

Farinha de algas marinhas (“*Lithothamnium calcareum*”) como suplemento mineral na cicatrização óssea de autoenxerto cortical em cães

Seaweed flour (“Lithothamnium calcareum”) as a mineral supplement in the bone healing of a cortical autograft in dogs

COSTA NETO, João Moreira^{1*}; TEIXEIRA, Raquel Graça²; SÁ, Marcelo Jorge Cavalcanti de³; LIMA, Alessandra Estrela¹; JACINTO-ARAGÃO, Glauber Sergio⁴; TEIXEIRA, Marcelo Weinstein⁵; MARTINS FILHO, Emanuel Ferreira⁶; TORÍBIO, Julia Morena de Miranda Leão²; AZEVEDO, Adílio Santos de⁷

¹Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária, Departamento de Patologia e Clínicas, Salvador, Bahia, Brasil.

²Médica Veterinária, Autônoma, Salvador, Bahia, Brasil.

³Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

⁴Médico Veterinário, Autônomo, Paraíba, Brasil.

⁵Universidade Federal Rural de Pernambuco, Escola de Medicina Veterinária, Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Pernambuco, Brasil.

⁶Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos, Salvador, Bahia, Brasil.

⁷Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

*Endereço para correspondência: jmcn@ufba.br

RESUMO

Foi avaliada, em cães, a influência da farinha de algas marinhas (*Lithothamnium calcareum*) como suplemento mineral na cicatrização de falha óssea cortical reconstituída com autoenxerto cortical. Foram utilizados dez cães adultos, machos, sem raça definida, com peso entre 10 e 15kg. O enxerto, constituído de um bloco cilíndrico de osso cortical foi obtido da diáfise proximal da ulna, mediante ostectomia com trefina de oito milímetros de diâmetro. Igualmente criada, a falha óssea, localizada na região crânio-medial da diáfise proximal da tibia ipsolateral, serviu como leito receptor. Efetuou-se separação aleatória em dois grupos experimentais, com cinco animais cada. Um grupo recebeu suplementação mineral diária à base de farinha de algas marinhas por 30 dias consecutivos, e o outro serviu como controle. Foram feitas avaliações clínicas, radiográficas e histopatológicas da evolução da cicatrização óssea. Concluiu-se que a suplementação à base de algas marinhas *Lithothamnium calcareum* contribuiu para um melhor desempenho

cicatrizal, uma vez que tanto o grau de radiopacidade como o número de osteoclastos foram maiores nos animais tratados.

Palavras-chave: fratura, ortopedia, osso, nutrição

SUMMARY

The influence of the seaweed flour (*Lithothamnium calcareum*) was evaluated as a mineral supplement in during healing of bone failure reconstructed with a cortical autograft. Ten adult male mongrel dogs, weighing between 10 and 15kg, were used. The graft made of a cylinder block of the cortical bone was obtained by the ulna proximal diaphysis by ostectomy with a trephine of eight millimeters. In the same way, it was created a bone failure located in the middle-skull region of the proximal diaphysis of the ipsolateral tibia, and it served as a receptor bed. Two experimental groups were formed randomly, with five

animals each. One group received a daily mineral supplement of seaweed flour for 30 consecutive days, and the other served as a control group. Clinical, radiological, and histopathological evaluations of bone healing were performed. Mineral supplementation with seaweed flour (*Lithothamnium calcareum*) contributed to a better cicatricial performance, since both the degree of radiopacity and the number of osteoclasts were higher in treated animals.

Keywords: bone, fracture, nutrition, orthopedy

INTRODUÇÃO

A consolidação de fraturas muitas vezes é considerada dificultosa, em decorrência de significativas perdas teciduais. Diante disso, são exigidos procedimentos cirúrgicos reconstrutivos, que têm na enxertia óssea seu principal método de tratamento, e que preenchem ou unem o defeito com material osteogênico, osteoindutivo e/ou osteocondutivo (MARTINEZ & WALKER, 1999; SANTOS & RAHAL, 2004; DEL CARLO et al., 2007). Existe uma relação dinâmica entre trauma, nutrição e imunidade. O animal traumatizado apresenta um aumento do catabolismo e das necessidades nutricionais, estado denominado hipermetabolismo. A associação desses fatores culmina num acelerado consumo de energia e em perda das reservas nutricionais do organismo (PAREIRA, 2007; BRUNETTO et al., 2007).

A abordagem nutricional no período de regeneração tecidual requer dieta e ingestão calórica adequada, uma vez que os nutrientes ingeridos somente serão utilizados para essas funções metabólicas quando satisfeita a demanda energética para a manutenção normal do organismo. Em geral, esses animais necessitam de maiores exigências energéticas, quando

comparados aos hígidos (PAREIRA, 2007).

Os desequilíbrios minerais têm sido amplamente estudados, com resultados promissores, não somente para prevenir, mas também para curar enfermidades de origem nutricional (ROUSSEL, 2000).

A farinha ou granulado de algas marinhas tipo *Lithothamnium calcareum* é um suplemento nutricional mineral, orgânico, de fonte renovável, alimentar, equilibrado, composto basicamente por carbonato de cálcio e magnésio. Também possui mais de 20 oligoelementos, presentes em quantidades variáveis, tais como Fe, Mn, B, Ni, Cu, Zn, Mo, Se e Sr e que agrega mais de 20 nutrientes à nutrição animal. Devido à origem orgânica, os nutrientes contidos na farinha de algas marinhas são de fácil absorção pelo organismo animal e suprem eficazmente deficiências nutricionais (ALGAREA, 1997).

