

USO DA TERMOGRAFIA E ULTRASSONOGRAFIA *POWER DOPPLER* PARA AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TECIDUAL EM FALHAS ÓSSEAS PREENCHIDAS COM BIOMATERIAL EM OVINOS

TERMOGRAPHY AND POWER DOPPLER SONOGRAPHY ASSESSMENT FOR TISSUE RESPONSE EVALUATION IN SHEEP BONE DEFECTS FILLED WITH BIOMATERIAL

D. C. B. SILVA¹, N. F. PARETSIS¹, G. M. MARCONDES¹, A. L. V. ZOPPA²

RESUMO

Biomateriais tem diversas indicações como auxiliares no processo de reparação óssea, além de terem função de substituto ósseo em perdas extensas. Diversas são as vantagens de sua utilização, como por exemplo, auxílio na osteocondutividade, estímulo de neovascularização, potencial antimicrobiano, entre outros. Falhas ósseas foram realizadas nas tíbias de seis ovinos da raça Santa Inês e preenchidas com biomaterial à base de quitosana, colágeno e hidroxiapatita. Um membro foi considerado controle e outro membro tratado segundo estudo randomizado. Foram realizadas avaliações termográficas e por ultrassonografia *Power Doppler* em todos os animais do estudo, semanalmente, nos dias D0, D7, D14, D21, D28, D35, D42 e D56. Não houve diferenças significativas com relação à temperatura mínima, máxima e média entre os grupos com biomaterial e controle nas imagens termográficas. Houveram variações com relação ao tempo dentro de ambos os grupos. Com relação à presença de vasos na ultrassonografia *Power Doppler* não houve diferenças estatísticas entre os grupos, exceto no dia 21 ($P=0,031$). Dentro das possibilidades de avaliação que os exames de imagem fornecem, a termografia e a ultrassonografia *Power Doppler* mostraram-se ferramentas não invasivas de avaliação pós-operatória de processo inflamatório e neovascularização, sendo realizadas semanalmente, permitindo acompanhamento fidedigno e detalhado ao longo do experimento, sem gerar desconforto ou estresse aos animais. Não houve indícios de complicações relacionadas ao biomaterial.

PALAVRAS-CHAVE: Grandes animais. Fratura. Neovascularização. Padrão térmico.

SUMMARY

Biomaterials have several indications supporting the bone repair process, besides having bone substitute function in extensive losses. There are several advantages of its use, such as contribution in osteoconductivity, stimulation of neovascularization, antimicrobial potential, among others. Tibial bone defects was performed in six Santa Inês breed ewes and implanted with chitosan, collagen and hydroxyapatite biomaterial. One limb was considered the control limb and the other one the biomaterial limb, chosen randomly. Thermographic and *Power Doppler* sonography was performed in all animals, weekly for 56 days. The thermography showed no significant differences related to low, high and mean temperature between the control and the biomaterial groups. Statistical variations were found between time in both groups. The visualization of neovascularization with the *Power Doppler* sonography did not present statistical differences, except for day 21 ($P=0,031$). Within the possibilities provided by imaging exams, thermography and *Power Doppler* sonography demonstrate to be non-invasive methods for post-operative evaluation of inflammatory process and neovascularization. The weekly management allowed reliable and detailed monitoring throughout the experiment, without causing discomfort or stress to the animals. There was no evidence of biomaterial complications.

KEY-WORDS: Large Animals. Fracture. Neovascularization. Thermal pattern.

¹ Programa de Pós-graduação em Veterinária e Cirurgia (VCI), Faculdade de Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP); Autor para correspondência: baccarellisilva@gmail.com

² Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

INTRODUÇÃO

Existem inúmeras razões para o desenvolvimento dos biomateriais, especialmente para o uso em tecidos ósseos. O osso possui grande capacidade de regeneração, porém, fraturas extensas com perda óssea podem precisar de intervenção com a ajuda de biomateriais que permitam a sequência do processo cicatricial. Os biomateriais sintéticos são alternativas aos enxertos autógenos ou alógenos, mas precisam se enquadrar em alguns parâmetros como: osteocondução para facilitar a formação óssea, porosidade, para permitir transporte de nutrientes, neovascularização e crescimento ósseo, compatibilidade biomecânica e biodegradabilidade (AHSAN et al., 2017).

