

Átila Roberto Rodrigues

Efeito do número de sessões de oxigenoterapia hiperbárica na biomecânica e reparação de tecido ósseo irradiado ou não irradiado em ratos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre Odontologia.

Área de Concentração: Clínica Odontológica Integrada.

Uberlândia
2015

Átila Roberto Rodrigues

**Efeito do número de sessões de oxigenoterapia
hiperbárica na biomecânica e reparação de
tecido ósseo irradiado ou não irradiado em ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia da Universidade
Federal de Uberlândia para obtenção
do Título de Mestre em Odontologia.
Área de Concentração Clínica
Odontológica

Orientador: Prof.Dr. Darceny Zanetta Barbosa

Banca examinadora:

Prof. Dr. Darceny Zanetta Barbosa

Prof. Dr. Paulo César Simamoto Júnior

Prof. Dr. Cássio Edvard Sverzut

Uberlândia
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

R696e Rodrigues, Átila Roberto, 1987
2015 Efeito do número de sessões de oxigenoterapia hiperbárica na
 biomecânica e reparação de tecido ósseo irradiado ou não irradiado em
 ratos / Átila Roberto Rodrigues. - 2015.
 45 f. : il.

Orientador: Darceny Zanetta Barbosa.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Odontologia.
Inclui bibliografia.

1. Odontologia - Teses. 2. Radioterapia - Teses. 3. Oxigenoterapia –
Teses. I. Barbosa, Darceny Zanetta. II. Universidade Federal de
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDU: 616.314



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa de: Dissertação de Mestrado Acadêmico nº274 - COPOD

Data: 24/02/2015

Discente: Átila Roberto Rodrigues, Matrícula: (11312ODO001)

Título do Trabalho: Efeito do número de sessão de oxigenoterapia hiperbárica na reparação de tecido ósseo irradiado ou não irradiado em ratos.

Área de concentração: Clínica Odontológica Integrada.

Linha de pesquisa: Processo de Reparo

Projeto de Pesquisa de vinculação: Processo de Reparo

As **quatorze** horas do dia **vinte e quatro de fevereiro do ano de 2015** no Anfiteatro Bloco 4L, Anexo A, Sala 23, Campus Umarama da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em janeiro 2015, assim composta: Professores Doutores: Paulo César Simamoto Júnior (UFU); Cássio Edvard Sverzut (USP); e Darcey Zanetta Barbosa (UFU) orientador(a) do(a) candidato(a) **Átila Roberto Rodrigues**.

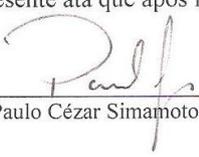
Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa Dr. Darcey Zanetta Barbosa apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de argüição e resposta foram conforme as normas do Programa.

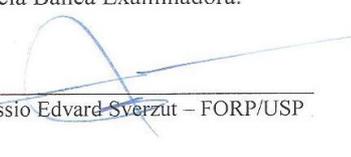
A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadore (a)s, que passaram a argüir o(a) candidato(a). Ultimada a argüição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais.

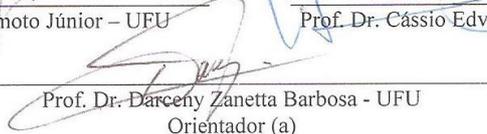
Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou o(a) candidato(a) A provado(a).

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos às 17 horas e 10 minutos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof. Dr. Paulo César Simamoto Júnior – UFU


Prof. Dr. Cássio Edvard Sverzut – FORP/USP


Prof. Dr. Darcey Zanetta Barbosa - UFU
Orientador (a)



Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Uberlândia, MG. Av. Pará s/n, Bloco 4LB, Sala 4L B35, Fone:(34) 3225 8115, www.pogo.fo.ufu.br, copod@umarama.ufu.br.

DEDICATÓRIA

Agradeço a Deus por ter me dado forças, paz e serenidade para a realização desse sonho e me ajudado a superar um período muito conturbado, mas de intenso aprendizado em minha vida.

