

## **ASPECTOS METODOLÓGICOS APLICADOS NA INTEGRIDADE ÓSSEA DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS**

**Anita Isabel Roque RODRIGUEZ**

Professora da Universidad de Pamplona -Facultad de Ciencias Agrarias (Pamplona - Norte de Santander / Colômbia

**Silvana Martinez BARALDI-ARTONI**

Profa. Adjunta do Departamento de Anatomia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista-UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil

**Sheyla Maria de Castro Máximo BICALHO**

Pesquisadora do Laboratório JHS.

**Liliana Longo BORGES**

Pós- Graduanda do Programa de Zootecnia da FCAV-UNESP de Jaboticabal

**André Luís FILADELPHO**

Professor Doutor da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça – FAMED/ACEG, Garça, SP.



## ASPECTOS METODOLÓGICOS APLICADOS NA INTEGRIDADE ÓSSEA DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

### RESUMO

As fraturas ósseas de pequenos animais domésticos, apresentam dificuldades no tratamento, face às particularidades dos casos e conhecimento especializado. Os estrógenos são estimuladores da formação do tecido ósseo e sua depleção causa perda óssea. Após a interrupção da função ovárica, observa-se diminuição da massa óssea com aumento do risco da ocorrência de fraturas. A hidroxiapatita como implante permite que os tecidos cresçam dentro de sua estrutura devido à interconexão dos poros e aumentando a velocidade de crescimento do tecido ósseo. Juntamente com colágeno ou alandronato, forma compostos em potencial para reconstrução óssea por apresentarem uma composição similar à do osso.

**Palavras chave:** reconstituição óssea, hidroxiapatita, colágeno, alandronato

### ABSTRACT

Bone fractures of small animals provide difficulties in treatment, given the particularities of cases and expertise. Estrogens are encouraging the formation of bone tissue and its depletion causes bone loss. After the interruption of ovarian function, there is decreased bone mass with increased risk of fractures. The hydroxyapatite implant allows tissue to grow within its structure due to the interconnection of the pores and increasing the speed of growth of bone tissue. Adding collagen or alendronat, form a compound in potential for bone reconstruction because they had a composition similar from bone



**Key words:** bone reconstruction, hydroxyapatite, collagen, alendronat

## REVISÃO DA LITERATURA

As fraturas de ossos longos dos membros de pequenos animais domésticos constituem um importante campo da patologia cirúrgica e representam grande parte dos casos atendidos em ambulatórios. O traumatismo apresenta maior variação de formas e dificuldades no tratamento, face às particularidades dos casos, tempo de resolução e necessidade de atuação de profissional, com conhecimento especializado. Após a redução das fraturas é imperativo que a cicatrização óssea ocorra o mais rápido possível, afim de evitar a atrofia muscular por desuso.

Os ossos constituem exemplos de tecidos conjuntivos de sustentação, onde a matriz se mostra impregnada com sais de cálcio. Os osteoblastos são as células responsáveis pela formação do osso, os osteócitos são células derivadas dos osteoblastos, que tenham como função a renovação da matriz óssea e atuam nas trocas de cálcio. Os osteoclastos estão relacionados com a reabsorção do tecido ósseo, participando dos processos de remodelação dos ossos (JUNQUEIRA, 1999).

Os estrógenos são estimuladores da formação do tecido ósseo, os quais influenciam sobre o aparecimento e o desenvolvimento dos centros de ossificação. Nos casos de desenvolvimento deficiente das gônadas ou de ovariohisterectomia de animais em crescimento, as cartilagens epifisárias permanecem por mais tempo, de modo que o indivíduo atinge estatura acima da normal. (JUNQUEIRA, 1999). Depois da interrupção da função ovárica, observa-se diminuição da massa óssea (que caracteriza a osteoporose) com desorganização da microarquitetura trabecular e conseqüentemente aumento do risco da ocorrência de fraturas ou refraturas (SOUZA et al., 2001).