Exemplos de sua utilização incluem preenchimento de defeitos ósseos extensos na ortopedia, com objetivo de serem submetidos a cargas mecânicas, além da odontologia e cirurgias orais e cirurgias bucomaxilofaciais em humanos (KAWACHI et al., 2000; AMARAL, 2020).

A quitosana tem sido amplamente utilizada em medicina por suas características antimicrobianas e sua capacidade de acelerar a cicatrização devido à sua natureza catiônica. Existem descrições na literatura de que a quitosana tem papel importante na proliferação celular, diferenciação osteoblástica e mineralização (SARAVANAN et al., 2016; AHSAN et al., 2017).

A quitosana e hidroxiapatita são dois materiais biocompatíveis e biodegradáveis com osteocondutividade já bem estabelecida. Estes biomateriais têm sido utilizados isolados ou em conjunto. A quitosana é bem reportada por sua característica de aceleração do processo de regeneração óssea, porém, a atividade osteogênica da quitosana isolada é inferior a associação da mesma com a hidroxiapatita (AHSAN et al., 2017).

Autores citam a utilização da hidroxiapatita por suas propriedades osteocondutoras, e sua possibilidade de sustentar a colonização celular *in vivo* melhorando assim a neoformação óssea (LOVATI et al., 2016). Como biomaterial, o colágeno possui importantes características como biodegradabilidade, baixa antigenicidade e biocompatibilidade superior aos outros polímeros naturais, como albumina e gelatina (LEE et al., 2001).

A termografia é método diagnóstico que envolve o registro de padrões térmicos cutâneos gerados pela emissão de calor de superfície. Estes padrões formam um mapa de cores (LOUGHIN; MARINO, 2007; MARCONDES et al., 2015).

A circulação local e o metabolismo tecidual influenciam a temperatura superficial. Alterações na temperatura superficial estão relacionadas a mudanças na perfusão tecidual, que estão associadas à vascularização e suprimento sanguíneo. Estas alterações são as bases da representação termográfica. A termografia é um método de avaliação em tempo real, e capta as mudanças de forma dinâmica do objeto em estudo de forma não invasiva (NÓBREGA et al., 2014).

A ultrassonografia tem um grande número de vantagens sobre outras técnicas de imagem. É segura, não invasiva (D'AGOSTINO et al., 2003; WAKEFIELD et al., 2003; FILIPPUCCI et al., 2015) e não emite radiação ionizante (WAKEFIELD et al., 2003).

O *Power Doppler* (PD) é uma modalidade de *Doppler* colorido extremamente sensível à detecção de fluxos sanguíneos de baixa intensidade. O PD permite a visualização de pequenos vasos e perfusão tecidual, que são indetectáveis pela investigação convencional do *Doppler* (NYLAND; MATTOON, 1995).

As fraturas interrompem o suprimento sanguíneo, e o pré-requisito para regeneração óssea é a vascularização adequada. Se a restauração do fluxo falhar, isso retardará a união ou até mesmo resultará em não união óssea. A angiogênese ou neovascularização é a germinação do endotélio da vascularização pré-existente e tem papel indispensável na cicatrização de fraturas. A isquemia no local da fratura corresponde a não formação do calo ósseo (CHEUNG et al., 2012; BACCARELLI et al., 2017).

Enquanto ocorre a regeneração óssea, a neovascularização se desenvolve e depois regride. A avaliação da neovascularização auxilia no diagnóstico precoce de união ou não união no foco de fratura. A neovascularização pode ser acompanhada por cintigrafia ou venografia intraóssea, mas estes procedimentos são caros e requerem sedação ou anestesia. O *Power Doppler* não gera informação quanto à velocidade, mas é sensível com relação ao volume pequeno de sangue e menos dependente de ângulo (RISSELADA et al., 2006).