Embora vários estudos relatem os benefícios desse suplemento nutricional em espécies destinadas à produção (ALGAREA, 1997; MELO et al., 2008), ainda não existem relatos de sua utilização para suplementação da alimentação de animais de companhia. Dessa forma, objetivou-se com este trabalho estudar a influência da farinha de algas marinhas (Algarea Mineração LTDA) como suplemento mineral na cicatrização de falha óssea cortical reconstituída com autoenxerto cortical em cães.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi executado após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Campina Grande, sob o protocolo n.07/2006.

Foram utilizados dez cães adultos, machos, sem raça definida, clinicamente saudáveis, com peso entre 10 e 15Kg. Os animais passaram por um período de observação clínica de 30 dias, foram vermifugados, receberam vacina antirrábica, alimentação balanceada comercial e água *ad libitum*.

No pré-operatório, os animais foram submetidos a jejum sólido por oito horas e líquido por duas horas. Aproximadamente 30 minutos antes da cirurgia, receberam cefalotina sódica (Glaxo do Brasil S.A.) na dose de 30mg/kg por via intravenosa (IV) e cetoprofeno (Merial Saúde Animal Ltda) na dose de 1mg/kg via intramuscular (IM). Como medição pré-anestésica, os animais receberam acepromazina (Univet S.A.) e meperidina (Dolosal – Cristália), nas doses de 0,05mg/kg e 4mg/kg, respectivamente, associadas na mesma seringa, via intramuscular (IM). Quinze minutos após a administração da medicação pré-anestésica, realizou-se tricotomia nos membros torácico e pélvico direitos e ato contínuo. A anestesia geral foi induzida com tiopental sódico (Thionembutal – Abbott) na concentração de 2,5% e dose de 12,5mg/kg, IV. A manutenção anestésica foi realizada com isoflurano (Cristália Ltda) e oxigênio 100%, em circuito semiaberto, com respiração espontânea.

Os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo e tiveram os membros preparados para cirurgia asséptica. Na primeira etapa, procedeu-se à obtenção do enxerto ósseo e foi realizada uma incisão de pele na face lateral da diáfise proximal da ulna com aproximadamente cinco centímetros de comprimento. O tecido subcutâneo e a fáscia antebraqueal profunda foram incisados entre os músculos flexores carpo-radial e digital superficial, e a

ulna foi exposta..A fáscia muscular foi longitudinalmente incisada, e a ostectomia foi realizada com trefina de 8mm de diâmetro sob irrigação constante com solução fisiológica a 0,9%. Foi coletado um fragmento ósseo cilíndrico de aproximadamente 7mm de diâmetro e 5mm de espessura (Figura 1A e B). Após a retirada, o fragmento ósseo foi mantido em cuba estéril com solução fisiológica a 0,9%. A fáscia muscular foi suturada com pontos separados simples mediante catgut cromado 3-0 (Brasmédica S.A). A fáscia antebraqueal foi suturada de forma contínua com catgut cromado 3-0, seguida por redução de espaço morto com padrão de sutura simples contínua, por meio de fio catgut cromado 3-0. A dermorráfia foi realizada com pontos simples e fio de mononáilon 3-0 (Johnson e Johnson Ltda).

Ato contínuo, foi realizado procedimento cirúrgico para enxertia no membro pélvico homolateral. Uma incisão de pele foi realizada na região crânio-medial da diáfise proximal da tíbia. O tecido subcutâneo e a fáscia crural foram incisados para exposição dos músculos flexor digital medial e tibial cranial. Os músculos foram separados para se ter acesso à região diafisária proximal da tíbia. Foi feita uma incisão longitudinal na fáscia muscular, e a ostectomia foi realizada mediante trefina de 8mm de diâmetro na diáfise proximal da tíbia (Figura 1C), ao mesmo tempo em que a região era irrigada com solução salina a 0,9% até a retirada completa do fragmento. Em seguida, o enxerto cortical autógeno de ulna foi introduzido no defeito provocado na cortical da tíbia que media aproximadamente 8mm de diâmetro e 0,5cm de profundidade, o que ocasionou uma falha óssea de aproximadamente um milímetro entre o enxerto e o osso do animal (Figura 1D).