A depleção de estrógeno produz perda óssea. Isto tem sido demonstrado em várias espécies como modelos experimentais. Por meio da ovariectomia pode-se produzir uma depleção estrogênica produzindo assim um modelo experimental para o estudo da osteoporose na mulher, já que as relações decorrentes são semelhantes às que acontecem no sistema esquelético humano pós-menopausa. A influência dos efeitos sobre a osteogênese foi verificado por meio de densitometria óssea, análises



histomorfométricas e bioquímicas em várias espécies animais como ovelha (JOHNSON et al. 1997), cães (MALLUCHE et al., 1986; MALLUCHE et al., 1988), e ratas (FAUGERE et al., 1986; WILLIAMS et al., 1990), as quais são ainda as mais utilizadas, uma vez que as alterações no metabolismo ósseo que ocorrem secundariamente à deficiência estrogênica, são muito similares às observadas nos seres humanos (BARLET et al., 1994). Estas análises ajudaram ao diagnóstico da osteoporose pós-menopausa na mulher, na qual também se realizaram estudos (GALLAGHER et al., 1973; AARON et al., 1987; CUMMINGS & BLACK, 1995; FOGELMAN et al., 1999; FORD et al., 2001).

O comportamento metabólico de osso cortical e trabecular, depende fundamentalmente de sua superfície de contato com tecidos hematopoiéticos e de sua biomecânica. Desta forma sabe-se que o osso trabecular responde de maneira muito mais rápida às demandas metabólicas do que o cortical, o que explica, por exemplo, o comprometimento vertebral mais notável na osteoporose. De forma semelhante, segmentos esqueléticos que suporte carga e/ou peso corpóreo apresentam comportamento metabólico modulado por estas forças. A distribuição de forças e a anatomia do segmento esquelético também são características determinantes para o comportamento metabólico do osso (SOUZA et al., 2001). MALLUCHE et al. (1986), observaram que a deficiência dos hormônios gonadais depois da ovariectomia em cães da raça Beagle, de dois a três anos de idade, pode causar um decréscimo significativo na massa do osso esponjoso e trabecular, aos quatro meses pós-cirurgia. MALLUCHE et al. (1988), analisaram a remodelação óssea em cães da raça Beagle, por meio de análises histomorfométricas, depois de uma perda significativa do osso, aos quatro meses após a ovariectomia e observaram que a insuficiência osteoblástica é a responsável do balanço negativo da manutenção do osso e da osteopenia. CHACHRA et al., (2000), comprovaram em ratas, através de avaliações densitométricas, que a evidência da perda de osso cortical, foi notável aos quatro meses depois da ovariectomia.

SKOLNIKOV et al. (1992), avaliaram por meio de análises bioquímicas o tecido ósseo, em ratas ovariectomizadas, com fraturas do fêmur, produzidas experimentalmente, e encontraram uma notável diminuição do fósforo e cálcio do osso. Este mesmo efeito foi observado no trabalho de KAWANO et al., 1997. HAN & SZARZANOWICZ (1998), observaram que a perda de massa óssea em ratas, danifica a



microarquitetura do tecido ósseo, desencadeando fragilidade do osso e aumento do risco de fraturas.

Considerando que a cicatrização das fraturas é influenciada por fatores mecânicos e biológicos, WHEELER et al. (2000), avaliaram as propriedades da firmeza e do pico do arqueamento do calo ósseo, de fraturas do fêmur de ratas normais e ovariohisterectomizadas, as quatro, seis e oito semanas, depois da fratura. Observaram que as fêmeas ovariohisterectomizadas reduziram a massa do osso esponjoso e sua resistência, mas os efeitos sobre a cicatrização das fraturas do osso cortical são controversos. Neste estudo não se notaram diferenças significativas da resistência do osso cortical, entre fêmeas castradas e não castradas (ovariohisterectomia).

MEYER et al. (2001), analisaram as propriedades mecânicas e o mineral do calo ósseo de fraturas no terço médio do fêmur, em ratas ovariectomizadas e não ovariectomizadas, de diferentes idades. Por meio da densitometria óssea e avaliações biomecânicas, relataram uma significativa redução da densidade mineral do osso intacto e fraturado, em fêmeas velhas ovariectomizadas.

A radiologia é técnica muito utilizada em medicina veterinária, para avaliar a consolidação das fraturas, mas existem outras técnicas como a densitometria óptica que não depende de equipamentos sofisticados, é um método viável de fácil utilização, custo baixo, altamente confiável, não invasivo e permite a realização de análises quantitativas e qualitativas do conteúdo e densidade mineral (RAGI et al., 2003). Com esta técnica eliminam-se possíveis interpretações subjetivas obtidas durante a avaliação radiográfica, uma vez que esta apresenta baixa sensibilidade para o diagnóstico precoce de perdas ósseas, sendo detectadas somente quando excedem 30% a 50%, e muitas vezes só são perceptíveis no momento que ocorre uma fratura ou refratura (GLUER & GENANT, 2002).