À minha mãe querida, minha eterna incentivadora, exemplo de luta e determinação que me fez enxergar mesmo na escuridão o caminho da luz do conhecimento e do bem como uma alternativa para mudar minha história social e cultural. Com paciência e compreensão incentivou sempre e não cobrou nunca em todos os momentos da minha vida. Obrigado por tudo minha mãe, esta conquista é mais uma graças a você o alicerce de nossa família. Te amo muito.

Ao meu pai, que quando fisicamente entre nós, foi exemplo de amor e carinho.

A minhas irmãs Letusa e seu bendito fruto Guilherme e Letícia, que é sempre serão minhas grandes companheiras das horas boas e ruins, as quais amo imensamente.

À minha noiva e futura esposa Rayssa, que me transmite paz de espírito, muito amor e carinho. No final desta etapa, lhe agradeço por estar presente em todas as renúncias para colhermos juntos as recompensas. Durante os desafios você é a minha energia, minha motivação, a força que eu preciso ter e ser para que eu me torne inabalável.

À minha segunda família, Denilza, Tuany e Eduardo que sempre me recebem de portas abertas e com muito carinho, durante grande parte dos meus dias.

A todos os meus amigos da Residência, que foram irmãos que a vida escolheu e que sempre estiveram presentes no meu dia-a-dia.

À todos professores da FOUFU, funcionários e todas pessoas que fizeram parte do meu cotidiano me proporcionando momentos de alegria, necessários para encarar as tarefas árduas e obstáculos impostos pela vida.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. Darcey Zanetta Barbosa só tenho a agradecer pela oportunidade e pela confiança que depositou em mim. Sou extremamente grato e tenho enorme respeito e admiração, não só, pelo seu trabalho, mas também, por todas suas qualidades pessoais. Obrigado pela paciência, disposição e pelos conhecimentos que me transmitiu de forma aberta e tranqüila. Fiquei muito contente e orgulhoso de ter sido seu orientado, carregarei esse carinho para o resto da vida, só restaram boas lembranças. Foi excelente trabalhar e aprender com o senhor. Buscarei aprendizado contínuo em busca de novos trabalhos e desafios seguindo seus exemplos.

À professora Dra. Paula Dechichi, pos pelo exemplo de pessoa, profissional e pesquisadora. Por me ajudar em todos os momentos que precisei e pela constante disposição e ensinamentos para a concepção do meu trabalho.

À Prof. Dr. Flaviana, com que sempre compartilhei minhas dúvidas e tanto me auxiliou no andamento e execução do trabalho. Obrigado por tudo.

À Prof. Ms. Priscila Barbosa Ferreira Soares, que me auxiliou nos trabalhos e disponibilizou grande parte do seu concorrido tempo realizando testes além da orientação na condução do trabalho. Muito obrigado!

Ao professor Dr. Rubens Spin Neto, pela disposição entusiasmo e humildade com que conduziu o ensino e entendimento dos resultados obtidos.

Ao meu grande amigo e cirurgião Maiolino Thomaz e sua Esposa Aline, pela paciência oportunidades, apoios e conhecimentos transmitidos durante toda esta jornada juntos. Contem sempre comigo meus amigos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia (FOUFU).

Ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia.

A todos os companheiros de pós-graduação que estiveram presentes nesta etapa.

*“Na ausência dos fatos, a dúvida se
justifica no homem ponderado. A
educação, se bem compreendida, é a
chave do progresso moral.”*

Allan Kardec

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	1
RESUMO	2
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO E REFERÊNCIAL TEÓRICO	4
2. PROPOSIÇÃO	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	11
4. RESULTADOS	25
5. DISCUSSÃO	29
6. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	34
ANÊXOS	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATA – Pressão atmosférica absoluta