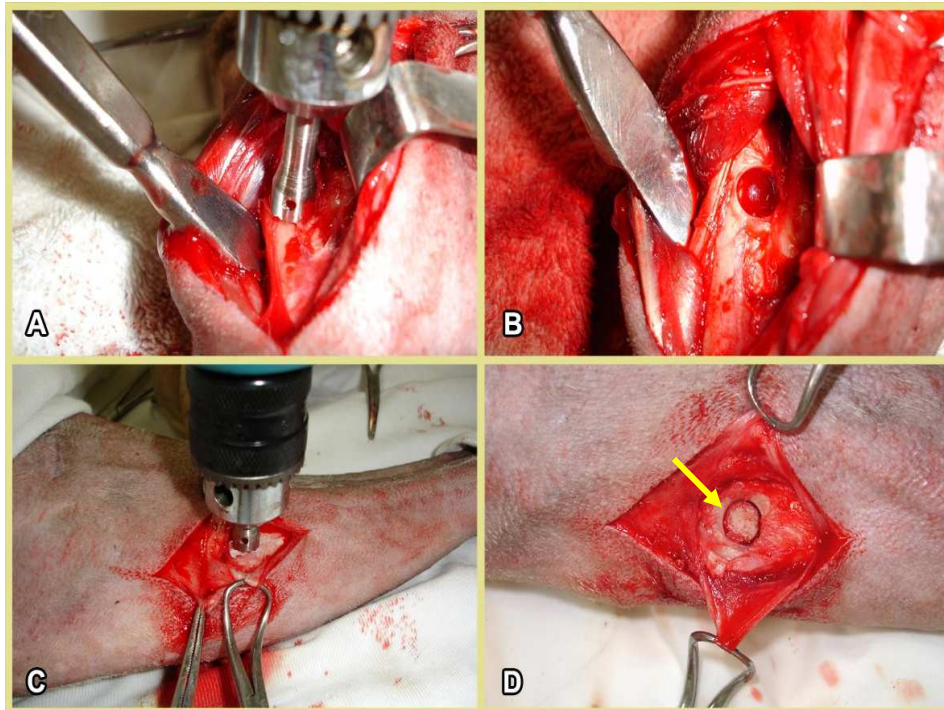


Figura 1. Procedimentos cirúrgicos para coleta e aplicação de enxerto ósseo cortical autógeno. A: Osteotomia com trefina na região da diáfise proximal da ulna. B: orifício provocado na região diafisária proximal da ulna após retirada do enxerto. C: Osteotomia com trefina na região da diáfise proximal da tíbia. D: observa-se enxerto implantado preenchendo o defeito na tíbia. Notar falha óssea entre o enxerto e o osso do animal (seta)

A fáscia muscular foi suturada com pontos isolados simples por meio de categut cromado 3-0, e o tecido subcutâneo, com ponto simples contínuo, com o mesmo fio. A dermorráfia foi realizada, com pontos simples, e separada com náilon 3-0.

Imediatamente após a cirurgia, aplicou-se bandagem de Robert Jones nos membros operados, e mantidos por quinze dias. Os animais permaneceram com colar “elizabetano” e foram confinados em canis individuais com um metro quadrado. Receberam terapia analgésica à base de cloridrato de tramadol (Laboratório Pfizer Ltda), via oral, na dose de 1mg/kg, a cada oito horas durante três dias e 1mg/kg de cetoprofeno (Ketofen - Merial Saúde

Animal Ltda), IM, a cada 24 horas durante três dias.

Foram formados dois grupos com cinco animais cada, em que o grupo de tratamento recebeu suplementação mineral, com cinco gramas de farinha de algas marinhas diluídos em 10 mililitros de água, uma vez ao dia, durante 30 dias. Já o grupo controle não recebeu nenhuma suplementação.

O exame clínico foi realizado em todos os animais diariamente, nos primeiros quinze dias e, posteriormente, a cada semana até o final de 30 dias. Foram feitas observações especialmente relacionadas à recuperação funcional motora.

Com o objetivo de acompanhar a resposta cicatricial entre o enxerto e o leito receptor, foram radiografados os

membros pélvicos de todos os animais, um dia antes da cirurgia, no pós-operatório imediato e aos 30 dias. Foram obtidas radiografias da região diafisária proximal da tíbia nas posições médio-lateral e crânio-caudal. Utilizou-se aparelho de Raios-X marca CRX, modelo 500mA/125 kVp, equipado com grade antidifusora Potter-Bucky, por meio do filme TGM/RA montado em chassi metálico, com écrans intensificadores Lanex Regular. A revelação e fixação dos filmes, previamente identificados por impressão luminosa, foram realizadas em processadora automática modelo Macrotec MX-2.

Três radiologistas, que analisaram as radiografias cada isoladamente, sem o conhecimento prévio dos grupos experimentais (estudo cego). Como critérios de avaliação, nas projeções médio-laterais, a região de interface enxerto-leito receptor adotou-se, como base, a mensuração do grau de radiopacidade ao redor do enxerto ósseo em uma escala com os graus de opacidade 0; 25; 50; 75 e 100% (Figura 2A). Nas projeções crânio-caudais, a região que corresponde ao enxerto e à formação do calo ósseo foi medida em milímetros (Figura 2B).



Figura 2. A: mensuração do grau de radiopacidade, em escala de 0, 25, 50, 75 e 100%. Aspecto radiográfico na incidência médio-lateral na região diafisária proximal da tíbia de cão com zero por cento de radiopacidade da interface enxerto-leito receptor. B: esquema de mensuração (mm) da formação do calo ósseo através da incidência crânio-caudal na região diafisária proximal da tíbia, em um animal com 30 dias de pós-operatório

Aos 30 dias de pós-operatório, final do período de avaliação, os animais foram submetidos a um segundo procedimento cirúrgico para ostectomia do sítio receptor e coleta de amostras para exame histopatológico. Mediante anestesia geral e acesso cirúrgico anteriormente descrito para o membro pélvico direito. Para ostectomia utilizou-se serra oscilatória, com duas incisões transversais ao osso, dois centímetros equidistantes do local do enxerto, seguida de duas incisões longitudinais.

Os fragmentos ósseos foram descalcificados em ácido fórmico a 10%, tamponado com citrato de sódio para pH 4,5, sob vácuo moderado. Após completa descalcificação, controlada por radiografias, todos os fragmentos foram seccionados transversalmente. Em seguida, os ossos foram submetidos a técnica de inclusão em parafina. Cortes de 4 µm que incluíam a região de interface foram obtidos em micrótomo e montados em lâmina de vidro. As lâminas foram coradas pela técnica da hematoxilina-eosina (HE), e examinados à microscopia de luz, para observarem as interações das interfaces osso/implante e histomorfométrica.