Existem outros métodos de avaliar quantitativamente a consolidação das fraturas, porém, alguns são invasivos, com a cintilografia, enquanto outros são de alto custo e requerem de equipamentos muito sofisticados destacando-se a tomografia computadorizada de energia ultrasônica, tomografia computadorizada quantitativa e ressonância magnética.

Contudo, dentre os diversos males que afetam a estrutura óssea, a osteoporose e a perda de massa óssea têm sido intensamente estudados devido a seus devastadores efeitos na qualidade de vida das pessoas. A magnitude destes problemas tem levado



pesquisadores, principalmente dos países mais desenvolvidos, pesquisar materiais que possam substituir de fora apropriada os ossos danificados (KAWACHI et al., 2000).

Muitas pesquisas vem sendo direcionadas com o objetivo de produzir materiais que facilitem a reparação do tecido ósseo, retornando-o a suas funções biomecânicas e fisiológicas. Combinar os requisitos biomecânicos para um implante com os ambientes bioquímico e celular circundantes tem sido um grande desafio (JARCHO, 1992). Os materiais utilizados na substituição de ossos enquadram-se em uma classe denominada de biomateriais e devem apresentar propriedades físicas e biológicas compatíveis com os tecidos vivos hospedeiros, de modo a estimular uma resposta adequada dos membros, que caracterizam a biocompatibilidade (WILLIAMS, 1990). De acordo com a resposta biológica induzida no organismo, os materiais biocompatíveis podem se classificar em biotoleráveis, bioinertes e bioativos (VALLET-REGÍ, 1997).

Um material bioinerte não induz resposta local do sistema imunológico, no entanto, uma material bioteolerável induz uma resposta mínima, sendo aceito pelo organismo receptor (WILSON, 1997; RIGO et al., 1999). O material bioativo permite uma resposta biológica específica na interface com o tecido vivo, possibilitando a formação de uma ligação entre o tecido e o próprio material (HULBERT et al., 1987; WILLIAMS, 1990). Neste caso o tecido é capaz de interagir intimamente com o material depositando-se diretamente sobre a superfície do mesmo. A natureza dessa ligação osso-implante no caso destes materiais parece ser do tipo químico, sendo que nessa ligação o papel fundamental parece ser o tipo químico, feito pelos componentes orgânicos e minerais presentes nos fluídos do corpo (RIGO et al., 1999).

O corpo é constituído por três componentes básicos: água, colágeno e hidroxiapatita. Este último composto representa a fase mineral dos ossos e dos dentes, que é o responsável por fornecer estabilidade estrutural ao corpo, protegendo órgãos vitais como pulmões e coração e funcionando como um depósito regulador de íons (VALLET-REGÍ, 1997). A Hidroxiapatitia é o componente principal (6.95%) do mineral ósseo, ela possui propriedades de biocompatibilidade e bioatividade, sendo que até o momento não são igualadas por nenhum outro material (HOLMES, 1979; GUYTON, 1992; JARCHO, 1992).

A hidroxiapatita como implante permite que os tecidos cresçam dentro de sua estrutura devido à interconexão dos poros (WHITE et al., 1986), reduzindo a escapsulação, aumentando a velocidade de crescimento do tecido ósseo, favorecendo o



suporte nutricional do tecido de seus poros e produzindo uma continuidade com o osso em volta (HOLMES et al., 1979; WHITE et al., 1986). HOLMES (1979) relata que os poros incentivam o crescimento das células, crescimento fibrovascular, formação de osteóide e crescimento do osso mineralizado.

A hidroxiapatita é um material bioativo, que cria ligações químicas fortes com os tecidos ósseos, mas não resiste a altas tensões mecânicas (RIGO et al., 1999). Ela não tem capacidade osteoindutiva, atuando como matriz passiva para o crescimento ósseo, razão pela qual é considerada como um material osteocondutor (CALLAN & ROHRER, 1993; HEIKKILA et al., 1993). Entretanto, mesmo não sendo osteoindutora, a hidroxiapatita estimula a síntese de colágeno (BAKOS, 1999). Nesse sentido, esforços têm sido feitos para combinar este biomaterial com outros materiais que ajudem a sua osteoindução (RIGO et al., 1999).