A avaliação ultrassonográfica *Power Doppler* tem sido realizada em grandes animais devido à sua característica de não ser invasiva. Estudos com falhas ósseas em equinos (NÓBREGA, 2014; BUENO, 2020) e ovinos (PARETSIS, 2020) mostraram evidências de neovascularização já nas primeiras semanas pós-operatórias.

Estudos recentes demonstram a relação do biomaterial com a presença de vasos neoformados. Os vasos que se apresentam intercalados com os biomateriais sugerem um estímulo vasculogênico realizado por estes. Este estímulo ocorre devido a presença de hidroxiapatita, junto com o colágeno e a quitosana, que possuem características que beneficiam o crescimento tecidual e osteocondução (AMARAL, 2020).

Os objetivos do presente trabalho incluem a utilização da termografia para acompanhamento do processo inflamatório e ultrassonografia *Power Doppler* para avaliar a neovascularização e resposta tecidual de falhas ósseas induzidas em tíbias de ovinos, preenchidas ou não com biomaterial.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, sob o protocolo no. 2455140714.

Seis ovinos, fêmeas, adultos, da raça Santa Inês foram submetidos à osteotomia circular unicomitral de 5 mm em face medial das tíbias de ambos membros posteriores (PARETSIS et al., 2016; PARETSIS et al., 2017). Uma ordem aleatória de números entre 01 e 06 (identificação dos números de cada animal) foi gerada, usando o comando "sample" [sample (1:6, replace = FALSE, prob = NULL)] do pacote base do programa R (versão 4.2.2), onde os três primeiros números receberam o biomaterial no membro direito, e os números subsequentes no membro esquerdo. O preenchimento da

falha foi feito com biomaterial à base de quitosana, hidroxiapatita e colágeno. Os membros contralaterais não foram preenchidos e foram admitidos como membros controle.

Foram realizados exames termográficos com a termocâmera FLIR T440. Os animais permaneceram sem bandagens por 30 minutos antes da obtenção das fotos para aclimatização. As imagens foram obtidas a um metro de distância dos membros operados, sempre no mesmo horário e mesmo ambiente, sem incidência solar.

Os animais foram contidos fisicamente e não houve necessidade de sedação em nenhum intervalo de

avaliação. Os exames termográficos foram realizados semanalmente nos momentos D0, D7, D 14, D 21, D 28, D35, D 42, D 49 e D 56. Ao final do pós-operatório, as imagens foram submetidas ao programa *FLIR Quick Report 1.2* (Flir Systems, 2009) (Figura 1) e foram avaliadas sob a variação de temperatura entre 16,2°Cs e 40,2°C(intervalo de temperatura que demonstrou melhor qualidade nas imagens) na paleta *Rain Hi*. A área a ser selecionada para avaliação de temperatura foi determinada individualmente, de acordo com a posição da mesma e ângulo de obtenção da foto.

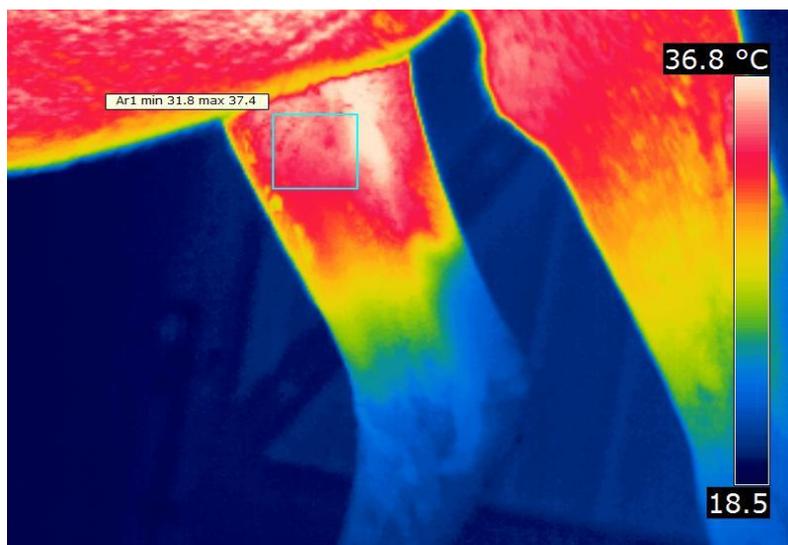


Figura 1 - Imagem termográfica.