Para a histomorfometria, as imagens foram digitalizadas por meio de equipamento fotográfico digital (CYBER_SHOT DSC-W70, Sony Corp.) acoplado ao microscópio óptico. Após digitalização, as imagens obtidas no tamanho de 1632 x 1224 pixels foram mensuradas através de programa computacional de análise digital de imagens de domínio público Adobe Photoshop. O número de campos foi determinado pela técnica de estudo da variação da instabilidade de valores médios em relação à amostra que os originou.

Foi determinada porcentagens das áreas de necrose, inflamação, osso neoformado, osso pré-existente, vasos, tecido mieloide,

tecido conjuntivo e osteoclastos, com o objetivo de 40x em uma secção histológica das áreas de enxerto e região adjacente. A porcentagem dessas variáveis foi determinada com o auxílio de uma ocular micrométrica, com uma graticula de 25 pontos, em um total de 10 campos/foto que abrangiam toda a área da secção histológica e de 250 pontos.

A análise estatística foi realizada por meio do teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov). Para a análise simultânea dos grupos, foi utilizado o teste ANOVA (One Way Analysis of Variance) para dados paramétricos e, para a comparação entre os grupos experimentais, o teste de Tukey-Kramer (Tukey's Multiple Comparison Test) por meio do programa Graphpad Prism® v.4.03. Todas as análises foram feitas com nível de significância de 5%. (SILVA et al., 2008) Os dados paramétricos foram obtidos a partir da avaliação radiográfica e da histomorfometria (BARROS et al., 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Frank et al. (2002), os cães figuram entre os animais frequentemente empregados para o estudo do metabolismo ósseo. Por fazerem parte de uma espécie que é acometida por lesões ósseas e que muitas vezes apresenta deficiências nutricionais significativas, seu emprego no estudo contribuiu para maior aplicabilidade dos resultados.

A utilização da trefina de oito milímetros, no presente estudo, propiciou adequada obtenção do enxerto e facilitou a confecção do leito receptor, cujo formato cilíndrico permitiu o bom encaixe do enxerto e dispensou o uso de placas, pinos ou outros dispositivos para sua fixação, o que corroborou os

achados descritos por Castania & Volpon (2003). A coaptação do enxerto ao leito receptor contribuiu sobremaneira para sua incorporação, pois, segundo Fitch et al. (1997), o tamanho e a forma do enxerto ósseo devem proporcionar de 75% a 100% de contato do mesmo com o osso receptor. Adicionalmente, Bauer & Muschler (2000) relatam que, se o enxerto ósseo não estiver adequadamente estabilizado, tecido de granulação e fibrose irão se desenvolver na interface receptor/enxerto, de forma a impedir sua incorporação.

Todos os animais apresentaram satisfatória evolução clínica, com os parâmetros fisiológicos dentro da normalidade. Não foram observadas intercorrências sistêmicas, no local dos enxertos, deiscências, infecções ou outras manifestações que demonstrassem insucesso cirúrgico.

Os requerimentos de energia metabolizável de animais de estimação dependem do tamanho corporal, composição corporal, nível de atividade, estado fisiológico e da temperatura ambiente (ELLIOT & BIORGE, 2007). Os animais foram alimentados com ração balanceada com 21% de proteína bruta, descrita como fonte adequada para cicatrização óssea por Silveira et al. (1997).

Os exames radiográficos realizados no período pós-operatório possibilitaram verificar o percentual de radiopacidade

na interface enxerto-leito receptor, bem como a formação do calo ósseo na região diafisária proximal medial da tíbia, durante o processo de cicatrização óssea aos 30 dias após a intervenção cirúrgica (Tabela 1 e Figura 3). Foram observados, no grupo controle, três animais com 75% de preenchimento da circunferência ao redor do enxerto e apenas um animal com 50 % da circunferência preenchida. No grupo tratado, três animais apresentaram 100% da circunferência preenchida e um animal apresentou 75% de preenchimento da circunferência.

Os resultados do grau de radiopacidade ao redor dos enxertos ósseos dos animais submetidos à suplementação mineral foram estatisticamente superiores ($P < 0,05$) àqueles do grupo controle, diferente do que ocorreu com a espessura das corticais, em que não se observou diferença estatística entre os grupos estudados ($P > 0,05$) (Tabela 1). Os achados relacionados à radiopacidade do calo ósseo corroboram os achados de Doetsch et al. (2004), quando utilizaram suplementação de cálcio e vitamina D no tratamento conservativo de fraturas proximais de úmero em humanos osteoporóticos e quantificaram, através da densidade mineral óssea (DMO), a influência positiva desses suplementos na formação do calo ósseo, em comparação ao grupo controle.

Tabela 1. Média e desvio padrão do grau de radiopacidade e espessura da cortical medial aos 30 dias após a cirurgia experimental

Referências	Controle	Tratamento	Valor de P
Preenchimento da circunferência do enxerto (%)	70 ± 11,18 ^a	90 ± 13,69 ^b	P=0.0353*
Espessura da cortical (mm)	1,4 ± 0,54 ^a	2 ± 1,22 ^a	P=0.3466

^{a,b}Valores na mesma linha seguidos de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

