-cirúrgico, sendo negativo para ausência e positivo para claudicação presente. Estes dados foram registrados em ficha específica (Apêndice A).

4.8.2 Avaliação da ferida cirúrgica

Foi realizada através do exame físico, uma vez por dia, por 10 dias, durante a troca do curativo. Verificou-se a integridade da sutura, a presença de edema, dor e/ou secreção na incisão cirúrgica. A dor foi avaliada através da palpação do local operado e observação se equino apresentava desconforto. Estes dados foram registrados em ficha específica (Apêndice A).

4.8.3 Avaliação laboratorial

Além da coleta pré-cirúrgica, foram coletadas amostras de sangue conforme descrição prévia para mensuração da FA sérica, 24 horas depois da cirurgia e nos dias referentes às avaliações por imagem da fratura (Anexo 1).

4.8.4 Avaliação radiológica

Foram realizadas duas projeções do III metacarpiano esquerdo, dorsopalmar e latero-medial para avaliação da integridade óssea no pré-cirúrgico e para avaliação da cicatrização óssea no pós-cirúrgico imediato (dia 0) e nos dias: 7, 14, 21, 28, 35, 60, 90, 120, 150 e 180 dias. As imagens foram armazenadas e analisadas posteriormente por três

avaliadores que desconheciam o tempo das avaliações e preencheram a tabela de avaliação (Tabela 1). O equipamento utilizado foi um raio-x digital portátil da marca CDK®, modelo SPL-HF-VET 4.0.

Tabela 1- Escala do grau de preenchimento ósseo através dos raios-x em projeção latero-medial e dorsopalmar

Escala	Grau de preenchimento ósseo
0	Sem preenchimento ósseo.
1	Preenchimento ósseo de mais de 0%, mas menos de 50%.
2	Preenchimento ósseo de mais de 50%, mas menos de 100%.
3	Preenchimento ósseo completo.

Thurmuller *et al.* (2002)

4.8.5 Avaliação ultrassonográfica modo B

Foi realizada a avaliação através do ultrassom modo B do III metacarpiano operado, para avaliação da integridade óssea no pré-cirúrgico e para avaliação da cicatrização óssea no pós-cirúrgico imediato, nos dias nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 60, 90, 120, 150 e 180 dias. O aparelho utilizado foi o Mylab 40VET da Esaote, transdutor linear de 12 MHz e 4 cm de profundidade. Foi realizada uma varredura longitudinal sobre o III metacarpiano, seguindo o sentido dorsoventral, e posteriormente uma varredura transversal, no mesmo sentido. As imagens foram gravadas e analisadas posteriormente por três avaliadores que desconheciam o tempo das avaliações e preencheram a tabela de avaliação (Tabela 2).

Tabela 2- Escala do grau de preenchimento ósseo através da avaliação Ultrassonográfica modo B

Escore	Grau de preenchimento ósseo
0	Completa transmissão das ondas de ultrassom através da falha óssea, com clara identificação das margens e sem material ecogênico
1	Transmissão parcial das ondas de ultrassom através da falha óssea, com margens identificáveis e menos de 50% de material ecogênico
2	Transmissão parcial das ondas de ultrassom pela falha óssea, com margens parcialmente obscuras e mais de 50% de material ecogênico
3	Sem transmissão das ondas de ultrassom pela falha óssea, margens invisíveis e 100% material ecogênico

Thurmuller *et al.* (2002)

4.8.6 Avaliação ultrassonográfica Power Doppler

Foi realizada a avaliação através do ultrassom Power Doppler do III metacarpiano esquerdo, para avaliação da integridade óssea no pré-cirúrgico e para avaliação da

cicatrização óssea no pós-cirúrgico imediato e nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 60, 90, 120, 150 e 180 dias. As imagens foram gravadas, conforme varredura anterior e avaliadas posteriormente por três avaliadores que desconheciam o período das avaliações e preencheram a tabela com o grau de neovascularização (Tabela 3).

Tabela 3- Escala do grau de neovascularização óssea através do US Power Doppler

Escore	Cor	Número de sinais coloridos
0	Não observação	Não observação
1	Vasos com coloração vermelha/ roxa	Menos 5
2	Vasos com coloração laranja	5-10
3	Vasos com coloração amarela	Mais que 10

Baseada no estudo Risselada *et. al.* 2006

4.9 Análise estatística

Os dados foram digitados no programa Excel e posteriormente exportados para o programa SPSS v. 20.0 para análise estatística. Foram descritas as variáveis categóricas por frequências e percentuais. As variáveis foram descritas pela mediana, o mínimo e o máximo. Para comparar as variáveis ao longo do tempo e entre os avaliadores foi utilizado o teste de Friedman. Para realizar as comparações múltiplas, as variáveis foram transformadas por postos (transformação *rank*) e posteriormente comparadas através do Modelo de Equações de Estimativas Generalizadas (*Generalized Estimating Equation Model, GEE*) com correção de Bonferroni.

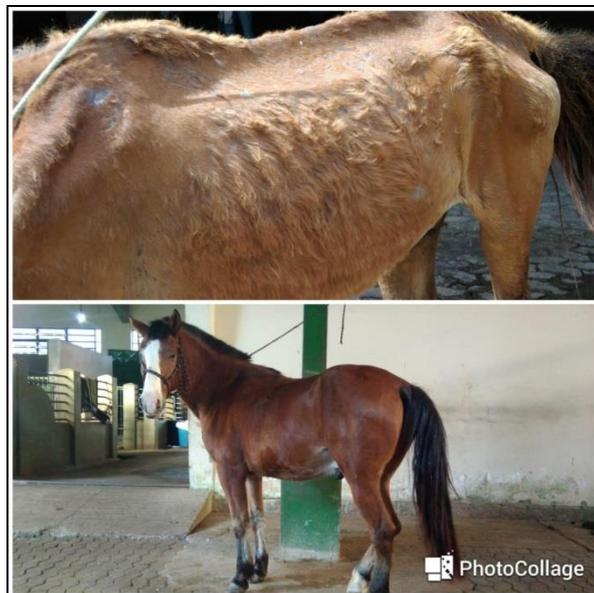
Foi considerado um nível de significância de 5% para as comparações estabelecidas.

5 RESULTADOS

5.1 Preparação dos animais

Por serem animais oriundos de um abrigo municipal, foi necessário um período maior para atingir o escore corporal (2-4) e parâmetros sanguíneos hematológicos necessários para a realização da cirurgia (número de eritrócitos e hemoglobina) (Figura 4).

Figura 4 – Antes e depois da preparação de equino para realização do projeto. Fonte: Bittencourt (2018)



5.2 Protocolo anestésico e analgésico

O protocolo utilizado foi considerado satisfatório já que não houve nenhuma intercorrência durante o procedimento. Um animal apresentou claudicação leve somente no segundo dia de pós-operatório, não sendo necessário o uso de medicação adicional.

5.3 Protocolo cirúrgico

As cirurgias transcorreram sem intercorrências, sendo realizadas em uma média de 30 minutos. A utilização do III metacarpiano possibilitou fácil acesso a face óssea para realização da ostectomia e a serra copo de 14 mm de diâmetro permitiu que as falhas ósseas fossem padronizadas para as futuras avaliações. A escolha da região óssea também facilitou a obtenção das imagens. Não houve intercorrências relacionadas ao defeito induzido.

5.4 Avaliação clínica

Em relação à avaliação clínica realizada diariamente nos equinos no pós-operatório, não foram observadas alterações significativas nos parâmetros de FC, FR, TR, coloração de mucosas e TPC. Em relação à claudicação, apenas um cavalo apresentou no segundo dia de pós-operatório, no membro torácico operado. Com o aumento da espessura da cama de maravalha, houve resolução do quadro de claudicação.

5.5 Avaliação da ferida cirúrgica

Um paciente apresentou deiscência de um único ponto de sutura. O exsudato variou de sanguinolento a seroso e a sua quantidade variou de grande a escassa nos equinos avaliados. Um animal apresentou leve edema na região da sutura entre o quinto e nono dia de pós-operatório. Em nenhum caso observou-se eritema, dor local ou necrose.

Os pontos foram retirados com 10 dias de pós-operatório e todos os animais apresentaram cicatrização completa da ferida cirúrgica.

5.6 Avaliação laboratorial – FA sérica

O valor FA sérica, de cada equino, variou bastante durante o período de avaliação. Na Tabela 1, verifica-se que não houve diferença estatística significativa ($P = 0,198$) ao longo do tempo.

Tabela 4 - Tabela comparativa da concentração da FA sérica (U/L) em equinos submetidos a ostectomia circular diafisária do III metacarpiano.