Legenda: SILVA, D. C. B. **Termografia em membro de ovinho. Apresentação da temperatura máxima e mínima no programa *FLIR Quick Report 1.2*** (Flir Systems, 2009). FMVZ-USP, São Paulo-SP, 2023.

Foram realizados exames ultrassonográficos *Power Doppler* semanalmente em região medial de tíbia em ambos os grupos, biomaterial (Figura 2) e controle (Figura 3) nos momentos D0, D7, D 14, D 21, D 28, D35, D 42, D 49 e D 56. D56. O ultrassom *MyLab™30Gold VET* foi utilizado para estas avaliações, na função *Power Doppler*, na frequência 6.6

MHz, com ganho superior a 79% e PRFs 1,4 kHz e 6,7 kHz. Os animais foram contidos fisicamente e não houve necessidade de sedação em nenhum intervalo de avaliação. Foram consideradas presença e ausência de vasos nos membros com biomaterial e membros controle ao longo do pós-operatório.



Figura 2 - Ultrassonografia *Power Doppler*.

Legenda: SILVA, D. C. B. **Ultrassonografia *Power Doppler* em membro com biomaterial. Presença de vasos sanguíneos no centro da falha preenchida com biomaterial.** FMVZ-USP, São Paulo-SP, 2023.



Figura 3 - Ultrassonografia Power Doppler.

Legenda: SILVA D. C. B. **Ultrassonografia Power Doppler em membro controle. Presença de vasos sanguíneos no centro da falha óssea em um membro controle.** FMVZ-USP, São Paulo-SP, 2023.

RESULTADO E DISCUSSÃO

A metodologia referente à possibilidade de utilização dos ovinos como modelo experimental, da confecção da falha óssea e das medicações e manejo de feridas realizadas em pós-operatório foi efetiva como previamente descrito (PARETSIS et al., 2016).

A utilização da termografia e da ultrassonografia *Power Doppler* deveu-se ao fato de serem avaliações não invasivas, sem necessidade de contenção química e sem gerar estresse aos animais, como já previamente descrito na literatura (NOBREGA, 2014; MARCONDES et al., 2015; NOBREGA et al., 2015; BACCARELLI et al., 2017). Os exames não invasivos permitem possibilidade de repetição ao longo do pós-operatório, gerando então mais dados e consequentemente fornecendo dados mais fidedignos.

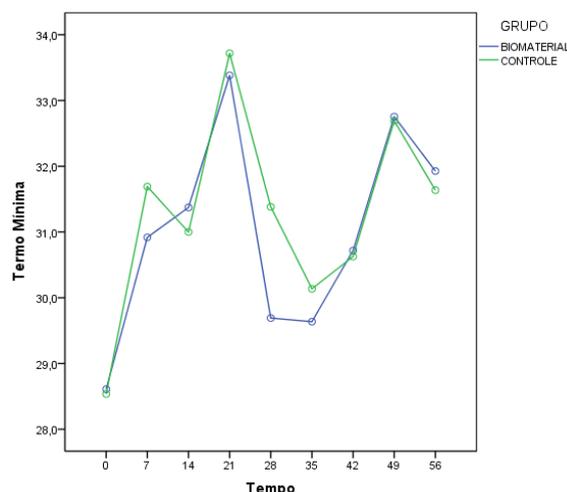
Os animais permaneceram sem bandagens para aclimatização. As imagens foram padronizadas para serem obtidas a um metro de distância dos membros operados,

sem alterações de horário e ambiente, para minimizar quaisquer interferências no momento da obtenção (BASILE et al., 2010; MARCONDES et al., 2015; NOBREGA et al., 2015), o que permitiu um padrão no momento da realização das imagens.

Foram avaliados os dados de temperatura mínima, máxima e média nos grupos controle e biomaterial. Em relação às temperaturas mínima (Gráfico 1), máxima (Gráfico 2) e média (Gráfico 3), não houveram diferenças estatísticas entre os grupos, mas houve com relação ao tempo dentro de cada grupo.