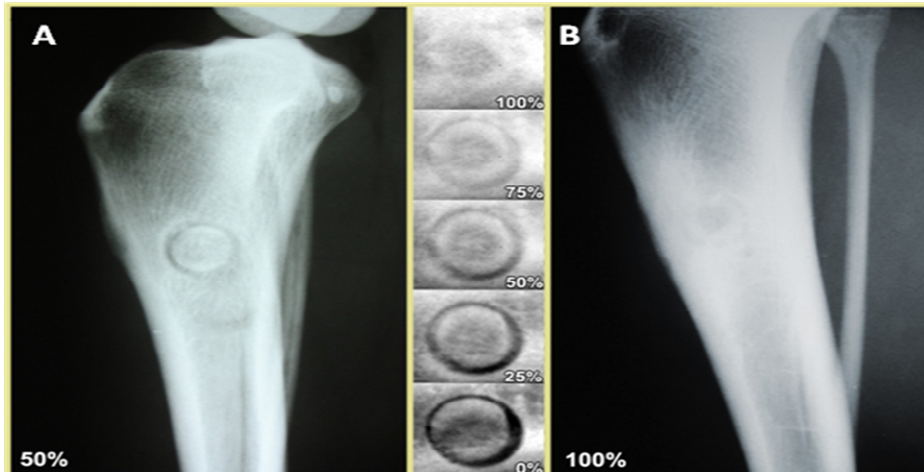


Figura 3. Aspecto radiográfico do enxerto cortical autógeno em região metafisária proximal da tíbia de cão e escala de graduação de radiopacidade. A: radiografia de animal do grupo controle aos 30 dias de pós-operatório, com preenchimento parcial da interface, correspondente a 50% de radiopacidade. B: radiografia de animal do grupo tratamento aos 30 dias de pós-operatório, com total preenchimento da interface enxerto-leito receptor, correspondente a 100% de radiopacidade

Há de se levar em consideração que a formação do calo ósseo na cortical medial, que determinou valores parecidos entre os grupos, pode ter sido em função da mínima lesão tecidual produzida durante a confecção do defeito na tíbia, o que resultou na resposta inflamatória periosteal similar entre os grupos estudados. Por outro lado, a avaliação da integração entre o enxerto e a tíbia proporcionou maior acurácia na interpretação dos resultados, provavelmente pela possibilidade de se avaliar a região da interface com maior uniformidade, uma vez que o enxerto introduzido no defeito tibial se encontrava sem mobilidade.

A análise histológica das seções ósseas em corte transversal permitiu evidenciar fragmentos do enxerto autógeno, o qual apresentava, no centro, lacunas alargadas vazias ou com núcleos picnóticos, o que

caracteriza áreas de necrose (Figura 4A). Na periferia do enxerto, com distribuição multifocal, observou-se presença de matriz osteoide e trabéculas neoformadas, além de áreas de incorporação ao osso cortical pré-existente (Figura 4B e D). No grupo tratado foi possível observar, ainda, a presença de muitos osteoclastos (Figura 4D), enquanto que, no grupo controle, evidenciava-se grande quantidade de tecido conjuntivo na região periosteal (Figura 4C). O processo inflamatório presente, em ambos os grupos, variou de discreto a moderado e era constituído predominantemente por linfócitos e macrófagos.

Os resultados obtidos pela análise histomorfométrica, além de reafirmaram os achados da morfologia, demonstraram importantes peculiaridades dos grupos.

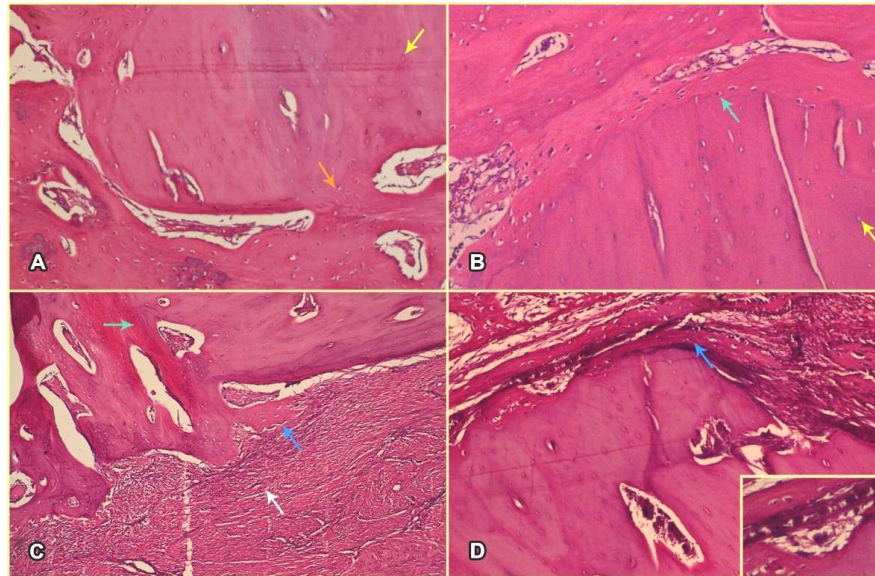


Figura 4. Imagens micrográficas de enxerto autólogo inserido em defeito ósseo provocado na face medial da tíbia de cão macho, SRD, adulto. HE, 40x. A-Grupo Controle: Presença de coaptação parcial enxerto-osso preexistente com aparente “gap” (seta laranja) (e a seta amarela, o que significa?). B-Grupo Tratamento: Presença de perfeita de coaptação da interface enxerto-osso existente (seta verde), presença de lacunas alargadas e vazias indicando necrose óssea (seta amarela). C-Grupo Controle: Coaptação entre a interface do osso pré-existente e enxerto (seta verde), presença de neoformação óssea (seta azul), adjacente à intensa fibroplasia periosteal (seta branca). D-Grupo Tratamento: Presença de neoformação óssea (seta azul), associada a osteoclastos (detalhe) sugerindo reabsorção superficial ou remodelamento