O efeito do uso do colágeno como substituto ósseo, seja sozinho ou associado a outro material, ainda não é bem elucidado. Porém, ele pode ser utilizado associado às biocerâmicas como forma de prevenir a migração de partículas do material, antes que seja incorporado no tecido hospedeiro (BELL & BEIRNE, 1988).

Recentemente, alguns compostos de hidroxiapatita com colágeno foram desenvolvidos como biomateriais em potencial para reconstrução óssea por apresentarem uma composição similar à do osso (BAKOS et al., 1999).

O colágeno como componente individual, promove a cicatrização de fraturas e regeneração óssea e é também um agente hemostático (LAWSON et al., 1998), além disso possui baixo índice de irritabilidade ou alergenicidade (2%), biodegradabilidade, habilidade de promover crescimento celular e facilidade de obtenção. O aspecto mais importante na utilização do colágeno na forma de compostos com biocerâmicas é o fato desta proteína ser a matriz em que os sais de fosfato de cálcio se depositam para dar origem ao tecido ósseo (MANN et al., 1989).

A desvantagem do uso da hidroxiapatita é o fato de apresentar a fragilidade característica das cerâmicas, o que limita seu uso como biomaterial (METSGER et al., 1999). Assim, sua combinação com colágeno torna seu uso como biomaterial mais vantajoso, pois aumenta sua resistência mecânica.

Em implantodontia e periodontia estão sendo pesquisados produtos que reduzam a perda óssea, pelo mesmo motivo que atualmente se utiliza o alandronato sistêmico em pacientes com osteoporose. Por reduzir significativamente a reabsorção óssea, estes



pesquisadores estão aplicando topicamente o alandronato obtendo bons resultados (CAMPOS et al.,2003).

O alandronato é um bifosfonato que inclui potentes inibidores de reabsorção óssea, o qual tem sido usado efetivamente para controlar osteólise ou perda óssea na doença de Paget, doença metastática, hipercalcemia maligna, osteonecrose e na osteoporose de humanos e em ratas (LIBERMAN, 1995). Seus efeitos sobre o osso derivam da forte afinidade pelo osso, possibilitando uma interação direta com osteoblastos aumentando a formação óssea e com os osteoblastos diminuindo a reabsorção do osso, através de uma variedade de ciclos bioquímicos (MASARACHIA, 1996).

POLS et al. (1999) realizaram um experimento com alandronato sistêmico em mulheres com osteoporose, e observaram que 10mg de alandronato por dia por um ano, produziu aumento de 5% da massa óssea dos corpos vertebrais e de 2,3% no colo femoral, além de proporcionar uma redução de 47% na incidência de fraturas não vertebrais. Eles concluíram que os bifosfonatos apresentam quimiotacismo pela superfície do osso, diminuem a reabsorção e podem aumentar a formação óssea.

Na Medicina Humana, muitos estudos são realizados em outras espécies animais com o intuito de analisar as alterações ósseas após a OSH e correlaciona-las com a mulher. Entretanto, a Medicina Veterinária é carente neste assunto. O efeito da deficiência hormonal sobre a consolidação das fraturas em cadelas é diferente da mulher e de outros animais e, portanto, análises comparativas entre espécies frente às influências hormonais sobre a consolidação óssea requerem estudos criteriosos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARON, J.E.; MAKINS, N.B.; SAGREIYA, K. The microanatomy of trabecular bone loss in aging men and women. Clin. Orthop. Rel. Res.,v.215, p.260-271, 1987.

BAKOS, D.; SOLDAN, M.; HERNANDEZ-FUENTES, I. Hydroxyapatite-collagen-hyaluronic-acid composite. Biomaterials, Guildford, v.20, p.191-195, 1999.

BARLET, J.P; COXAM, V.; DAVICCO, M.J.; GAUMET, N. Animal models of post-menopausal osteoporosis. Reprod. Nutr. Dev., v.34, n.3, p.221-36, 1994.

Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária é uma publicação semestral da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça - FAMED/FAEF e Editora FAEF, mantidas pela Associação Cultural e Educacional de Garça ACEG. Rua das Flores, 740 - Vila Labienópolis - CEP: 17400-000 - Garça/SP - Tel.: (0\*\*14) 3407-8000 [www.revista.inf.br](http://www.revista.inf.br) - [www.editorafaef.com.br](http://www.editorafaef.com.br) - [www.faeef.br](http://www.faeef.br)



BELL, R.; BEIRNE, O.R Effect of Hydrxyapatite, Triclacium Phosphate, and Collagen on the Healing of Defects in the rat mandibule. J. Oral Maxillofac. Surg., Philadelphia, v. 46, p. 589-894, 1998.