	Dia 0	Dia 1	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28	Dia 35	Dia 60	Dia 90	Dia 120	Dia 150	Dia 180	P
Median a	156	174	131	162	167	138	159	100	89	108	113	94	0,198
Mínimo	90	132	90	91	82	92	90	81	70	91	82	85	
Máximo	177	237	168	198	188	191	167	155	127	136	178	161	

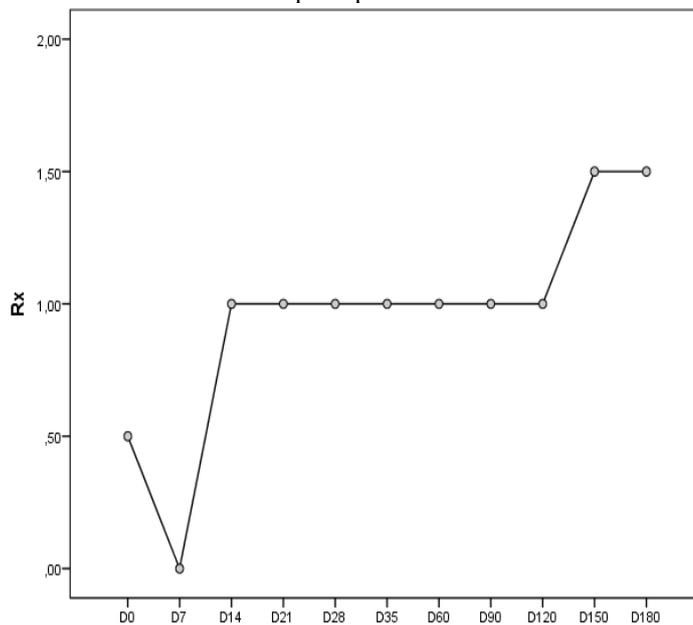
Dados comparados pelo teste de Friedman

Referência de normalidade: menor 395 U/L

5.7 Avaliação radiográfica

Os intervalos definidos para as avaliações permitiram um acompanhamento da cicatrização do defeito ósseo ao longo do período de estudo (Figura 6). Os sinais iniciais de cicatrização da falha óssea, pelos exames radiográficos, foram observados no 14º dia de pós-operatório (grau 1), mantendo-se esse escore até o 120º dia. Ocorrendo, então, um aumento do escore de cicatrização no dia 150 (grau 1,5), que se manteve até o dia 180 (Figura 5 e 11).

Figura 5 – Gráfico da avaliação radiográfica por escore realizada pelos avaliadores (mediana) ao longo dos 180 dias de pós-operatório de ostectomia do III metacarpiano equino.

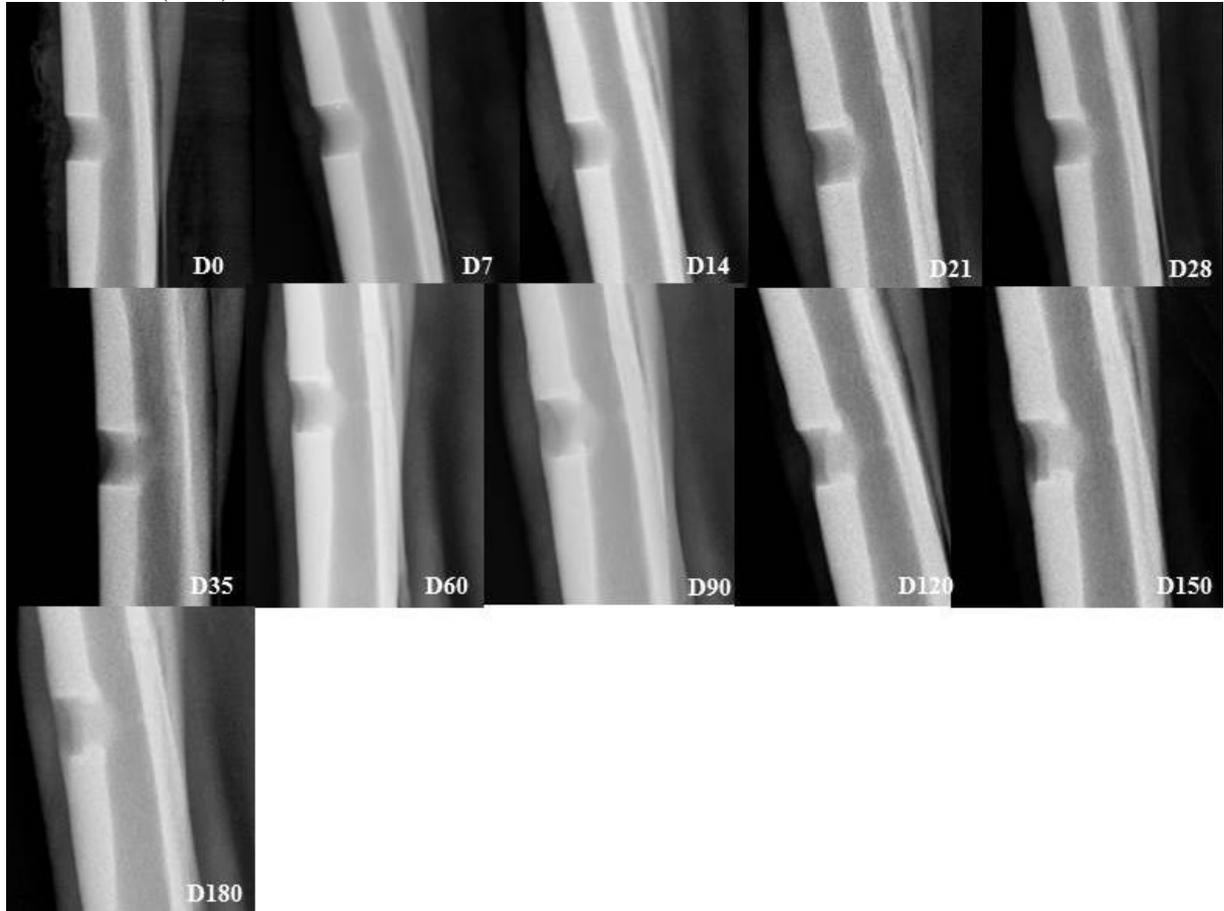


É possível observar na Figura 5 que não houve a completa cicatrização óssea da falha durante o período do estudo (grau 3).

Quando comparados os avaliadores entre si em cada um dos dias não houve diferença estatisticamente significativa entre eles.

Figura 6- Evolução da cicatrização da falha no IIIMTc de equino através da radiologia. Os primeiros sinais de preenchimento ósseo foram observados no 14º dia de pós-operatório (grau 1), aumentando o grau de cicatrização no D150 e se manteve até o D180.

Fonte: Bueno (2019)



5.8 Avaliação ultrassonográfica modo B

A utilização do US modo B para avaliar a falha óssea induzida no III metacarpiano, permitiu o acompanhamento do processo de cicatrização óssea (Figura 8). Os primeiros sinais de preenchimento foram observados no sétimo dia de pós-operatório (grau 1), mantendo-se esse grau até 21º dia de avaliação. A partir deste momento houve um aumento de preenchimento da falha (grau 1,5), que se manteve do dia 28-60, quando então o grau de preenchimento aumentou (grau 2) e se manteve no intervalo 90- 180 dias (Figura 7 e 11).

Após 180 dias do experimento os animais ainda não apresentavam imagem compatível com total cicatrização da falha óssea (grau 3).

Figura 7 – Gráfico da avaliação ultrassonográfica modo B por escore realizada pelos avaliadores (mediana) ao longo dos 180 dias de pós-operatório de ostectomia do III metacarpiano equino.