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas relacionadas ao percentual de áreas de necrose, à inflamação, a osso pré-existente, à formação vascular, ao tecido mielóide e osso neoformado (Tabela 3). O percentual de tecido conjuntivo e de osteoclastos, como já indicado pela análise morfológica, foi significativamente maior nos grupos controle e tratado, respectivamente (Tabela 2). Segundo Martinez & Walker (1999), os osteoclastos são as células que primariamente aportam os enxertos corticais autógenos e realizam o processo de reabsorção superficial e remodelagem, diferentemente do que

ocorre nos enxertos esponjosos, nos quais os osteoblastos predominam. Os enxertos podem ter fornecido população celular, fatores bioativos presentes na matriz indutores da osteoindução e a forma estrutural adequada para a sustentação da neoformação óssea (MARTINEZ & WALKER, 1999; GIORDANO & ALMEIDA, 2006). De acordo com Yuan et al. (2000) e Zaffe (2005), os conceitos que norteiam a cicatrização da lesão óssea e a integração do enxerto, ou seja, inflamação, revascularização, osteoindução e osteocondução, em princípio, são os mesmos. O enxerto cortical autólogo, empregado nesta

metodologia, embora não possua características mecânicas ou estruturais para sustentação de peso, provavelmente pode ter assegurado a presença de células ósseas viáveis, capazes de osteogênese. De acordo com a histomorfometria, o percentual de osso neoformado observado no grupo tratado, ainda que

estatisticamente não significativo, foi quase duas vezes maior que o do grupo controle (Tabela 2). Os dados histomorfométricos sugerem uma possível ação da suplementação mineral à base de farinha de algas marinhas, rica em macro e micro minerais, no processo de formação óssea.

Tabela 2. Média e desvio padrão das variáveis histomorfométricas do autoenxerto cortical em tíbia de cão

Área do enxerto (%)	Grupo	
	Controle (n=5)	Tratamento (n=5)
Necrose	23,44 ± 18,07 ^a	29,28 ± 14,39 ^a
Inflamação	1,2 ± 1,09 ^a	1,68 ± 1,03 ^a
Osso existente	24,4 ± 9,46 ^a	24,8 ± 6,52 ^a
Osso neo	7,28 ± 3,13 ^a	14 ± 6,15 ^a
Vasos	1,28 ± 1,30 ^a	0,96 ± 1,00 ^a
Mielóide	10,24 ± 3,10 ^a	8,64 ± 2,98 ^a
Conjuntivo	22,16 ± 8,48 ^a	10,72 ± 7,01 ^b
Artefato	8,4 ± 3,72 ^a	6,72 ± 2,48 ^a
Osteoclasto	1,28 ± 1,30 ^a	3,12 ± 1,03 ^b

^{a,b}Valores na mesma linha seguidos de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (P<0,05).

Segundo Algarea (1997), as altas concentrações de cálcio e nutrientes catalisadores do metabolismo trazem como benefícios a mais fácil absorção do produto pelos animais, sem antagonismo iônico, o que melhora a conversão alimentar, promove maior fixação de fósforo, e uma recuperação de fraturas mais rápida.

O cálcio é um mineral essencial que participa de vários processos metabólicos fundamentais. Para que seja mantida a concentração constante desse elemento no organismo, em relação a sua ingestão, absorção e excreção, ocorrem marcantes interações hormonais que participam da homeostase (ROSOL & CAPEN, 1997). Os principais hormônios que participam dessa regulação são o paratormônio (PTH), calcitonina e

colecálciferol. A principal função do PTH é manter a concentração plasmática do cálcio e atuar nos ossos e rins, de maneira a estimular a liberação de cálcio e fósforo do osso e promover a reabsorção do cálcio e inibir a de fósforo no filtrado glomerular. Também, estimula a síntese de colecálciferol nos túbulos proximais renais e indiretamente aumenta a reabsorção intestinal de cálcio e fósforo. Além disso, a calcitonina age no contrabalanço da ação do PTH, e sua secreção é mediada principalmente pelo aumento de cálcio sanguíneo (BERGLUND et al., 2000).

Uma dieta adequada de cálcio é necessária para a manutenção óssea dos animais. Em cães normais, a suplementação geralmente não é necessária, pois o excesso desse mineral

poderá causar apenas desequilíbrio orgânico como o hiperparatireoidismo, que reduz a reabsorção óssea e implica alterações esqueléticas (DENNY & BUTTERWORTH, 2006).

Outro problema citado é a urolitíase, que pode ser ocasionada pelos sais de oxalato de cálcio e fosfato de cálcio, porém ambos são os menos comuns de se encontrar nessa espécie. Dentre os fatores responsáveis na etiopatogenia dessa afecção, a hiperparatireoidismo associada à hiperparatireoidismo é apontada como possível responsável. No entanto, estudos recentes sugerem que vários fatores estão interligados no processo, e a restrição alimentar de cálcio, que parece ser uma medida lógica, pode causar desequilíbrio desse mineral no organismo, o que provoca transtornos metabólicos. O consenso entre os urologistas é que a restrição dietética de cálcio não é uma medida a ser aplicada nos animais que apresentaram essa afecção, a menos que o paciente sofra de hiperparatireoidismo pelo aumento da absorção de cálcio no intestino (OSBORNE et al., 1992).

Preconiza-se para cães uma necessidade diária de cálcio de 265mg/kg de peso, porém deve-se salientar que essa recomendação é para animais normais que não apresentam nenhuma patologia (DENNY E BUTTERWORTH, 2006). Chapuy et al. (1994) avaliaram a administração diária de 1200mg de cálcio ao dia na prevenção de fraturas em 3.270 mulheres idosas e, após 36 meses, observaram 24% de redução de fraturas, e Hughes et al. (1997) concluíram que a suplementação diária com cálcio e vitamina D em humanos pode minimizar o risco de fraturas.