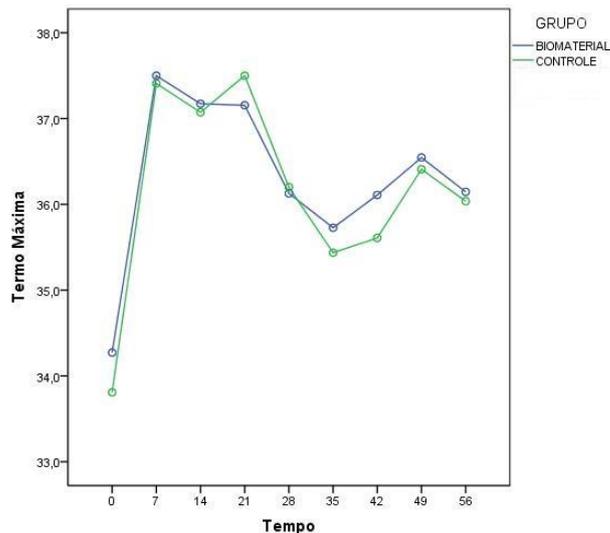
A ausência de diferença estatística dos padrões térmicos entre o grupo controle e o grupo biomaterial sugere que o biomaterial apresentou biocompatibilidade, sem alterações clínicas e reconhecimento pelo organismo como corpo estranho. Tal fato foi demonstrado também através de histologia e histomorfometria conforme descrito por Paretsis et al. (2017).

Gráfico 1 - Gráfico descritivo da temperatura mínima entre os grupos ao longo do tempo



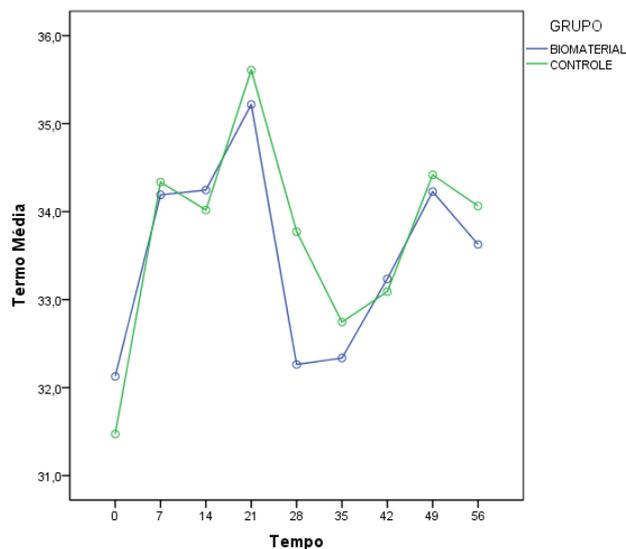
Fonte: (SILVA, D. C. B., 2023).

Gráfico 2 - Gráfico descritivo da temperatura máxima entre os grupos ao longo do tempo



Fonte: (SILVA, D. C. B., 2023).

Gráfico 3 - Gráfico descritivo da temperatura média entre os grupos ao longo do tempo.



Fonte: (SILVA, D. C. B., 2023).

Os picos de temperatura que ocorreram entre o décimo quarto e vigésimo primeiro dia (em ambos os grupos) corroboram com estudos prévios em equinos e ovinos que obtiveram resultados semelhantes (NÓBREGA et al., 2014; MARCONDES et al., 2015). Estudo prévio (NÓBREGA et al., 2014) obtiveram maiores temperaturas neste período do pós-operatório utilizando biomaterial de Poliuretana de Mamona, porém, no presente estudo, os membros controle e tratados com biomaterial apresentaram este aumento no mesmo momento. Isto está provavelmente relacionado ao pico de neovascularização, e sugere ausência de reação exacerbada com a utilização do biomaterial utilizado neste estudo.

O *Power Doppler* mostrou-se eficiente na detecção de vasos sanguíneos neoformados nas configurações propostas. Foi possível a visualização de vasos neoformados em ambos os grupos. Não houve visualização de vasos no D0 e no D7 em nenhum dos

grupos. Ao longo de toda a avaliação pós-operatória houve diferença estatística apenas no dia 21 ($P=0,031$), onde há maior frequência de presença de vasos no grupo controle (Tabela 1).