OHB – Oxigenoterapia Hiperbárica

ONR – Osteorradionecrose

N – Newtons

mJ – milijoules

Kgf - Quilograma força

mm – milímetro

μ - micrometro

N / mm – Newton por milímetros

micro CT – Microtomografia Computadorizada

kV – Quilovolt

PO₂ – Pressão de oxigênio

rpm – Rotações por minuto

Kg - kilograma

Gy - Gray

RESUMO

A oxigenoterapia hiperbárica (OHB) tem sido utilizada na tentativa de minimizar os riscos de osteorradionecrose (ORN) e obter sucesso nos procedimentos cirúrgicos que envolvam manipulação de tecidos ósseos previamente irradiados. No entanto, os protocolos de aplicação da OHB ainda não estão muito bem definidos e trabalhos determinando qual o número ideal de sessões ainda não foram desenvolvidos. A presente pesquisa teve por objetivo investigar o efeito do número de sessões de OHB na arquitetura do processo de reparo e nas propriedades biomecânicas do tecido ósseo irradiado ou não irradiado. 40 ratos machos Wistar, clinicamente saudáveis, com peso entre 250 e 350 g, tiveram a perna esquerda irradiada com uma dose única de 30 Gy. Após 30 dias foram submetidos à cirurgia para confecção de um defeito ósseo e imediatamente a OHB, nas variáveis de 0, 10, 20, 30 e 40 sessões, em 90 minutos por dia, sob 2,5 ATA. Os animais foram sacrificados e as tíbias foram submetidas ao ensaio de teste biomecânico de três pontos para calcular a força máxima (N), resistência à falha (mJ) e rigidez (N / mm). Adicionalmente foram realizados micro-CT para analisar defeitos ósseos nos fêmures em relação: (1) porcentagem de volume ósseo (BV / TV); (2) Densidade de conectividade (Conn. D); (3) Separação trabecular (Tb.Sp); (4) Espessura trabecular (Tb.Th); (5) Número de trabéculas (Tb.N). No teste de três pontos diferenças entre os grupos (I x NI) foram encontrados para 0 ($p = 0,006$), 10 ($p = 0,049$), 20 ($p = 0,027$), e 40 sessões ($p = 0,047$). Para os vários parâmetros avaliados no micro CT, foram encontradas diferenças significativas na separação trabecular, quando 0 e 20 sessões foram comparados ($p < 0,05$). A OHB favoreceu a rigidez do tecido ósseo após a radioterapia e o número de sessões de OHB utilizado não influenciou o processo de reparo do tecido ósseo em ratos.

Palavras-chave: Tecido ósseo – Radioterapia – Oxigenoterapia Hiperbárica

ABSTRACT

Hyperbaric oxygen therapy (HBO) aims to minimize the risks of osteoradionecrosis (ORN) and to obtain success in surgical procedures involving manipulation of previously irradiated bone. However, HBO application protocols are not well-defined yet, and studies determining the ideal number of sessions have not been carried out to date. This work aimed to investigate the effect of HBO on tissue healing, correlating it to particular numbers of sessions. A total of 40 clinically healthy male Wistar rats, weighing between 250 and 350 g had their left legs irradiated with a single dose of 30 Gy. After 30 days, they were submitted to surgery to create a bone defect, immediately following HBO, using the variables of 0, 10, 20, 30 and 40 sessions, over 90 minutes per day, under 2.5 ATA. The animals were sacrificed and their tibiae submitted to a three point bio-mechanic test assay to calculate maximum strength (N), work to failure (mJ) and stiffness (N / mm). In addition, micro-CT was performed to analyze bone defects in the femur regarding: (1) bone volume percentage (BV / TV); (2) connectivity density (Conn. D); (3) Trabecular separation (Tb. Sp); (4) Trabecular thickness (Tb. Th); (5) Trabeculae number (Tb.N). The three point test showed differences between the groups (I x NI) for 0 ($p = 0.006$), 10 ($p = 0.049$), 20 ($p = 0.027$), and 40 sessions ($p = 0.047$). Significant differences in trabecular separation were found among the various parameters evaluated in the micro-CT, when 0 and 20 sessions were compared ($p < 0.05$). HBO favored bone tissue rigidity after radiotherapy and the number of HBO sessions performed did not influence the bone tissue healing process in rats.