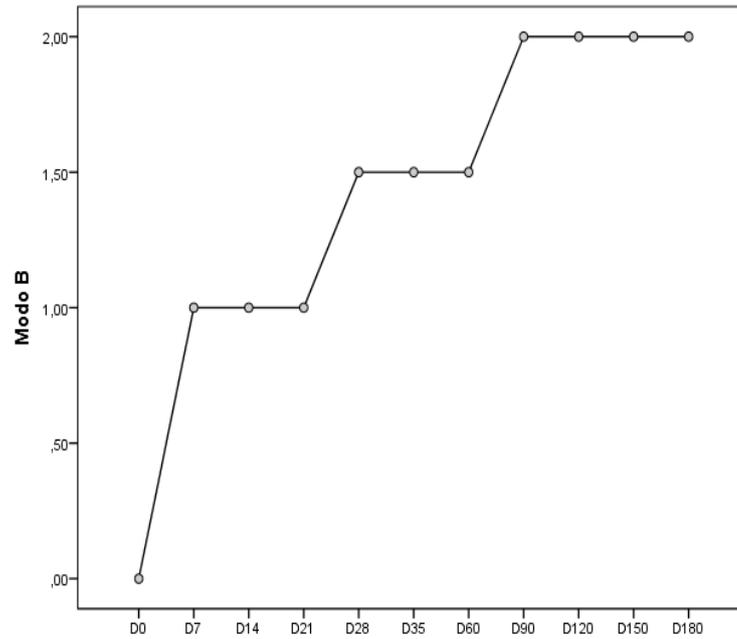
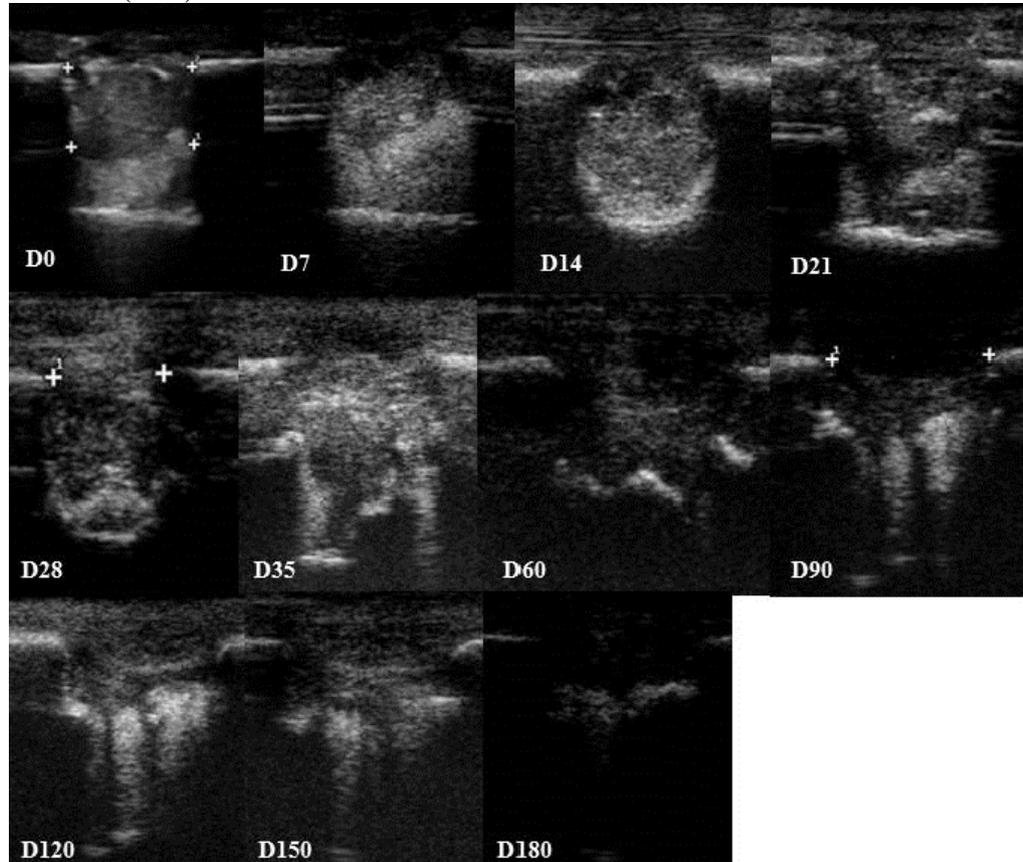


Figura 8- Evolução da cicatrização da falha no IIIMTc de equino através do US modo B. Os primeiros sinais de preenchimento ósseo foram observados no sétimo dia de pós-operatório (grau 1), aumentando o grau de cicatrização no dia 28, quando então o grau de preenchimento aumentou no D90 (grau 2) e se manteve até os 180 dias.

Fonte: Bueno(2019)



Para US Modo B houve diferença estatisticamente significativa entre os avaliadores, nos dias 90, 120 e 150. No dia 90, o avaliador 1 teve valores estatisticamente mais baixos que os avaliadores 2 e 3 ($P=0,002$ e $P<0,001$, respectivamente). No dia 120 a diferença foi a mesma, tendo o avaliador 1 valores mais baixos que os avaliadores 2 e 3 ($P=0,002$ e $P<0,001$, respectivamente). No dia 150 manteve-se o mesmo padrão de diferenças, tendo o avaliador 1 valores mais baixos que os avaliadores 2 e 3 ($P=0,002$ e $P<0,001$, respectivamente).

6.9 Avaliação ultrassonográfica Power Doppler

A avaliação ultrassonográfica através do Power Doppler permitiu a identificação dos sinais de vascularização do calo ósseo ao longo período do estudo (Figura 10). A presença de vasos na falha óssea foi observada primeiramente, no sétimo dia de pós-operatório (grau 1), mantendo esse grau de vascularização até dia 28, seguido de um pico no dia 35 (grau 1,5)

e posterior queda de sinais de vasos na falha, do dia 60 ao 150 (grau 1), até a nenhuma observação de vascularização aos 180 dias (Figura 9 e 11).

Quando comparados os avaliadores entre si em cada um dos dias não houve diferenças estatisticamente significativas.

Figura 9- Gráfico da avaliação ultrassonográfica PD por escore realizada pelos avaliadores (mediana) ao longo dos 180 dias de pós-operatório de ostectomia do III metacarpiano equino.

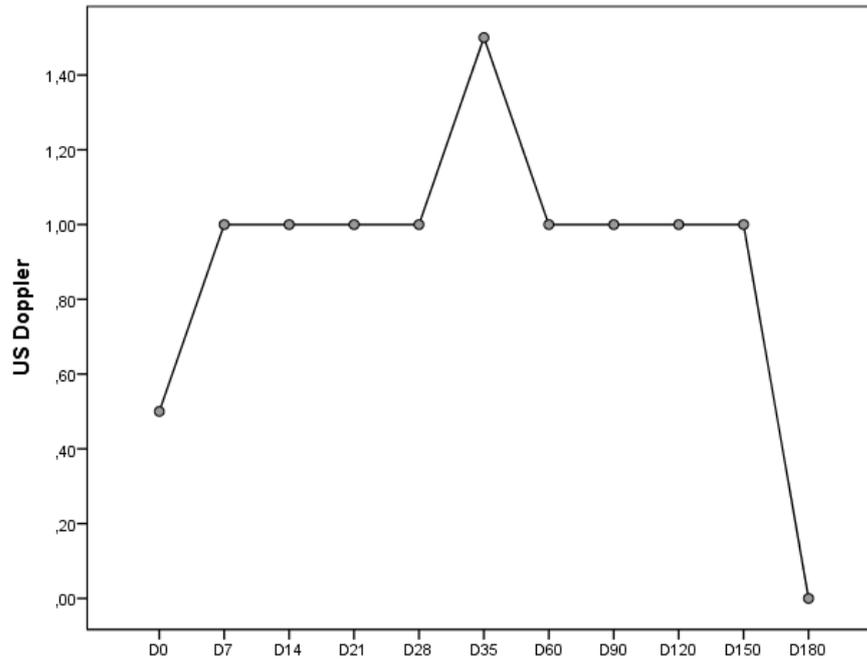


Figura 10- Evolução da neovascularização da falha no IIIMTc de equino através do US PD. A presença de vasos na falha óssea foi observada no sétimo dia de pós- operatório (grau 1), seguido de um pico no dia 35 (grau 1,5) e diminuição de sinais de vascularização na falha, do dia 60 ao 150 (grau 1), até 180 dias sem nenhuma apresentação vascular. Fonte: Bueno(2019).