De acordo com Hich & Kerstetter (2000) e Brunetto et al. (2007), os nutrientes minerais como zinco, cobre, ferro, magnésio, flúor e manganês influenciam no metabolismo dos tecidos

conectivos de várias maneiras. O zinco e o ferro atuam como cofatores para enzimas necessárias na mineralização óssea. O cobre tem influência a maturação do colágeno e pode influenciar da composição da estrutura óssea. O magnésio tem importante papel no metabolismo do cálcio, e o flúor exerce efeito na atividade osteoblástica. Por sua vez, o manganês é importante para reprodução e o desenvolvimento ósseo normal.

As principais características que potencializam a atuação desse produto são atribuídas à maior disponibilidade dos micronutrientes que se encontram adsorvidos nas paredes celulares. Assim, tornam-se facilmente assimiláveis pelos animais, com a elevada porosidade das algas (>40%), que propicia maior superfície específica de atuação (ALGAREA, 1997). Apesar da higidez dos animais deste estudo, sabe-se que, no paciente cirúrgico, normalmente há uma demanda energética aumentada para fazer frente às alterações catabólicas do pós-operatório imediato e aos processos regeneração tecidual, que, segundo Brunetto et al. (2007), exigem uma reserva calórico-proteica.

Há que se considerar que deficiências nutricionais podem ser observadas na clínica de pequenos animais, particularmente no pré-operatório de pacientes cirúrgicos, decorrentes dos mais variados fatores e relacionadas a distúrbios funcionais de ingestão e absorção de metabólicos ou a afecções múltiplas ligadas principalmente ao aparelho digestório ou a doenças crônicas debilitantes (PAREIRA, 2007). Em geral, a deficiência aguda é mais evidenciada que as formas crônicas, que se ocultam sob quadros clínicos oligossintomáticos e que podem não ser percebidas pelo proprietário e pelo médico veterinário.

Frente a um paciente com deficiência nutricional, a falta de suporte de proteínas, minerais e outros micronutrientes, bem como as alterações metabólicas presentes, determinam uma resposta inadequada à agressão cirúrgica, o que pode desencadear uma série de complicações que incluem a infecção e os defeitos de cicatrização.

Portanto, na dependência do trauma, do estado físico e do período de convalescência, a suplementação mineral pode ser requerida, pois, segundo Valadares et al. (2006), um estado nutricional adequado otimiza a resposta a tratamentos clínico-cirúrgicos, impede a diminuição da resposta imune, minimiza a perda de massa corporal, favorece a cicatrização de feridas e, conseqüentemente, diminui o tempo de permanência do animal em ambiente hospitalar.

Os resultados obtidos nas condições experimentais do presente estudo permitem concluir que a suplementação com farinha de algas marinhas abrevia o processo de absorção superficial e o remodelamento ósseo, de forma a acelerar o processo de cicatrização óssea.

REFERÊNCIAS

ALGAREA Mineração.

SUMINAL, **Mimeo**. Rio de Janeiro, 1997. 4p. [[Links](#)].

BARROS, S.V.S.G.; DEL CARLO, R.J.; VILORIA, M.I.; GALVÃO S.R.; MAIA FILHO, A.; OLIVEIRA, D.R. Auto-enxerto percutâneo de medula óssea II. Reparação de falhas segmentares produzidas no rádio de coelhos. **Ciência Rural**, v.31, n.4, p.627-632, 2001. [[Links](#)].

BAUER, T.W.; MUSCHLER, G.F. Bone grafts materials: An overview of the basic science. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v.371, p.10-27, 2000. [[Links](#)].

BERGLUND, M.; AKESSON A.; BJELLERUP P.; VAHTER M. Metal: bone interactions. **Toxicology Letters**, v.112-113, p.219-225, 2000. [[Links](#)].

BRUNETTO, M.A.; GOMES S.M.O.; TESHIMA, E.; OLIVEIRA, L.D.; CARCIOFI, A.C. Nutrição parenteral: princípios básicos de administração. **Actia Scientiae Veterinariae**, v.35, n.2, p.236-238, 2007. Supl.2. [[Links](#)].

CASTANIA, V.A., VOLPON, J.B. Enxerto ósseo processado quimicamente e esterilizado em óxido de etileno. Ensaio mecânico e teste em cães. **Revista Brasileira de Ortopedia Pediátrica**, v.4, n.2, p.22-29, 2003. [[Links](#)].

CHAPUY, M. C. ARLOT M.E., DUBOEUF F, BRUN J, CROUZET B, ARNAUD S. Effect of calcium and cholecalciferol treatment for three years on hip fractures in elderly women. **BMJ**, v.308, p.1081-1082, 1994. [[Links](#)].

DEL CARLO, R.J.; PINHEIRO L.C.P.; MONTEIRO, B.S.; SILVA, P.S.A.; VIANNA, V.W. Integração de aloenxertos ósseos corticais associados ou não a células-tronco da medula óssea, proteína óssea morfogenética (BMP) e autoenxerto esponjoso em cães. **Veterinária e Zootecnia**, v.14, n.2, p.204-215, 2007. [[Links](#)].

DENNY, H. R.; BUTTERWORTH, S.J. **Cirurgia Ortopédica em Cães e Gatos**. 4.ed. São Paulo: Roca, p. 466-468, 2006. [[Links](#)].