CALLAN, D. P.; ROHRER, M. D. Use of bovine-derived hydorxyapatite in the treatment of edentulous defects: a human clinical and histologic case report. J. Periodontol., Chicago, v.64, n.6, p.575-582, 1993.

CAMPOS, A. Fundamento para uso de Materias Regenerativos. Disponível em: [www.kunzel.com./Kunzel/biomateriais/bonegel.>](http://www.kunzel.com./Kunzel/biomateriais/bonegel.>). Acesso em 4set2003.

CHACHRA, D.; LEE, J.M.; KASRA, M. Differential effects of ovariectomy on the mechanical properties of cortical and cancellous bone in rat femora and vertebrae. Biomed. Sci. Instrum., v.36, p.123-128, 2000.

CUMMINGS, S.R.; BLACK, D. Bone mass measurements ans risk of fracture Caucasian Women: a review of findings from prospective studies.Amer. Jour. Med., v.98, n.2A, p.24-28, 1995.

FAUGERE, M.; OKAMOTO, S.; DELUCA, H. Calcitrol corrects boné losso induced by oophorectomy in rats. Am. J. Physiol., Bethesda, v. 250, n. E35, p. 1986.

FOGELMAN, I.; FROST, M.L.; BLAKE, G.M. Contact quantitativa ultrasound: An evaluation of precesion, fracture discrimination, age-related bone loss and applicability of the who criteria. Osteoporosis Int., v.10, p.441-449, 1999.

FORD, M.A.; TURNER, L.; DIBREZZO, R.; CHO, H.K. Bone densitometry in assessment of bone mineral density. Jour. Ark. Med. Soc., v.98, n.3, p.86-88, 2001.

GALLAGHER, J.C.; AARON, J.; HORSMAN, A.; MARSHALL, D.M.; WILKINSON, R. The crush fracture syndrome in postmenopausal women. Clinic. Endocrin. Metab., v.2,p.293, 1973.



GLÜER, C.; GENANT, H. Métodos atuais de detecção da densidade mineral óssea. Disponível em: [www.instituto-radiologia.com.br/artigos/artigo2.htm](http://www.instituto-radiologia.com.br/artigos/artigo2.htm)>Acesso em: 5out 2002.

GUYTON, A. C. Tratado de fisiologia médica. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p. 769-770.

HAN, S.M.; SZARZANOWICZ, T.E. Effect of ovariectomy and calcium deficiency on the ultrasound velocity, mineral density and strength in the rat femur. Clin. Biomech., v.13, n.7, p.480-484, 1998.

HEIKKILA, J.; AHO, A. J; YLI-URPO, A. Bioactive glass versus hydroxyapatite in reconstruction of osteochondral defects in rabbit. Acta Orthop. Scand., Copenhagen, v.64, n.6, p.678-682, 1993.

HOLMES, R. E.; Bone regeneration within a Coralline Hydroxyapatite. Implant. Plast. And Reconstr. Surg., v.63, p.626-633,1979.

HULBERT, S. F.; BKROS, J.C.; HENCH, L. L.; HEINKE, G. In: Vincenzini, P (Ed). Ceramics in clinical applications. Ámsterdam: Elsevier, 1987. p.3.

JARCHO, M. Retrospective analysis of hydroxyapatite development for oral implant applications. Dent. Clin. North. Am., Philadelphia, v.36, n.1, p.19-26, 1992.

JOHNSON, R.B.; GILBERT, J.A.; COOPER, R.C.; DAI, X.; NEWTON, B.I. Alveolar bone loss year following ovariectomy in sheep. Jour. Periodon., v.68, n.9, p.864-871, 1997.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Histología Basica. 9na Edição, Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro.1999, p.122-127.



KAWACHI, E.; BERTRAN, C.; REIS, R.; ALVES, O. Biocerâmicas: Tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. Química Nova, v.23, n.4, p.518-522, 2000.

KAWANO, S.; KANDA, K.; OHMORI, S.; IZUMI, R. Effect of estrogen on the development of disuse atrophy of bone and muscle induced by tail-suspension in rats. Environ. Med., v.41, n.2, p.89-92, 1997.