Keywords: Bone tissue - Radiation - Hyperbaric oxygen therapy

1. INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

O osso como um tecido e o esqueleto como um todo apresentam funções essenciais para o complexo funcionamento do corpo humano. Sua arquitetura em conjunto com os músculos esqueléticos, propicia um intenso dinamismo mecânico, sustentação e proteção de órgãos essenciais para o funcionamento do sistema, além do armazenamento e equilíbrio de minerais e triglicerídeos (Junqueira e Carneiro, 2004), uma reserva de energia química potencial para o corpo humano. Ademais, ossos longos apresentam em seu interior um tipo especializado de tecido conjuntivo denominado medula óssea, que trabalha intensamente na produção células mesenquimais, além de eritrócitos, leucócitos e plaquetas, processo este denominado hematopoiese, vital para o funcionamento e harmonia de todo o sistema. (Marx RE, 2007; Junqueira e Carneiro, 2004).

O tecido ósseo é constituído por uma fase inorgânica, composta essencialmente por cristais de fosfato de cálcio sob a forma de hidroxiapatita, que lhe confere uma extrema dureza e propicia o desempenho de funções como sustentação e proteção. Por sua vez, a matriz colágena, que forma a fase orgânica do tecido, lhe confere certa maleabilidade e possibilidade de extensão e flexão (Roden RD Jr, 2010; Katchburian E, Arana-Chaves V, 2004). Os osteoblastos são as células que realizam a produção e arquitetura da matriz orgânica, no entanto, durante este processo alguns acabam sendo aprisionados e formam uma rede células denominadas de osteócitos, que comunicam entre si e com os osteoblastos da superfície, permitindo a passagem de nutrientes e de muitas outras substâncias primordiais para a sobrevivência da matriz em formação, também desempenha a função de regulador da renovação óssea, através do monitoramento do fluxo de fluido através de seus processos no sistema canalicular (Chen JH, Liu C, You L, et al, 2009). Os osteoclastos, formados a partir de macrófagos, são células multinucleadas localizadas na superfície da matriz e responsável pela

reabsorção óssea, importante no processo de remodelação óssea. (Rodén RD Jr, 2010; Katchburian E, Arana-Chaves V, 2004; Junqueira e Carneiro, 2004).

Histologicamente, o tecido ósseo pode ser classificado em primário (imaturo) ou secundário (maduro ou lamelar). O tecido ósseo imaturo apresenta fibrilas colágenas sem organização definida, maior número de osteócitos incluídos na matriz óssea e menor conteúdo mineral, presentes nas suturas dos ossos do crânio, nos alvéolos dentários e em alguns pontos de inserção de tendões, além de situações que exijam uma rápida formação óssea, como acontece na reparação de uma fratura óssea. O tecido ósseo maduro apresenta fibrilas colágenas extremamente organizadas formando lamelas, constituintes de cada camada, paralelas entre si, mas dispostas segundo uma orientação diferente, formando muitas vezes um ângulo reto em relação às fibras das camadas adjacentes. Depois da fase de crescimento, os ossos de um indivíduo adulto, saudável, adquirem uma estrutura lamelar definitiva, com menor número de osteócitos incluídos na matriz e maior conteúdo mineral, que garante ao osso a resistência mecânica (Katchburian E, Arana-Chaves V, 2004). Macroscopicamente, apresenta importantes diferenças na organização estrutural e funcional. A superfície sólida e homogênea, formado por lamelas ósseas paralelas ou concêntricas (sistemas de Havers) é classificado como cortical ou compacto. Dissemelhante do esponjoso ou trabecular, que possui um arranjo trabecular delimitando pequenas cavidades preenchidas por medula óssea (Katchburian E, Arana-Chaves V, 2004).