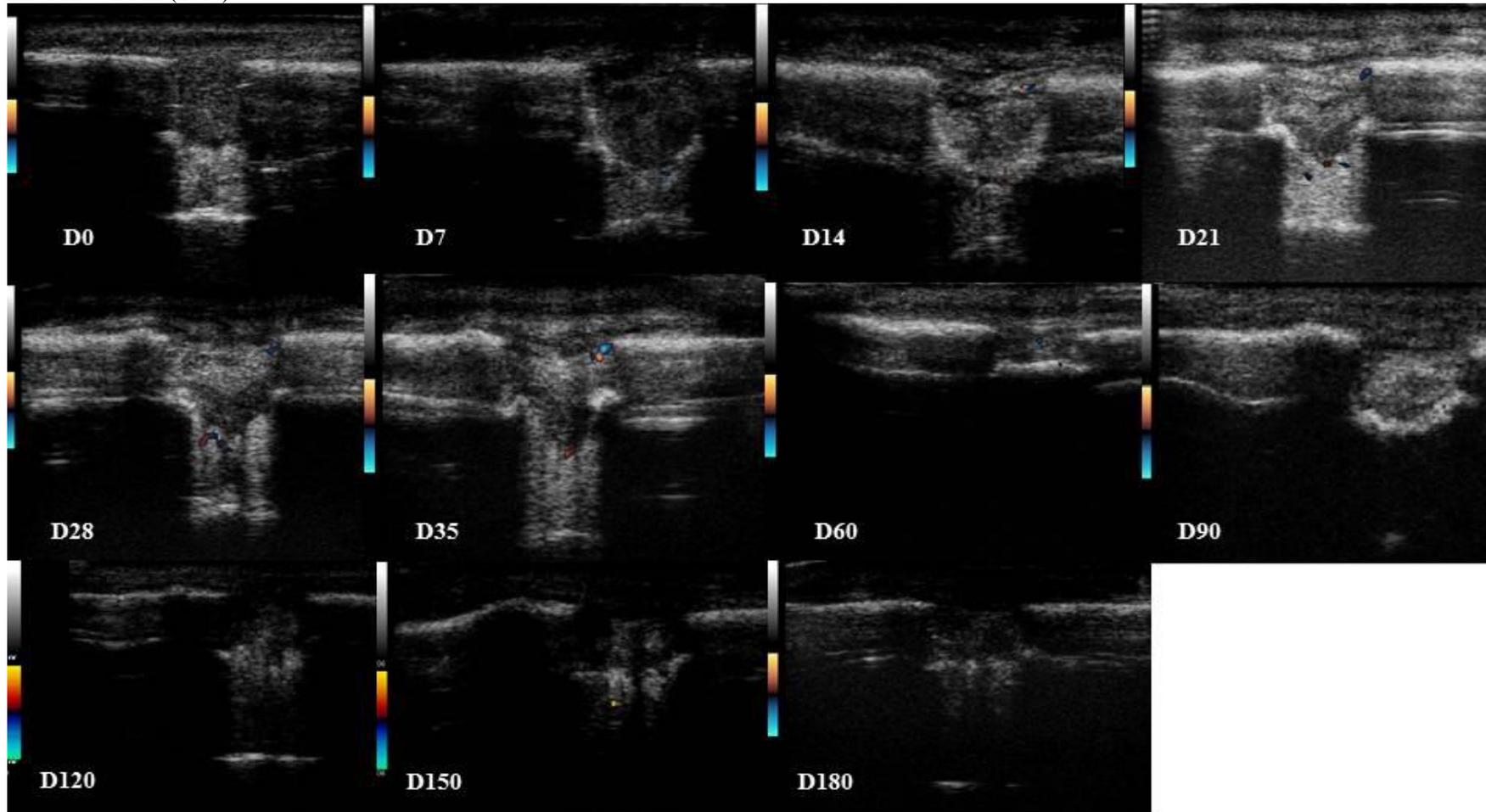
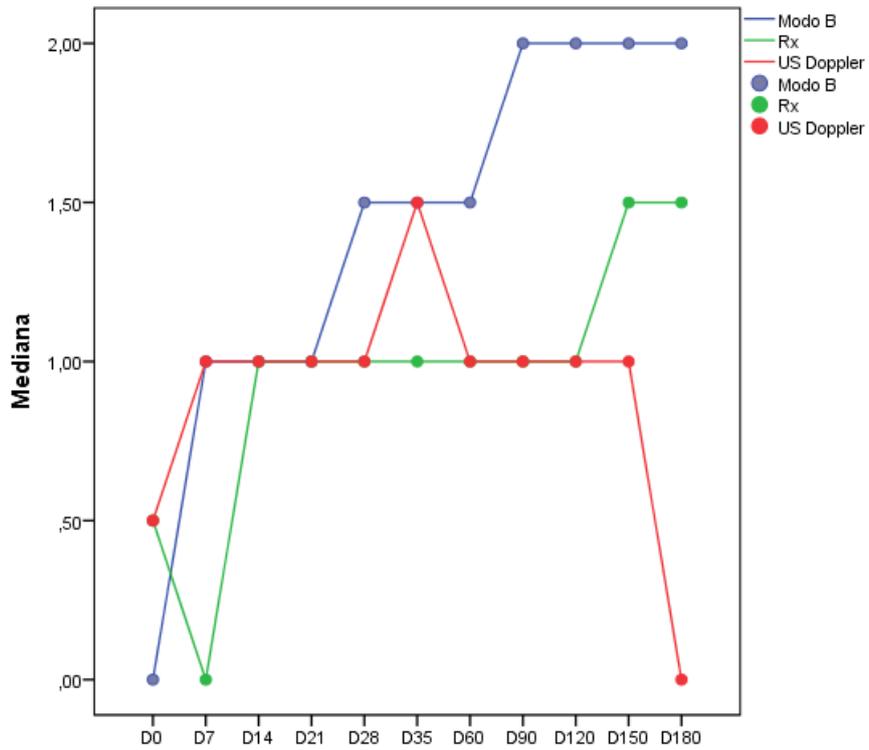


Tabela 5 – Tabela comparativa dos escores de raio-x, ultrassom modo B e Power Doppler (mediana) ao longo dos 180 dias de pós-operatório de ostectomia do III metacarpiano equino.

	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28	Dia 35	Dia 60	Dia 90	Dia 120	Dia 150	Dia 180	P
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Raio x	0,5 (0-1)	0 (0-1)	1 (0-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)	1,5 (1-2)	1,5 (1-2)	0,004
Modo B	0 (0-0)	1 (0-1)	1 (0-2)	1 (1-2)	1,5 (1-2)	1,5 (1-2)	1,5 (1-2)	2 (1-2)	2 (1-2)	2 (1-2)	2 (1-2)	0,001
Doppler	0,5 (0-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	1,5 (1-2)	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-1)	1 (0-1)	0 (0-0)	0,026

Dados apresentados pela mediana (mínimo e máximo) e comparados pelo teste de Friedman.

Figura 11– Comparação dos gráficos dos escores de raio-x, ultrassom modo B e Power Doppler (mediana) ao longo dos 180 dias de pós-operatório de ostectomia do III metacarpiano equino.



6 DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que o uso da ultrassonografia permite avaliar mais precocemente o processo de regeneração óssea de fraturas do que com a radiologia. Risselada *et al.* (2005), Risselada *et al.* (2007) e Marcondes *et al.* (2015) também obtiveram esse resultado em relação a cicatrização óssea de animais.

Escolha da espécie

Apesar de alguns estudos considerarem a espécie ovina como modelo experimental ortopédico para grandes animais (MARCONDES *et al.*, 2015; BACCARELI *et al.* 2016; PARETSIS *et al.* 2016), nem sempre tal modelo possui parâmetros adequados para a espécie de interesse final, para a qual se realiza o experimento, devido às diferenças anatômicas, biológicas e técnicas (LACRETA JR *et al.*, 2010).

Não existe uma relação bem estabelecida, muitas vezes, entre escolha do animal a ser usado experimentalmente e o tipo de estudo a ser realizado. Apesar de um planejamento adequado, equipamento e design experimental, quando se opta por um modelo animal inapropriado pode se chegar a uma informação seriamente enganosa (MARTINI *et al.*, 2001).

A utilização da espécie ovina tem suas vantagens. Por ser um animal menor, pode-se acomodar mais de um indivíduo em uma cocheira, sendo mais fácil sua contenção e manejo. Entretanto, são animais biungulados o que difere da espécie equina (monoungulados), por possuírem menor peso corporal, conseqüentemente seus membros iram sofrer menor força de tração no osso. Desta forma, foi optado pela espécie equina que era a espécie de interesse final. E através deste estudo, por exemplo, foi observado que existe uma diferença no tempo de cicatrização óssea quando comparado à espécie ovina, segundo dados publicados por Bacarelli *et al.* (2016) e Bacarelli *et al.* (2017), desta forma não podemos extrapolar dados de uma espécie para outra.

Manejo dos Animais

Em um primeiro momento, se supôs que trinta dias seriam suficientes para preparação dos animais para cirurgia. Entretanto, como os animais eram oriundos de abrigo municipal, chegavam debilitados e para atingirem um escore corporal e condições hematológicas para serem operados foi necessário um período maior de, no mínimo, 60 até 90 dias de estabulação. Diferente do que foi relatado por Nóbrega (2014), que utilizou 30 dias de adaptação para seu experimento. O período que antecede os procedimentos cirúrgicos é de vital importância para o animal se adaptar ao ambiente e forma de manejo do local, além de poder passar por avaliação completa para ver se esta apto a fazer parte do experimento. Dessa forma, se obtém resultados cientificamente mais confiáveis.

Além disso, foi necessária nova tricotomia na região cirúrgica, a partir da terceira avaliação ultrassonográfica, para proporcionar uma imagem mais limpa, sem artefatos. Os outros autores não descrevem esta questão. Mas para se obter uma imagem ultrassonográfica de qualidade, é necessária a tricotomia e uso gel condutor. Como o experimento foi longo, o crescimento de pelos ocorria na região cirúrgica, necessitando refazer a sua retirada de tempos em tempos.