Romualdo (2015) descreve que as frequências mais altas que o transdutor linear possui permitem que o mesmo avalie estruturas mais superficiais, como vasos em membros. Além disso, a escolha do transdutor linear deveu-se ao fato da região medial da tíbia dos ovinos possuir pouco recobrimento por musculatura, conferindo uma característica plana à região. A utilização deste transdutor permitiu a confecção das imagens *Power Doppler* e permitiu a visualização de vasos sanguíneos neoformados ao longo do pós-operatório.

A presença de vasos sanguíneos foi observada a partir do décimo quarto dia em ambos os grupos e apresentou pico de ocorrência de vasos no D21. Bueno (2020) iniciou a visualização de vasos no sétimo dia pós-

operatório, mas referiu presença dos mesmos até o vigésimo oitavo dia em falhas ósseas não preenchidas de equinos. Já Paretis (2020) iniciou a visualização de vasos

neoformados no trigésimo dia de pós-operatório de ovinos submetidos a falhas ósseas críticas.

Tabela 1 - Tabela comparativa da frequência da presença de vasos entre os grupos biomaterial e controle

| Tempo | Presença de vaso | | Valor de p |
|-------|-------------------|----------|--------------|
| | Grupo BIOMATERIAL | CONTROLE | |
| 0 | - | - | 1,000 |
| 7 | - | - | 1,000 |
| 14 | 2 | 6 | 0,125 |
| 21 | 4 | 10 | 0,031 |
| 28 | 3 | 8 | 0,063 |
| 35 | 2 | 3 | 0,999 |
| 42 | - | 3 | - |
| 49 | - | 3 | - |
| 56 | 1 | 3 | 0,500 |

Fonte: (SILVA, D. C. B., 2023).

Dados apresentados pela frequência absoluta. Alguns valores de p não podem ser calculados pela falta de sujeitos na categoria.

Baccarelli et al (2017) descreveram a visualização de vasos neoformados em pós-operatório de fratura de tibia em ovino com placa bloqueada à partir do décimo quarto dia. Risselada et al. (2006) apresentaram o acompanhamento de 51 casos de cães e gatos com fraturas e utilizaram o *Power Doppler* no pós-operatório. Os autores citaram maior intensidade da presença de vasos entre 11 e 20 dias de pós-operatório.

A visualização de vasos sanguíneos mais frequente e constante nos membros dos animais do grupo controle pode sugerir que o biomaterial age de certa forma como barreira mecânica para a manifestação dos mesmos. Paretis (2020) obteve resultados semelhantes, com defeitos críticos em tíbias de ovinos, onde a presença de vasos foi mais frequente nos membros sem preenchimento e nos membros preenchidos com biomaterial e enriquecidos com células tronco, do que nos membros com biomaterial apenas.

Nyland e Mattoon (1995) indicaram o *Power Doppler* para a visualização de pequenos vasos e baixa perfusão tecidual, e por este motivo, foram selecionados para a detecção de vasos neoformados ao redor e dentro das falhas ósseas estabelecidas, e apesar de não serem identificados vasos em toda a sequência do pós-operatório, a presença dos mesmos já dá indícios de que haverá reparo ósseo.

Cheung et al. (2012) descreveram que a vascularização adequada é pré-requisito para cicatrização óssea. Risselada et al. (2006) corroboram com estas informações e ainda destacam que a presença de vasos sanguíneos pode auxiliar no diagnóstico precoce de união ou não união nos casos de fraturas. No presente experimento todos os animais apresentaram vascularização em algum momento do pós-operatório e todos apresentaram regeneração óssea na falha.

Em cães, a utilização do *Power Doppler* já é mais estabelecida. Pozzi et al. (2012) citaram inclusive presença abundante de vasos em pós-operatórios de osteossíntese, diferente do que foi observado no presente estudo, o que pode ser explicado devido ao tamanho da falha e técnica sem elevado grau de invasividade, quando comparado a casos de fratura seguida de osteossíntese, o que é possível extrapolar para ovinos de acordo com publicações referentes a fraturas nesta espécie (BACCARELLI et al., 2017).