As superfícies internas e externas dos ossos são revestidas por células osteogênicas e tecido conjuntivo, que constituem o endóstio e o perióstio, respectivamente. Estes tecidos possuem a função de nutrir o tecido ósseo e fornecer osteoblastos para o crescimento e reparação (Junqueira e Carneiro, 2004). O endóstio é mais rico em células, principalmente precursoras ósseas, e suprimento vascular, em relação ao perióstio, um conjuntivo fibroso. (Katchburian E, Arana-Chaves V, 2004; Ten Cate AR, 2001). Apesar do seu aspeto aparentemente inerte, os ossos são estruturas altamente dinâmicas, apresentando um processo combinado de formação e reabsorção, denominado de remodelação óssea. Este processo é contínuo e fisiológico, realizado por

diversas células, que assumem várias formas e funções e que, no seu conjunto, constituem a série osteoblástica e a série osteoclástica, permitindo que o tecido ósseo se renove constantemente, responda aos estímulos externos e também sofra reparação para a manutenção da microarquitetura óssea (Katchburian E, Arana-Chaves V, 2004).

Além das excelentes propriedades mecânicas, o osso é o único tecido que cura inteiramente pela regeneração celular e produção de uma matriz mineral, processo denominado de reparação óssea, diferente de outros tecidos conjuntivos, que apresentam apenas deposição de colágeno quando lesionados, denominado de cicatrização (Marx RE, 2007). O reparo é um processo complexo com eventos celulares e extracelulares, influenciado por vários fatores tais, como: Celularidade, tipo de osso (cortical ou trabecular), local e severidade da lesão, presença de infecção, imobilização, idade e estado de saúde geral e nutricional dos indivíduos. O reparo bem sucedido é aquele com reconstituição da continuidade e funções teciduais originais (Davies e Hosseini, 2000; Ten Cate AR, 2001).

Na ocorrência de uma lesão óssea imediatamente inicia-se o processo de reparo, que consiste em três fases principais. A primeira fase é a inflamatória inicial, onde perióstio e vasos das regiões corticais e medulares lesionados, provocam sangramento e formação de hematoma ou coágulo sanguíneo no interior do canal medular e entre as extremidades da lesão e o perióstio, formando um tecido de granulação (Trowbridge e Emling, 1996; Ten Cate AR, 2001). A seguir, inicia-se a fase de reparação através de células inflamatórias como fibroblastos que invadem o tecido e causam diferenciação e recrutamento de osteoblastos, além de fornecer suporte para uma neovascularização. Os osteoblastos formam um tecido osteóide imaturo denominado calo mole, que na fase final do processo de reparo sofre remodelação através reabsorção e aposição ósseas, levando a formação de um osso maduro próximo de sua forma e resistência original (Lynch *et al*, 1999).

A radioterapia é um dos métodos utilizados no tratamento das neoplasias malignas de cabeça e pescoço. As radiações ionizantes são eletromagnéticas ou corpusculares e carregam energia, que ao interagirem com os tecidos, dão origem a elétrons rápidos que ionizam o meio e criam efeitos químicos como a hidrólise da água e a ruptura das cadeias de DNA (Ácido Desoxirribonucléico). Dentre os mais importantes tipos de geradores de radiação ionizante destacam-se os tubos de raios X, os aceleradores de partícula, os radioisótopos e as fontes de nêutrons (Tauhata *et al*, 2003). Em virtude de fatores como o estágio, localização do tumor e ocorrência de acometimento ganglionar, nos pacientes com neoplasias malignas de cabeça e pescoço, estruturas sadias da cavidade oral, glândulas salivares e ossos maxilares poderão estar presentes na área de radiação (Hall EJ, 2000). A Tolerância dos tecidos normais adjacentes é um fator limitante da dose de radiação. Alterações indesejáveis acometem estes tecidos, de forma que tecidos com altas taxas de proliferação respondem com reações agudas à radioterapia (efeitos precoces), enquanto que em tecidos com taxas de renovação mais lenta os danos podem não ser evidentes durante meses ou anos após o tratamento (efeitos tardios) (Hall EJ, 2000; Steel GG, 2002).