Protocolo anestésico e analgésico

O protocolo utilizado foi considerado satisfatório, não havendo intercorrências durante as anestésias e nem manifestação de dor no pós-cirúrgico. Diferente de Selim (2013) e Nóbrega (2014) não foi utilizado bloqueio perineural alto; e ao invés de tramadol no término do procedimento foi aplicado morfina (0,1 mg/Kg). A analgesia com fenilbutazona (4,4 mg/kg) foi eficiente como já havia demonstrado Nóbrega (2014). Optamos pela morfina, por ela ser uma medicação já utilizada rotineiramente em medicina equina e pelo fato do tramadol, apesar de utilizado em alguns casos, ainda não possuiu trabalhos estabelecendo dose específica para espécie em questão. Os protocolos anestésicos que utilizaram o bloqueio foram os casos de ostectomia bilateral com colação de enxerto ósseo, como neste experimento era retirado apenas um fragmento ósseo, tendo tempo cirúrgico menor, optou-se por anestesia geral associada a um opioide no transcirúrgico.

Protocolo cirúrgico

O modelo cirúrgico foi similar ao utilizado por Selim (2013) e Nóbrega (2014), que utilizaram III metacarpiano de equino e defeitos ósseos de 11 mm e 13 mm, respectivamente. O modelo utilizado facilitou o acesso ósseo, tanto cirúrgico quanto das avaliações de imagem, já que é uma região com poucas estruturas anatômicas, além disso, sua manipulação não prejudicou a locomoção do animal. A pequena diferença no tamanho do defeito produzido no presente projeto em relação aos citados, não fragilizou o osso, permitindo o acompanhamento ao longo do tempo de análise sem intercorrências.

Ademais o III metacarpiano se enquadra nas características dos ossos mais comumente fraturados em equinos: ossos de região torácica, longos e metacarpo/ metatarso (WATKINS, 2006; JACKLIN & WRIGHT, 2012).

Snyder *et al.* (1987) recomendam o uso combinado de gentamicina ou amicacina associada com cefalosporina ou oxacilina para prevenção de complicação séptica depois de cirurgias ortopédicas equinas. Ahern *et al.* (2010) encontraram em seu estudo retrospectivo de infecção pós-operatória em fraturas de ossos longos e artrodeses de equinos na sua maioria culturas positivas mistas (40% dos casos). Sendo a bactéria mais comum isolada a *Enterobacter spp.*, assim como autores anteriores. Foi optado pela associação de gentamicina com penicilina, para ter uma cobertura ampla, mas não utilizamos maior dose, já que os procedimentos eram realizados assepticamente no bloco cirúrgico.

Avaliação clínica

O exame clínico diário serviu para monitorar os animais no pós-cirúrgico e avaliar se apresentavam algum desconforto ou dor. Apenas um animal apresentou uma claudicação leve, no segundo dia de pós-operatório, mas ao se aumentar a quantidade de maravalha da baia, o equino melhorou, não sendo necessária analgesia adicional. Dornbusch *et al.* (2010) e Selim (2013) relataram claudicação discreta nos dois membros operados. Nóbrega (2014) relatou que os animais apresentaram claudicação leve no 15º e 30º dia de pós-operatório, havendo regressão total até o 60º dia, entretanto, não especificou se era do membro controle ou do membro com enxerto ósseo. Paretsis *et al.* (2016) não observaram claudicação durante todo o período pós-operatório, entretanto tiveram um caso de fratura completa pós-ostectomia ovina.

Os cavalos não apresentaram alterações importantes nos parâmetros aferidos, o que sugere que o procedimento cirúrgico não causou desconforto nos animais e o protocolo analgésico/anti-inflamatório foi eficiente. Assim como Selim (2013) que também não relatou alterações de parâmetros fisiológicos nos cavalos que foram submetidos a ostectomia bilateral de IIIMtc com colocação de enxerto em uma falha com polímero a base de mamona.

Avaliação da ferida cirúrgica

A frequência de troca de curativo foi suficiente para monitorar a evolução da ferida cirúrgica e identificar pequenas complicações, como a deiscência de um ponto de sutura que ocorreu em um animal. Provavelmente, a presença de leve edema na região da sutura entre o quinto e nono dia de pós-operatório, em um paciente foi motivada por um pequeno trauma pós-operatório. A ausência de dor local corrobora com a ideia de que a cirurgia não causou desconforto importante e o protocolo analgésico/anti-inflamatório foi eficiente. Paretsis *et al.* (2016) utilizando o modelo experimental de ovino, relataram 4 casos com aumento de volume flutuante na região da ferida cirúrgica que ao ser drenada apresentou conteúdo compatível com transudato inflamatório. Enquanto Selim (2013) descreveu dor leve a palpação da ferida cirúrgica dos equinos.

Fosfatase alcalina

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ($P = 0,198$) na dosagem da FA sérica ao longo do tempo neste experimento. Entretanto, Nóbrega (2014) observou diferença em equinos submetidos a defeito ósseo semelhante, mas tratados com enxerto ósseo, sendo o pico da enzima atingido no 30º dia, seguido de sua diminuição gradativa. Em trabalhos com cães, se observou diferença no valor da FA sérica de fraturas com e sem cicatrização (KOMMENOU *et al.* 2005; SOUZA *et al.* 2011). E em humanos, Mukhopadhyay *et al.* (2011) observaram que a monitoração em série de hidroxiprolina urinária total e fosfatase alcalina sérica retrata o estado atual de formação e reabsorção óssea por um curto período de tempo.

Apesar de o valor da FA sérica ter variado bastante durante o período de avaliação, não houve significância estatística. Conforme Vieira (1999), a mensuração da atividade total da FA, durante muitas décadas, foi utilizada tanto em estudos hepáticos quanto

ósseos, presumindo que aumento da sua atividade total seria devido à isoenzima específica da patologia. Todavia, em situações onde se espera alterações sutis nos níveis séricos da dosagem da atividade total FA, torna-se obvio a perda da sua sensibilidade e especificidade. Como as avaliações eram realizadas, no primeiro momento a cada sete dias e depois a cada 30 dias, acreditamos que as alterações eram muito sutis, além disso, não dosamos a isoenzima específica óssea, o que seria o ideal, porque não se encontrou um laboratório nacional que pudesse fazer essa análise em equino, optando-se então por fazer a dosagem da FA sérica total.

Avaliação radiológica

O raio-x foi utilizado como um método auxiliar para avaliar a cicatrização da falha óssea. A análise periódica, semanal até os 35 dias de pós-operatório e depois a cada 30 dias permitiu um acompanhamento mais próximo da evolução do processo de reparação óssea. O uso de uma escala para avaliar a regeneração óssea permitiu fazer a posterior análise estatística dos dados, assim como já ocorreu em outros estudos como o de Thurmuller *et al.* (2002), Dornbusch *et al.* (2010) e Marcondes *et al.* (2015).

A última avaliação foi realizada aos 180 dias e os animais não apresentaram imagem radiológica ou ultrassonográfica de consolidação completa da falha. Por outro lado, Nóbrega (2014) em um estudo similar, identificou consolidação radiológica e ultrassonográfica aos 120 dias no seu grupo controle positivo. Entretanto, Selim (2013) não relatou completa cicatrização das falhas de 11 mm de diâmetro aos 120 dias e Paretsis *et al.* (2016) obtiveram preenchimento completo da falha óssea em 5 de 12 ovinos aos 60 dias de pós-operatório. Dornbusch *et al.* (2010) em um estudo utilizando enxerto ósseo em falha de 8mm no rádio não relataram esclerose perilesional máxima aos 180 dias.

Essa diferença de tempo cicatricial encontrada, pode ser decorrente do tamanho da falha confeccionada para experimento, que foi maior (14 mm) e com isso demandaria mais para tempo para a sua completa consolidação.

Avaliação ultrassonográfica

As avaliações ultrassonográficas através do modo B foram utilizadas como um método apoio de avaliação da cicatrização óssea. O ultrassom tem se mostrado uma técnica eficaz, de baixo custo e não invasiva para avaliação da cicatrização óssea (PETRA *et al.*, 2002). Segundo Maffulli & Thornton (1995) o exame seriado de ultrassonografia permite avaliar o processo de cicatrização da fratura in vivo, com similaridade entre as imagens e o que acontece da histologia da cicatrização de fraturas.