CONCLUSÃO

A termografia e a ultrassonografia *Power Doppler* permitiram a avaliação pós-operatória de forma não invasiva nos ovinos, e podem ser utilizadas em pós-operatórios de fraturas em grandes animais. A termografia permitiu acompanhar o processo inflamatório ao longo de todo o pós-operatório sem variações entre os grupos. A ultrassonografia *Power Doppler* permitiu a visualização de neovascularização em ambos os grupos. Ambos resultados foram associados a reparo ósseo ao final das avaliações. Não houve indícios de processo inflamatório exacerbado e nenhum dos animais apresentou complicações referentes ao biomaterial.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. André Luis do Valle De Zoppa; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo e o auxílio pesquisa e ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo. Ao Prof. Dr. Luis Cláudio Lopes Correia da Silva pela colaboração no uso da termocâmara e ultrassom.

REFERÊNCIAS

- AHSAN, S. M.; THOMAS, M.; REDDY, K. K.; SOORAPARAJU, S. G.; ASTHANA, A.; BHATNAGAR, I. Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.110, p. 97-109, 2018.
- AMARAL, M. B.; VIANA, R. B.; VIANA, K. B.; DIAGONE, C. A.; DENIS, A. B.; PLEPIS, A. M. G. **In vitro and in vivo response of composites based on chitosan, hydroxyapatite and collagen**. Acta Scientiarum. Technology, v. 42, n. 41102, 2020.
- BACCARELLI, D. C.; PARETSIS, N. F.; LHAMAS, C. L.; CORRÊA, R. R.; SPAGNOLO, J. D.; BENESI, F. J.; MANCHINI, G.; ZOPPA, A. L. do V. De. **Power Doppler sonography in the assessment of neovascularization following surgical fracture repair in sheep: case report**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 54, n. 3, p. 283–286, 2017.
- BASILE, R. C.; BASILE, M. T.; FERRAZ, G. C.; PERREIRA, M. C.; QUEIRÓZ-NETO, A. Equine inflammatory process evaluating using quantitative thermography methodology. **ARS Veterinária**, v. 26, n. 1319, p. 1-8, 2015.
- BUENO, F. U. Tese de doutorado: Ultrassonografia Power Doppler no acompanhamento da cicatrização óssea de falha induzida em III metacarpiano de equinos. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, 2020. 61p.
- CHEUNG, W.; SUN, M.; ZHENG, Y.; CHU, W. C.; LEUNG, A. H.; QIN, L.; WEI, F.; LEUNG, K. Stimulated angiogenesis for fracture healing augmented by low-magnitude, high frequency vibration in a rat model-Evaluation of pulsed wave Doppler, 3-D Power Doppler ultrasonography. **Ultrasound in Medicine and Biology**, v. 38, n. 12, p. 2120-2129, 2012.
- D'AGOSTINO, M. A.; SARD-NAHAL, R.; HACGUARD-BOUDER, C.; BRASSER, J. L.; DOUGADOS, M.; BREBAN, M. Assessment of peripheral entheses in the spondylarthropathies by ultrasonography combined with *Power Doppler*. A cross-sectional study. **Arthritis & Rheumatism**, v. 48, n. 2, p. 523-533, 2003.
- FILLIPUCCI, E.; IAGNOCCO, A.; SALAFFI, F.; CERIONI, A.; VALESINI, G.; GRASSI, W. Power Doppler Sonography monitoring of synovial perfusion at the wrist joints in patients with rheumatoid arthritis treated with adalimumab. **Annals of the Rheumatic Diseases**, n. 65, p. 1433-1437, 2015.
- KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; DOS REIS, R. R.; ALVES, O. L. Biocerâmicas: Tendências de uma área interdisciplinar. **Química nova**, v. 23, n. 4, p. 518-522, 2000.
- LEE, C. H.; SINGLA, A.; LEE, Y. Biomedical applications of collagen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 221, p. 1-22, 2001.
- LOUGHIN, C. A.; MARINO, D. J. Evaluation of thermographic imaging of the limbs of health dogs. **American Journal of Veterinary Research**, n. 10, p. 1064-1069, 2007.
- LOVATI, A. B. In vivo bone formation within engineered hydroxyapatite scaffolds in a sheep model. **Calcified Tissue International**, v. 99, p. 209-223, 2016.
- MARCONDES, G. M.; NÓBREGA, F. S.; PEDRON, B. G.; CORTOPASSI, S. R. G.; HAGEN, S. C. F. ZOPPA, A. L. V. Utilização de métodos não invasivos de imagem para a avaliação da regeneração óssea em falhas ósseas induzidas experimentalmente em III/IV metacarpianos de ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 43, n. 1319, p. 1-8, 2015.
- MARCONDES, G. M.; NOBREGA, F. S.; CORRÊA, L.; ARANA-CHAVEZ, V. E.; PLEPIS, A. M. G.; MARTINS, V. C. A.; ZOPPA, A. L. V. Avaliação da interação biológica entre composto de quitosana, colágeno e hidroxiapatita e tecido ósseo ovino. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 68, n. 6, p. 1531–1538, 2016.
- 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.
- NÓBREGA, F. S.; FERREIRA, M. P.; FACÓ, L. L.; SELIM, M. B.; ZOPPA, A. L. V.; Uso da termografia para a avaliação da resposta tecidual após implante de polímero a base de poliuretano de mamona em osso II metacarpiano de equinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 42, n. 1246, p.1-5, 2014.
- NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S. **Small animal diagnostic ultrasound**. 2. ed. Philadelphia: Saunders, 1995. p. 1-29.
- PARETSIS, N. F.; ARANA-CHAVEZ, V. E.; CORREA, L.; PLEPIS, A. M. G.; MARTINS, V. C. A.; CORTOPASSI, S. R. G.; ZOPPA, A. L. V. Avaliação histológica e histomorfométrica da regeneração óssea a partir da utilização de biomateriais em tíbias de ovinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 37, n. 12, p. 1537–1544, 2017.
- PARETSIS, N. F.; BACCARELLI, D. C.; LHAMAS, C. L.; ALONSO, D. C.; NÓBREGA, F. S.; ZOPPA, A. L. V. Osteotomia De Tíbia Em Modelo Experimental Ovino Para Estudo De Regeneração Óssea. **Ars Veterinaria**, v. 32, n. 1, p. 01–08, 2016.