Após a radioterapia, o tecido ósseo apresentam taxas de renovação mais lenta. As primeiras alterações são resultado do desequilíbrio da atividade osteoblástica e osteoclástica, com favorecimento à reabsorção óssea, pois os osteoblastos tendem a ser mais radiosensíveis que os osteoclastos (Maeda *et al.*, 1988; Cunha *et al.*, 2007; Pelisser *et al.*, 2007). O dano da radioterapia oncológica na vascularização do osso e os seus tecidos circundantes provoca uma hiperemia, seguido por endoarterite, trombose, e uma progressiva oclusão e obliteração dos pequenos vasos (Rabelo, G.D.; Beletti, M.E.; Dechichi, P, 2010). Com o tempo, o endóstio atrofia e a medula mostra uma marcante acelularidade, com perda significativa de osteoblastos e osteoclastos ativos (Cunha *et al.*, 2007), pouca ou nenhuma vascularização (Muhonen *et al.*, 2004), com significativa fibrose e degeneração gordurosa e com algumas lacunas desprovidas de osteócitos. O perióstio mostra uma fibrose significativa, com perda de elementos celulares remodelativos (Silverman e

Chierici, 1965; Dreizen et al., 1977; Beumer et al., 1979; Constantino et al., 1995). Redução da resistência biomecânica (Maeda et al., 1988) hipovascularização e fibrose são fatores comuns observados na fase terminal da radioterapia no osso, o que pode explicar a resposta ruim do osso irradiado ao trauma e infecção (Vissink et al., 2003). A manipulação cirúrgica ou mesmo o trauma local pode ocasionar uma osteorradionecrose (ORN), grave processo de progressão rápida que se dissemina por todo o osso devido ao comprometimento vascular e mínima capacidade regenerativa do mesmo (Meyer, 1970). Sua incidência na mandíbula varia de 5% a 15% (Constantino et al., 1995; Epstein et al., 1997; Thorn et al. 2000). Este processo pode progredir para fístula ou sequestro ósseo e eventual fratura patológica (Marx RE, 1983a; b; Epstein et al., 1997; Constantino et al., 1995; Thorn et al., 2000).

A oxigenoterapia hiperbárica (OHB) é uma modalidade terapêutica que consiste na administração de oxigênio puro a 100 % numa pressão ambiente maior do que ao nível do mar, entre 2 à 3 ATA, utilizando-se uma câmara projetada para essa finalidade. As câmaras hiperbáricas podem ser individuais (hospedando apenas um paciente) ou múltiplas (com capacidade para hospedar vários pacientes) (Thom SR. 2011). A OH promove uma elevação da quantidade de oxigênio dissolvido no sangue em decorrência da elevação da pressão dentro da câmara, auxiliando a oxigenação tecidual. Tem sido empregada como terapia adjuvante em casos de embolias gasosas, gangrena, infecções necrotizantes de tecidos moles, isquemias agudas, queimaduras e osteomielites.

A OHB tem sido utilizada também, na tentativa de minimizar os riscos de ORN e obter sucesso no pós-operatório de procedimentos cirúrgicos que envolvam manipulação de tecidos ósseos previamente irradiados (Clark et al., 2006; Feldmeier, 2004), sendo recomendado a aplicação de protocolos de OHB em pacientes que necessitam de intervenção na região oral, como exodontia (Nabil e Samman, 2011). No entanto, seu emprego para favorecer o reparo ou prevenção de ORN em áreas irradiadas de cabeça e pescoço ainda gera controvérsias (Nabil e Samman, 2011; Shaw e Butterworth, 2011), onde

alguns trabalhos não sugerem o uso da OH como tratamento para ORN (Lyons e Ghazali 2008; Pital-Arnnop et al, 2008). Embora ainda não haja consenso na literatura a respeito da OHB para essa finalidade, existe um vasto campo a ser explorado sobre essa terapia e seus efeitos no tecido ósseo irradiado (Spiegelberg et al, 2010) tanto em relação às propriedades biomecânicas, quanto em relação à arquitetura e reparo tecidual.