Os exames seriados e a utilização de escala em grau permitiu realizar análise estatística e comparar com as outras técnicas de avaliação (raio-x e ultrassom Power Doppler). O fato de não usar radiação ionizante permite com que o ultrassom seja usado para exames em série (DANIELS *et al.*, 2016). Podendo observar que os sinais de cicatrização óssea apareceram no 7º dia de pós-operatório, demonstrando ser uma técnica mais sensível que a radiologia, onde os primeiros sinais apareceram no 14º dia de pós-cirúrgico. Corroborando com os achados de Marcondes *et al.* (2015) e ChaChan *et al.* (2015).

Entretanto, Nóbrega (2014) somente visualizou sinais compatíveis a osso no 30º dia de pós-operatório. Talvez pelo fato de utilizarmos três avaliadores experientes na área de imagem isso possa ter fornecido uma informação mais fidedigna em relação às análises de imagem.

Avaliação Power Doppler

Este método também foi empregado por outros autores para avaliar a cicatrização de fraturas em animais (RISSELADA *et al.* 2006; RISSELADA *et al.* 2007; DORIA *et al.* 2007; POZZI *et al.*, 2012; RAHIMZADEH *et al.*, 2012; NÓBREGA, 2014; BACARELLI *et al.*, 2016; BACARELLI *et al.*, 2017). Em pequenos animais, a neovascularização durante a cicatrização óssea de ossos longos pode ser visibilizada através Power Doppler sendo utilizada como um indicador da progressão da cicatrização da fratura. A neovascularização pode ser acompanhada usando venografia intraóssea ou cintilografia, entretanto, esses métodos necessitam de sedação e anestesia geral, tornando-os menos práticos na medicina veterinária (RISSELADA *et al.* 2006).

Durante o acompanhamento do pós-operatório de grandes animais submetidos à reparação de fratura, a possibilidade de detecção da formação de novos vasos pode trazer importantes contribuições, particularmente para prognóstico (BACARELLI *et al.*, 2007).

A presença de neovascularização no local onde foi retirado o fragmento ósseo foi visualizada no sétimo dia de pós-operatório, seguido de um pico no 35º dia e posterior queda de sinais de vasos na falha, do 60º ao 150º dia, até a ausência de vascularização na última avaliação (180 dias). No entanto, na mesma espécie, Nóbrega (2014) observou os primeiros sinais no 15º dia de pós-operatório no membro controle. Assim como Rahimzadeh *et al.* (2012) que também obtiveram sinais de neovascularização aos 15 dias em coelhos, que receberam enxerto ósseo. Já Bacarelli *et al.* (2016) e Bacarelli *et al.* (2017), visualizaram neovascularização no local da fratura a partir 14º em ovinos.

Risselada *et al.* (2006) não observaram sinais de neovascularização nos primeiros dez dias em fraturas tratadas (coaptação externa a osteossíntese em placa) de ossos longos de cães e gatos analisadas com ultrassonografia power doppler. O surgimento de novos vasos seguiu um padrão tempo dependente de desenvolvimento, aparecendo nos primeiros 20 dias e desaparecendo nos 60 dias seguintes. No entanto, em apenas um cão foram observados sinais vasculares na fratura antes dos 10 dias. Ele tinha apenas três meses de idade e era o mais jovem do grupo. Em outro experimento, Risselada *et al.* (2007) identificaram sinais iniciais de vascularização na primeira avaliação com PD, em 9 animais (nas primeiras 4-5 semanas de pós-operatório) e 14 animais (7-8 semanas de pós-operatório).

Risselada *et al.* (2007) não visualizaram sinais de PD no momento imediato do pós cirúrgico de cães após osteossíntese de placa. Da mesma forma, não identificamos sinais no dia 0. O que era esperado visto que a lesão era recente e não daria tempo para haver o processo de inflamação inicial da cicatrização óssea.

A visualização precoce encontrada neste trabalho talvez se deva além da diferença da espécie (especificidade), pela tecnologia mais avançada utilizada, o que favoreceria a visualização mais prematura da neovascularização. A utilização de três avaliadores experientes na área de imagem pode ter auxiliado também na obtenção mais precisa dos dados.

Avaliadores

A diferença estatística encontrada entre os avaliadores foi para a avaliação da ultrassonografia modo B. Marcondes *et al.*(2015) também encontraram diferença estatística entre os avaliadores mas em relação aos exames de radiologia. Assim como eles, acreditamos que seja porque a avaliação é subjetiva. Logo poderia haver esse tipo de achado. Tentamos minimizar os efeitos subjetivos das avaliações dos exames, fornecendo aos avaliadores além das imagens frisadas de ultrassom modo B e Doppler, pequenos vídeos. E no caso da radiologia o programa da Agfa® para manipulação da imagem.

Considerações finais

Os resultados obtidos neste estudo podem ser utilizados tanto a nível experimental (estudos de ortopedia, aplicação de enxertos etc.) quanto na rotina clínica equina, já que o exame ultrassonográfico além de não invasivo, de baixo custo, permite avaliação seriada da lesão. Sugerimos o emprego da técnica de US PD em cavalos pós-osteossíntese, como já relatado em pequenos animais e ovinos, a técnica permite identificar retardo na cicatrização óssea e assim o cirurgião pode trocar a terapêutica aplicada ou até mesmo reintervir se possível, aumentando o prognóstico de êxito do caso.

7 CONCLUSÕES

Através do modo B e do Power Doppler consegue-se avaliar a formação do calo ósseo antes do raio-x em equinos.

A quantidade dos vasos, visualizada na ultrassonografia Power Doppler em equinos, parece seguir um padrão tempo dependente de desenvolvimento, sendo seu surgimento nos primeiros sete dias, com um pico no 35º dia e seu desaparecimento nos 180 dias.

O Power Doppler permite a visualização da neovascularização do calo ósseo e essa informação pode auxiliar na detecção de fraturas que terão cicatrização tardia, permitindo desta forma uma mudança de protocolo terapêutico.

REFERÊNCIAS

- AHERN, B.J.; RICHARDSON, D.W.; BOSTON, R.C et al. Orthopedic Infections in Equine Long Bone Fractures and Arthrodeses Treated by Internal Fixation: 192 cases (1990-2006). **Veterinary Surgery**, v.39, p. 588-593, 2010.
- AUGAT, P.; MORGAN, E.F.; LUJAN, T.J. et al. Imaging Techniques for the Assessment of Fracture Repair. **Injury**, v. 45, p. 16-22, 2014.
- BACCARELLI, D.C. **Dissertação Mestrado**: Avaliações Termográfica e Ultrassonográfica Power Doppler de Falhas Ósseas Induzidas em Tíbias de Ovinos. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, PPGCCV, 2016. 72p.
- BACHMANN, L.M. et al. Accuracy of Ottawa Ankle Rules to Exclude Fractures of the Ankle e Mid-Foot: Systematic Review. **BMJ**, v. 327, n. 7405, p. 1-7, 2003.
- CARUSO, G.; LAGALLA, R.; DERCHI, L. et al. Monitoring of Fracture Calluses with Color Doppler Sonography. **Journal of Clinical Ultrasound**, v.28, n. 1, p.20-27, 2000.
- CHACHAN, S.; TUDU, B.; SAHU, B. Ultrasound Monitoring of Fracture Healing: Is This the End of Radiography in Fracture Follow-ups? **Journal Orthopaedic Trauma**, v.29, n. 3, p.133-138, 2015.
- CHEN, Y.; LIN, Y.; WANG, S. et al. Monitoring Tissue Inflammation and Responses to Drug Treatments in Early Stages of Mice Bone Fracture Using 50 MHz Ultrasound. **Ultrasonics**, v.54, p. 177-186, 2014.
- CRAIG, J.G.; JACOBSON, J.A.; MOED, B.R. Ultrasound of Fracture and Bone Healing. **Radiologic Clinics of North America**, v. 37, n.4, p.737-751, 1999.
- CRAWFORD, W.H.; FRETZ, P.B. Long Bone Fractures in Large Animals a Retrospective Study. **Veterinary Surgery**, v.14, n.4, p. 295-302, 1985.
- DANIELS, C.S.; WELK, A.B.; ENIX, D.E. Diagnostic Ultrasonography of an Ankle Fracture Undetectable by Conventional Radiography: A Case Report. **Journal of Chiropractic Medicine**, v. 15, p.35-41, 2016.
- DORIA, A.S.; CUNHA, F.G.; MODENA, M. et al. Effect of Intertrochanteric Osteotomy on the Proximal Femur of Rabbits: Assessment of Power Doppler Sonography and Scintigraphy. **Clinics**, v. 62, n. 6, p.741-748, 2007.
- DORNBUSCH, P.T.; DE ARAÚJO, I.G.R.; TASQUETTI, U.Y. et al. Avaliação Radiográfica da Aplicação de Polímero de Mamona em Falhas ósseas Induzidas em Equinos. **Archives of Veterinary Science**, v.15, n.1, p. 1-8, 2010.
- FOLTZ, V.; GANDJBAKHCH, F.; ETCHEPARE, F. et al. Power Doppler Ultrasound, but Not Low-Field Magnetic Resonance Imaging, Predicts Relapse and Radiographic Disease Progression in Rheumatoid Arthritis Patients With Low Levels of Disease Activity. **Arthritis & Rheumatism**, v.64, n.1, p.67-76, 2012.