PARETSIS, N. F. Tese de doutorado: Avaliação da regeneração óssea por métodos de imagem, a partir de falhas segmentares preenchidas com biomaterial, em tibia de ovinos. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2020. 127p.

POZZI, A.; RISSELADA, M.; WINTER, M. D. Assessment of fracture healing after minimally invasive plate osteosynthesis on open reduction and internal fixation of coexisting radius and ulna fractures in dogs via ultrasonography and radiography. *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 241, n. 6, p. 744- 753, 2012.

R CORE TEAM (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Disponível em: <<https://www.R-project.org>> (Accessed on November 02, 2022).

RISSELADA, M.; KRAMER, M.; SAUNDERS, J. H.; VERLEYEN, P.; VAN BREE, H. V. *Power Doppler* assessment of the neovascularization during uncomplicated fracture healing of long bones in dogs and cats. ***Veterinary Radiology and Ultrasound***, v. 47, n. 3, p. 301-306, 2006.

ROMUALDO, A. P. *Doppler sem segredos*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p.1-15.

SARAVANAN, S.; LEENA, R.S.; SELVAMURUGAN, N. Chitosan based biocomposite scaffolds for bone tissue engineering. ***International Journal of Biological Macromolecules***, v.93, p.1354-1365, 2016.

WAKEFIELD, R. J.; BROWN, A. K.; O'CONNOR, P. J.; EMERY, P. *Power Doppler* sonography. Improving disease activity assessment in inflammatory musculoskeletal disease. ***Arthritis & Rheumatism***, v. 49, n. 2, p. 285-288, 2003.