Os princípios atribuídos à eficiência da OHB estão relacionados à sua capacidade de estimular o aumento da vascularização através da angiogênese e da capacidade osteogênica proporcionada pela maior disponibilidade de oxigênio para as células, estimulando a proliferação dos fibroblastos, interferindo na síntese de colágeno e assim favorecendo o reparo tecidual (Jacobson et al. 2010; Fok et al., 2008; Sawai et al, 1996). Além destes benefícios, o aumento da tensão de oxigênio disponível possui atividade bactericida e bacteriostática, potencializando a capacidade fagocitária dos glóbulos brancos (Jacobson et al, 2010; Marx et al, 1985). Assim, alguns trabalhos demonstram que a OHB, acelera a incorporação de enxerto de tecido ósseo livre de vascularização (Sawai et al., 1996), favorece a reparação de defeitos ósseos críticos (Jan et al., 2006) estimula a vascularização e formação óssea (Pedersen TO, 2013), altera o metabolismo ósseo acelerando o processo de reparo pelo aumento do anabolismo (Kawada et al., 2013), mesmo em fraturas onde ocorra a não-união e formação de pseudoartrose (Kürklü et al, 2012), ou em tecidos ósseos biologicamente comprometidos, como o irradiado. (Muhonen et al., 2002; Sawai et al.,1996). As complicações decorrentes das sessões de HBO são mínimas, incluindo miopia transitória, barotrauma da orelha média e convulsões (Giebfried et al., 1986). Contra-indicações absolutas para a HBO incluem neurite óptica, história de doença pulmonar bolhosa ou bolhas pulmonares congênitas (Giebfried et al., 1986)

A tomografia computadorizada é uma técnica de imagem morfológica não destrutiva que pode quantificar a estrutura interna de um objeto em três dimensões, se mostrando uma ferramenta importante na aquisição de imagens e avaliação do osso trabecular em um processo de reparo ósseo (Efeoglu et al,

2007). Ela fornece imagens biológicas com resoluções isotrópicas que vão desde alguns milímetros nos aparelhos clínicos de tomografia computadorizada, passando por micrômetros nos aparelhos laboratoriais de micro CT, até resoluções abaixo de 100nm como nos aparelhos de radiação sincrônica. O micro CT recebeu muitos aprimoramentos nos tempos atuais para aquisição e análises de imagens, se tornando uma boa alternativa para avaliação de tecido ósseo e o estudo de terapias e biomateriais empregados na regeneração óssea (Polak et al, 2012). O desempenho biomecânico do tecido ósseo depende de fatores intrínsecos, relacionados à matriz óssea, como qualidade da porção orgânica e do conteúdo inorgânico (Dunlop et al, 2010), bem como da atividade das células ósseas. Testes laboratoriais aplicados em modelos biológicos têm sido utilizados para avaliar as propriedades mecânicas e estimar o comportamento clínico do osso (Ha et al, 2013). Estudos utilizando a associação destes dois métodos de análise para avaliar parâmetros quantitativos da microarquitetura e propriedades biomecânicas do tecido ósseo, são encontrados na literatura. (Kawada et al., 2013; Van Lenthe et al, 2008)

Os protocolos de aplicação da oxigenoterapia Hiperbárica ainda não estão muito bem definidos, trabalhos determinando qual o número ideal de sessões para a obtenção dos benefícios desta terapia ainda não foram desenvolvidos. O objetivo deste trabalho é estudar e conhecer os benefícios dos números de sessões de OHB utilizadas para favorecer a microarquitetura do processo de reparo e as propriedades biomecânicas, em tecidos ósseos irradiados e não irradiados de pernas de ratos. A hipótese dos investigadores é que OHB favorece a microarquitetura do processo de reparo ósseo e as propriedades biomecânicas do osso, e para a obtenção de seus benefícios um grande número de sessões seria necessário. No entanto, o conhecimento de um número ideal de sessões de OHB economizaria custos e tempo, sem que os benefícios da terapia sejam comprometidos em futuros experimentos, justificando a investigação.

2. PROPOSIÇÃO

Avaliar em modelo experimental em ratos (*Rattus norvegicus*), o efeito do número de sessões de oxigenoterapia hiperbárica na biomecânica e reparação de tecido ósseo submetido ou não à radioterapia.