DOETSCH A.M.; FABER J.;
LYNNERUPN.N.; WATJEN I.;
BLIDDAL H.; DANNESKIOLD-
SAMSØE B. The effect of calcium and
vitamin D3 supplementation on the
healing of the proximal humerus
fracture: A randomized placebo-
controlled study. **Calcified Tissue
International**, v.75, n.3, p.183-188,
2004. [[Links](#)].

ELLIOT, D; BIORGE, V. Nutrição em
cuidados intensivos. **Revista Waltham
Focus**, v.1, n.15, p.31-36, 2007. [[Links](#)].

FITCH, R.; KERWIN, S.; SINIBALDI,
K.R.; NEWMAN-GAGE, H. Bone
autografts and allografts in dogs.
**Compendium Continuing Education
for the Practicing Veterinarian**, v.19,
n.5, p.558-575, 1997. [[Links](#)].

FRANK, J.D.; RYAN, M.;
KALSCHUR V.L.; RUAUX C. P.
Aging and accumulation of
microdamage in canine bone. **Bone**.
v.30, n.1, p.201-206, 2002. [[Links](#)].

GIORDANO, P.P.; ALMEIDA, A.J.P.
Enxertos ósseos: revisão de literatura.
Doxo Revista da Puc Minas, v.1, n.1,
p.1-9, 2006. [[Links](#)].

HICH, J.Z.; KERSTETTER, J. E.
Nutrition in bone bone health revisited: a
story beyond calcium. **Journal of the
American College of Nutrition**, v.19,
n.6, p.715-737, 2000. [[Links](#)].

HUGHES, B.D.; HARRIS, S.S.;
KRALL, E.A.; DALLAL, G.E. Effect of
calcium and vitamin d supplementation
on bone density in men and women 65
years of age or older. **The New England
Journal of Medicine**, v.337, n.10,
p.670-676, 1997. [[Links](#)].

MARTINEZ, S.A.; WALKER, T. Bone
grafts. **Veterinary Clinic of North
American Small Animal Practice**,
v.29, n.5, p.1207-1219, 1999. [[Links](#)].

MELO, T.V.; FERREIRA; V.C;
OLIVEIRA; J.B.A; CARNEIRO,
A.M.A; MOURA, C.S. SILVAY,
V.L.H.N. Calidad del huevo de
codornices utilizando harina de algas
marinas y fosfato monoamónico .
Archives de Zootecnia, v.57. n.219,
p.313-319, 2008. [[Links](#)].

OSBORNE, C.A. LULICH
J.P.;BARTGES J. W.; POLZIN D.J.
Urolitíase canina In: ETTINGER, S. J.
**Tratado de Medicina Interna
Veterinária** 3.ed. São Paulo: Manole,
1992. p.2178-2203. [[Links](#)].

PAREIRA, P.R. Aspectos fundamentais
da determinação da exigência energética
de cães domésticos. **Revista Acadêmica**,
v.5, n.4, p.415-422, 2007. [[Links](#)].

ROSOL, T.J.; CAPEN, C.C. Calcium-
Regulating Hormones and Diseases of
Abnormal Mineral (Calcium,
Phosphorus, Magnesium) Metabolism.
In: KANECO, J.J.; HARVEY, J.W.;
BRUSS, M.L. (Eds.). **Clinical
Biochemistry Domestic Animals**. 5.ed.
California: Academic Press, 1996.
p.619-702. [[Links](#)].

ROUSSEL, A.M. New aspects on trace
element metabolism disturbances in man
and pet animals. **Revue de Medecine
Veterinaire**, v.151, n.7, p.637-642,
2000. [[Links](#)].

SANTOS, F.C.; RAHAL, S.C. Enxerto
ósseo esponjoso autólogo em pequenos
animais. **Ciencia Rural**, v.34, n.6,
p.1969-1975, 2004. [[Links](#)].

SILVA, L.S.; CANTO, F.R.T.;
SHIMANO, A.C.; GARCIA, S.B.;
SALATA, L.A.; DEFINO H. Estudo
histomorfométrico da interface óssea do
parafuso expansor cervical **Revista
Brasileira de Ortopedia**, v.43, n.3,
2008. [[Links](#)].

SILVEIRA I.S.; RAISER, A.G.;
POLYDORO, A.S.; SANTOS, M.N.
efeitos da dieta protéica na cicatrização
de fraturas distais de fêmur imobilizadas
com pinos intramedulares em cão. **Acta
Cirúrgica Brasileira**, v.12, n.3, p.178-
181, 1997. [[Links](#)].

VALADARES, R.C.; PALHARES,
M.S.; BICALHO, A.L.F.;
TURCHETTO, JÚNIOR, C.R.;
FREITAS, M.D.; SILVA FILHO, J.M.;
CARVALHO, A.U. Aspectos clínicos e
hematológicos em cães submetidos à
fluidoterapia intravenosa, nutrição
enteral e parenteral. **Arquivo Brasileiro
de Medicina Veterinária e Zootecnia**,
v.58, n.4, 495-502, 2006. [[Links](#)].

YUAN, H.; LI, Y.; BRUJIN, J.D.;
GROOT, K; ZHANG, X. Tissue
responses of calcium phosphate cement:
a study in dog. **Biomaterials**, v.21, n.12,
p.1283-1290, 2000. [[Links](#)].

ZAFFE, D. Some considerations on
biomaterials and bone. **Micron (The
International Research and Review
Journal for Microscopy)**, v.36, n.7-8,
p.583-592, 2005. [[Links](#)].

Data de recebimento: 28/08/2008

Data de aprovação: 09/02/2010