LAWSON, A. C.; CZERNUSKA, J. T. Collagen-calcium phosphate composites. Proc. Inst. Mech. Eng., v.212, p.413-425, 1998.

LIBERMAN, U. A. Effect of oral alendronate on bone mineral density and incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. N. Engl. J. Med., v.333, p.1437-1443, 1995.

MALLUCHE, H.H.; FAUGERE, M.C.; RUSH, M.; FRIEDLER, R. Osteoblastic insufficiency is responsible for maintenance of osteopenia after loss of ovarian function in experimental Beagle dogs. Endocrinology, v.119, p.2643, 1986.

MALLUCHE, H.H.; FAUGERE, M.C.; RUSH, M.; FRIEDLER, R.; FANTI, P. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> corrects bone loss but suppresses bone remodeling in ovariectomized Beagle dogs. Endocrinology, v.122, n.5, p.1998-2006, 1988.

MANN, S.; WEBB, J.; WILLIAMS, R. J. P. Biomineralization: chemical and biochemical perspectives, Weinheim: VCH, 1989.

MARKEL, M.; CHAO, E. Noninvasive monitoring techniques for quantitative description of callus mineral content and mechanical properties. Clin. Orthop. Rel. Res., v.293, p.37-45, 1993.

MASARACHIA, P. Comparison of the distribution of 3H-alendronate and 3H-etidronate in rat and mouse bone. Bone, Elmsford, v.18, p.281-290, 1996.



METSGER, D. S.; RIEGER, M. R.; FOREMAN, D. W. Mechanical properties of sintered hydroxyapatite and tricalcium phosphate ceramic. *J. Mater. Sci.-Mater. Med.*, v.10, p.9-17, 1999.

MEYER, R.A.; TSAHAKIS, P.J.; MARTIN, D.F.; BANKS, D.M.; HARROW, M.E.; KIEBZAK, G.M. Age and ovariectomy impair both the normalization of mechanical properties and the accretion of mineral by the fracture callus in rats. *Jour. Orthop. Res.*, v.19, n.3, p.428-35, 2001.

POLS, H. P.; FELSEBERG, D.; HANLEY, D. Z. Multinational, placebo-controlled, randomized trail of the effects of alendronate on bone density the FOSIT study. *Osteoporose*, v.23, n.9, p.461-468, 1999.

RAGI, S. Diagnóstico densitométrico da osteoporose. *Perspectivas Técnicas*. [www.sbdens.org.br/artigos.htm](http://www.sbdens.org.br/artigos.htm).2003.

RIGO, E. C. S.; OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, L. A.; SANTOS, L.; BOSCH, A.; CARRODEGUAS, R. G. Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita. *Ver. Brás. De Eng. Biomed.* V.15, n.1-2, p.21-29, 1999.

SKOLNIKOV, A. A.; KODENTSOVA, V. M.; SPIRICHEV, V B. The calcium and phosphorus content of the bone tissue in ovariectomized rats with a fracture of the tibia: the effect of vitamin K and vitamin D metabolites. *Fisiology*, v.38, n.29-36, 1992.

SOUZA, A.; BORGES, J.; RAGI, S.; HOLLANDA, R. Ultrasonometria óssea. 2001. [www.fertile.com.br/pages/folder11/arti04-040700.htm](http://www.fertile.com.br/pages/folder11/arti04-040700.htm).

VALLET-REGI. Introduction to the world of biomaterials. *Anal. Quim. Int.*, v.93, n.6, p.56-70, 1997.

WHEELER, D.L.; ESCHBACH, E.J.; MONTFORT, M.J.; MAHESHWARI, P.; MCLOUGHLIN, S.W. Mechanical strength of fracture callus in osteopenic bone at different phases of healing. *Jour. Orthop. Trauma.*, v.14, n.2, p.86-92, 2000.



WHITE, E.; SHORS, E. C. Biomaterial aspects of interpore-200 porous hydroxyapatite. Dental Clinic. Of North Amer., Philadelphia, v. 30, n.1, p.49-67, 1986.

WILLIAMS, D. F. in: definitions in biomaterials; Ed.; Elsevier Amsterdam, p.66-71, 1990.

WILSON, J. Biomateriales. An. Quím. V.93, n.15, 1997