- GEBUREK, F; ROTTING, A.K.; STADLER, P.M. Comparison of the Diagnostic Value of the Ultrasonography and Standing Radiography. **Veterinary Surgery**, v.38, n.31, p. 310-317, 2009.
- HEDELIN, H. et al. Ultrasound-Assisted Triage of Ankle Trauma can Decrease the Need for Radiographic Imaging. **American Journal of Emergency Medicine**, v. 31, p.1686-1689, 2013.
- JACKLIN, B.D.; WRIGHT, I.M. Frequency Distributions of 174 fractures of the Distal Condyles of the Third Metacarpal and Metatarsal Bones in 167 Thoroughbred Racehorses (1999-2009). **Equine Veterinary Journal**, v.44, p. 707-713, 2012.
- KACHEWAR, S.G.; KULKARNI, D.S. Utility of Diagnostic Ultrasound in Evaluating Fracture Healing. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v.8, n.3, p.179-180, 2014.
- KOMNENOU, A. et al. Correlation of Serum Alkaline Phosphatase Activity with the Healing Process of Long Bone Fractures in Dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v.34, n.1, p. 35-38.
- LACRETA JR, A.C.C. et al. Modelo Experimental de Falha Óssea por Meio de Ostectomia do Rádio de Coelhos. **Biotemas**, v.23, n.3, p.149-157, 2010.
- MAFFULLI, N.; THORNTON, A. Ultrasonographic Appearance of External Callus in Long-Bone Fractures. **Injury**, v. 26, n.1, p. 5-12, 1995.
- MAITY, I. et al. Monitoring of Healing by Ultrasound with Color Power Doppler After Root Canal Treatment of Maxillary Anterior Teeth with Periapical Lesions. **Journal of Conservative Dentistry**, v.14, n. 3, p.252-257, 2011.
- MALGHEM, J. et al. Costal Cartilage Fractures as Revealed on CT and Sonography. **American Journal of Roentgenology**, v.176, n.2, p.429-432, 2001.
- MARCONDES, G.M. et al. Utilização de Métodos Não Invasivos de Imagem para Avaliação da Regeneração Óssea em Falhas Ósseas Induzidas Experimentalmente em II/IV Metacarpianos de Ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 43, n. 1319, p. 1-8, 2015.
- MARCOLONGO-PEREIRA, C. et al. Doenças de Equinos na Região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 205-210, 2014.
- MATOS, P. Regras de Ottawa para o Tornozelo (Ottawa Ankle Rules). **Revista de Medicina Desportiva in forma**, v. 1, n.6, p. 6-7, 2010.
- MUKHOPADHYAY et al. Role of Common Biochemical Markers for the Assessment of Fracture Union. **Indian Journal Clinical Biochemistry**, v.26, n.3, p.274-278.
- NÓBREGA, F.S. **Tese Doutorado**: Avaliação da Interação Biológica entre o Polímero de Poliuretano de Mamona Acrescido de Carbonato de Cálcio e Tecido Ósseo de Equinos. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, PPGCCV, 2014. 156p.

ORSINI, J.A. A Fresh Look at the Process of Arriving at a Clinical Prognosis Part 4: Fractures. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.32, p. 129-138, 2012.

OWENS, J.M.; BIERY, D.N. Extremities. **Radiographic Interpretation for the Small Animal Clinician**. 2 ed., USA, 1999.

PAGANINI, F.; ALLENDE, C.; MARCHEGIANI, S. Valor de la Ecografía em el Seguimiento de los Procesos de Consolidación de Fracturas y Seudoartrosis. **Revista Asociacion Argentina Ortopedia Traumatologia**, n.1, p.82-87, 2010.

PARETSIS, N.F.; BACCARELLI, D.C.; LHAMAS, C.L. et al. Ostectomia de Tíbia em Modelo Experimental Ovino para Estudo de Regeneração Óssea. **Ars Veterinária**, v.32, n.1, p.001-008, 2016.

PIEREZAN, F.; RISSI, D.R.; RECH.R.R. et al. Achados de necropsia relacionados com a morte de 335 equinos: 1968-2007. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, p.275-280, 2009.

POZZI, A.; RISSELADA, M.; WINTER, M.D. Assessment of Frature Healing after Minimally Invasive Plate Osteosynthesis or Open Reduction and Internal Fixation of Coexisting Radius and Ulna Fractures in Dogs Via Ultrasonography and Radiography. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.241, n.6, p.744-753, 2012.

RAHIMZADEH, R. et al.; Value of Color Doppler ultrasonography and radiography for de assessment of the cancellous bone scaffold coated with nano-hydroxyapatite in repair of the radial bone in rabbit. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.27, n.2, 2012.

RAJENDRAN, N.; SUNDARESAN,B. Efficacy of Ultrasound and Color Power Doppler as a Monitoring Tool in the Healing of Endodontic Periapical Lesions. **Journal of Endodontics**, v.33, n. 2, p. 181-186, 2007.

RAWOOL, N.M. eta al. Power Doppler Assessment of Vascular Changes During Fracture Treatment with Low Intensity Ultrasound. **Journal Ultrasound in Medicine**, v.22, n.2, p. 145-153, 2003.

REEF, V.B.; WHITTIER, M.; ALLAM, L.G. Muscle and Bone Ultrasonography. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v.3, p. 268-273, 2004.

RISSELADA, M.; KRAMER, M.; VAN BREE, M. Approches for Ultrasonographic Evaluation of Long Bones in the Dog. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.44, n.2, p. 214-220, 2003.

RISSELADA, M. et al. Ultrasonographic and Radiographic Assesment of Uncomplicated Secondary Frature Healing of Long Bones in Dogs and Cats. **Veterinary Surgery**, v.34, p. 99-107, 2005.

RISSELADA, M. et al. Power Doppler Assessment of the Neovascularization During Uncomplicated Fracture Healing of Long Bones in Dogs and Cats. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.47, n.3, p. 301-306, 2006.

RISSELADA, M.; VAN BREE, H.; KRAMER, M. et al. Ultrasonographic Assessment of Fracture Healing After Plate Osteosynthesis. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.48, n.4, p. 368-372, 2007.

SÁ, M.J.C; RAISER, A.G.; GODOY, C.L.B. et al. Fixação Externa em Fratura Completa de Metacarpo em Potros. **Ciência Rural**, v.27, n.3, p.429-433, 1997.

SANTOS, H.C.O.; DO AMARAL, W.N. A História da Ultrassonografia no Brasil, 2012
 acesso março 2017
<http://www.doutormedicamentos.com.br/wm/admin/upload/1103114623livro-ultrassonografia.pdf>

SARRAFIAN et al. A Nonterminal Equine Mandibular Model of Bone Healing. **Veterinary Surgery**, v.9999, p.1-9, 2014.

SEEBECK, P. et al. Do Serological Tissue Turnover Markers Represent Callus Formation During Fracture Healing? **Bone**, v.37, p. 669-677, 2005.

SELIM, M.B **Dissertação Mestrado**: Avaliação Estrutural do Osso Terceiro Metacarpiano Frente à Implantação de Biopolímero a Base de Mamona. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, PPGCCV, 2013. 122p.
 2013

SHEPHERD, M.C.; PILSWORTH, R.C. The Use of Ultrasound in the Diagnosis of Pelvic Fractures. **Equine Veterinary Education**, v.6, n.4, p.223-227, 1994.

SNYDER, J.R.; PASCOE, J.R; HIRSH, D.C. Antimicrobial Susceptibility of Microorganisms Isolated from Equine Orthopedic Patients. **Veterinary Surgery**, v.16, n.3, p.197-201,1987.

SU, H.Q.; ZHUANG, X.Q.; BAI, Y. et al. Value of Ultrasonography for Observation of Early Healing of Humeral Shaft Fractures. **Journal of Medical Ultrasonics**, v.40, n.3, p.231-236, 2013.

SWOR, T.M.; WATKINS, J.P. Adult Ortopedic Emergencies. In: ORSINI, J.A.; DIVERS, T.J. **Equine Emergencies: Treatment and Procedures**. 3 ed., Elsevier, 2005.

THURMULLER, P.; TROULIS, M.; O'NEILL, M.;J. et al. Use of Ultrasound to Assess Healing of a Mandibular Distraction Wound. **Journal of Oral Maxillofacial Surgeons**, v. 60, p. 1038-1044, 2002.

TOMLINSON, J.E.; SAGE, A.M.; TURNER,T.A. Ultrasonographic Abnormalities Detected in the Sacroiliac Area in Twenty Cases of Upper Hindlimb Lameness. **Equine Veterinary Journal**, v. 35, n.1, p. 48-54, 2003.

TURK, F; KURT, A.B.; SAGLAM, S. Evaluation by Ultrasound of Traumatic Rib Fractures Missed by Radiography. **Emergency Radiology**, v.17, p.473-477, 2010.

TIKKU, A.P.; KUMAR, S.; LOOMBA, K. et al. Use of Ultrasound, Color Doppler Imaging and Radiography to Monitor Periapical Healing After Endodontic Surgery. **Journal of Oral Science**, v. 52, n. 3, p. 411-416, 2010.

VIEIRA, J.G.H. Considerações sobre os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo e sua utilidade prática. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia**, v.43, n.6, p. 415-422, 1999.

WALKER, W.T.; WERPY, N.M.; GOODRICH, L.R. Procedure for the Transrectal e Transcutaneous Ultrasonographic Diagnosis of Pelvic Fractures in the Horse. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n.4, p. 222-230, 2012.

WALLIN, et al. Estimates of Longevity and Causes of Culling and Death in Swedish Warmblood and Coldblood Horses. **Livestock Production Science**, v.63, p.275-289, 2000.

WATKINS, J.P. Etiology, Diagnosis, and Treatment of Long Bone Fractures in Foals. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v.5, n. 4, p. 296-308, 2006.

WAWRZYK, M. et al. The Role of Ultrasound Imaging of Callus Formation in the Treatment of Long Bone Fractures in Children. **Polish Journal of Radiology**, n.80, p. 473-478, 2015.

APÊNDICE A

Ficha de Exame Clínico e Avaliação da Ferida Cirúrgica

Nome: Idade:anos N° Ficha: Data:

TURNO:	
FC:	bpm
FR:	rpm
TR:	°C
Coloração de mucosas:	
TPC:	segundos
Turgor de pele:	segundos
Temperatura dos cascos:	Pulso digital palmar/plantar:
OBS:	

Avaliação da Ferida Cirúrgica:

Sutura:

Pontos íntegros () Pontos abertos () Quantos?

Presença de exsudato:

Sim () Tipo? Sanguinolento () Serosanguinolento () Seroso () Purulento ()

Não ()

Quantidade de exsudato:

Nenhuma () Escassa () Pequena () Média () Grande ()

Presença de edema:

Sim () Não ()

Presença de eritema:

Sim () Não ()

Presença de dor local:

Sim () Não ()

Presença de Necrose:

Sim () Não ()

ANEXO 1

Ficha de solicitação de hemograma e leucograma do LACVet



Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Faculdade de Veterinária
Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias

Av. Bento Gonçalves, 9090, Porto Alegre, RS, 91540-000 Fone: 3308-8033. Fax: 3308-8034. E-mail: favet_lacvet@ufrgs.br

REQUISIÇÃO DE EXAMES LABORATORIAIS

Exame n°:

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

 Rotina Hospitalizado Externo

Espécie: EQUINA	Raça:	Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	Idade:
Data:	Ficha n°:	Nome:	
Proprietário:	Fone:	Médico Veterinário:	
Diagnóstico provisório:	Tratamento:		

 HEMOGRAMA (Valores de referência para a espécie EQUINA)

 HEMATÓCRITO

Eritrócitos ($\times 10^9/\mu\text{L}$):	(7,5 a 10,0)	Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$):	(100 a 350)	Morfologia e observações adicionais:
Hemoglobina (g/dL):	(10,0 a 14,0)	<input type="checkbox"/> amostra com fibrina/agregação plaquetária		
Hematócrito (%):	(29 a 43)	Proteína plasmática total (g/L):	(56 a 88)	
VCM (fL):	(37 a 58,5)	RDW (%):	(17 a 22)	
CHCM (%):	(31 a 37)	Eritroblasto (/100 leucócitos):		
Leucócitos totais ($/\mu\text{L}$):	(5800 a 13200)			ERITRÓCITOS Anisocitose: <input type="checkbox"/> 1+ <input type="checkbox"/> 2+ <input type="checkbox"/> 3+ Poiquilocitose: <input type="checkbox"/> 1+ <input type="checkbox"/> 2+ <input type="checkbox"/> 3+ Corpúsculos de Howell-Jolly <input type="checkbox"/> 1+ <input type="checkbox"/> 2+ <input type="checkbox"/> 3+
	RELATIVO (%)	ABSOLUTO ($/\mu\text{L}$)		
Mielócitos		(zero)		LEUCÓCITOS Neutrófilos tóxicos: <input type="checkbox"/> 1+ <input type="checkbox"/> 2+ <input type="checkbox"/> 3+ <input type="checkbox"/> 4+ <input type="checkbox"/> Neutrófilos hipersegmentados Linfócitos reativos: <input type="checkbox"/> 1+ <input type="checkbox"/> 2+ <input type="checkbox"/> 3+ Monócitos ativados: <input type="checkbox"/> 1+ <input type="checkbox"/> 2+ <input type="checkbox"/> 3+
Metamielócitos		(zero)		
Neutr. Bastonetes		(0 a 70)		
Neutr. Segmentados		(2900 a 7000)		
Eosinófilos		(0 a 600)		
Basófilos		(0 a 60)		
Monócitos		(0 a 500)		
Linfócitos		(2000 a 7500)		

OUTROS EXAMES (Valores de referência para a espécie EQUINA)

<input type="checkbox"/> TP (Tempo de Protrombina):	(< 10 segundos)	<input type="checkbox"/> TTPa (Tempo de Tromboplastina Parcial ativada):	(segundos)
<input type="checkbox"/> FIBRINOGENÍO (g/L):	(2 a 4)		

EXAMES BIOQUÍMICOS (Valores de referência para a espécie EQUINA)

<input type="checkbox"/> Albumina:	(27 - 38 g/L)	<input type="checkbox"/> FA:	(< 395 U/L)	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> ALT:	(0 - 23 U/L)	<input type="checkbox"/> Fósforo:	(2,91 - 5,88 mg/dL)	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> AST:	(102 - 612 U/L)	<input type="checkbox"/> Glicose:	(77 - 132 mg/dL)	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Cálcio:	(10 - 14 mg/dL)	<input type="checkbox"/> Globulinas:	(24 - 53 g/L)	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Colesterol:	(80 - 250 mg/dL)	<input type="checkbox"/> Proteína total:	(54 - 86 g/L)	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> CPK:	(67 - 540 U/L)	<input type="checkbox"/> Ureia:	(24 - 54 mg/dL)	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Creatinina:	(1,2 - 1,8 mg/dL)	<input type="checkbox"/> Frutosamina	$\mu\text{mol/L}$	<input type="checkbox"/>

Tipo de material: Plasma (EDTA) Soro Outro: Observações: Discreta Ictérica Hemólise Lipemia

Outras obs.:

CRMV/RS:	CRMV/RS:
Assinatura do(s) responsável(is) pela realização do exame	

ANEXO 2

Carta de aprovação da CEUA

Prezado Pesquisador MARCELO MELLER ALIEVI,

Informamos que o projeto de pesquisa Ultrassonografia Power Doppler no acompanhamento de defeitos ósseos induzidos em metacarpos de equinos, encaminhado para análise em 23/06/2017, foi aprovado no(a) Comissão de Ética no Uso de Animais com o seguinte parecer:

O Projeto: 33515 - Ultrassonografia Power Doppler no acompanhamento de defeitos ósseos induzidos em metacarpos de equinos. Coordenado pelo professor MARCELO MELLER ALIEVI e da aluna de doutorado FLAVIA UMPIERRE BUENO. Serão utilizados seis equinos adultos hígidos, machos, castrados, sem raça definida, provenientes do Abrigo de Grandes Animais da Empresa Pública de Transporte e Circulação (EPTC) da Prefeitura Municipal de Porto Alegre, da ONG Chicote Nunca Mais e/ou de eventuais doações para o HCV-UFRGS. Os animais ficarão internados no Setor de Grandes Animais do HCV UFRGS e o tempo de adaptação será de no mínimo 30 dias, onde receberão água ad libitum, alfafa e ração concentrada, conforme seu peso, para dieta de manutenção. Os animais permanecerão internados nas instalações durante todo o experimento. Após o término do experimento os animais serão devolvidos ao seu local de origem ou colocados à doação conforme as regras utilizadas pelo HCV-UFRGS.

CEUA/UFRGS

Atenciosamente,

Comissão de Ética no Uso de Animais