1. METIERIAL E MÉTODOS

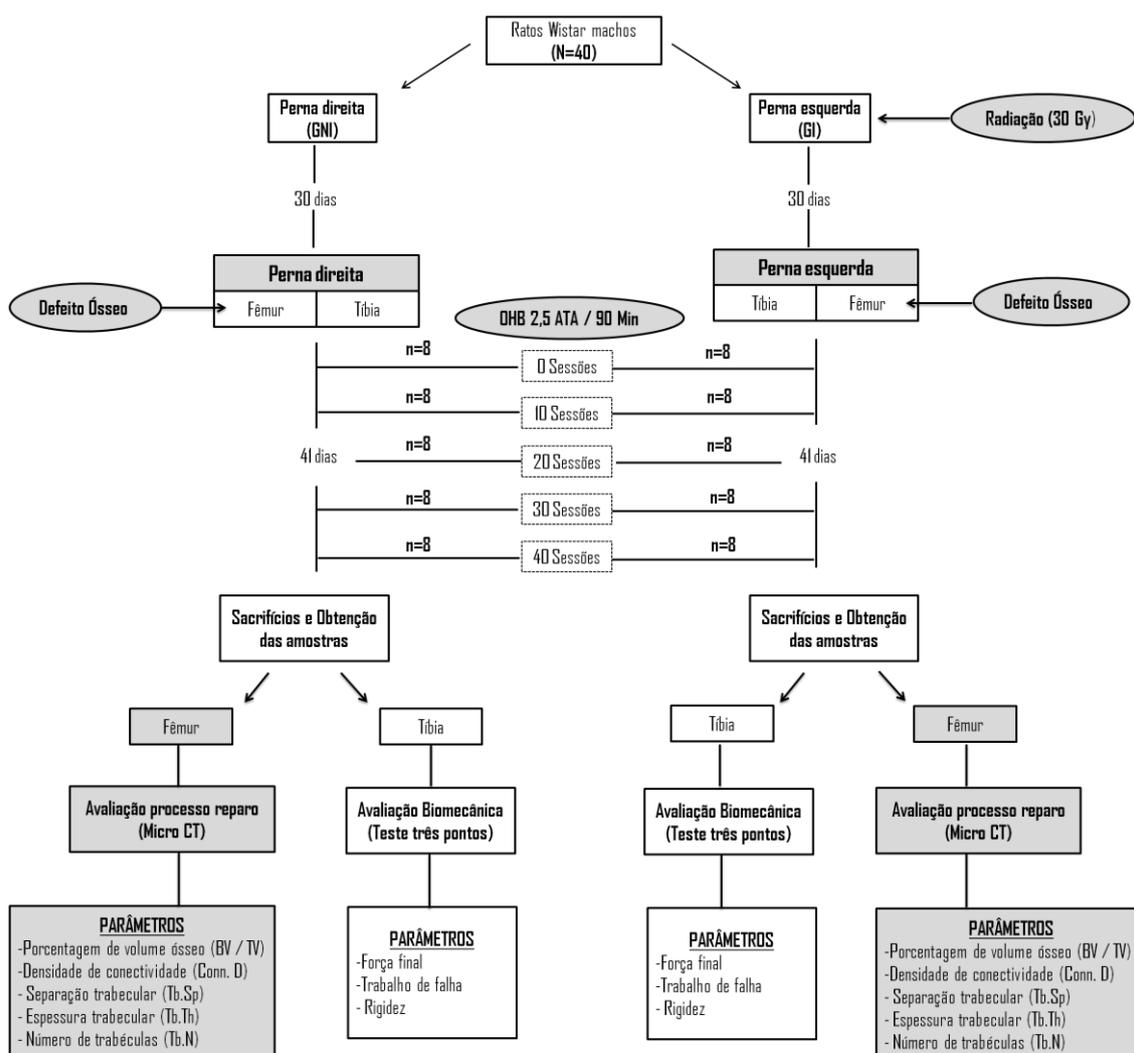


Figura 1. Delineamento Experimental

ANIMAIS

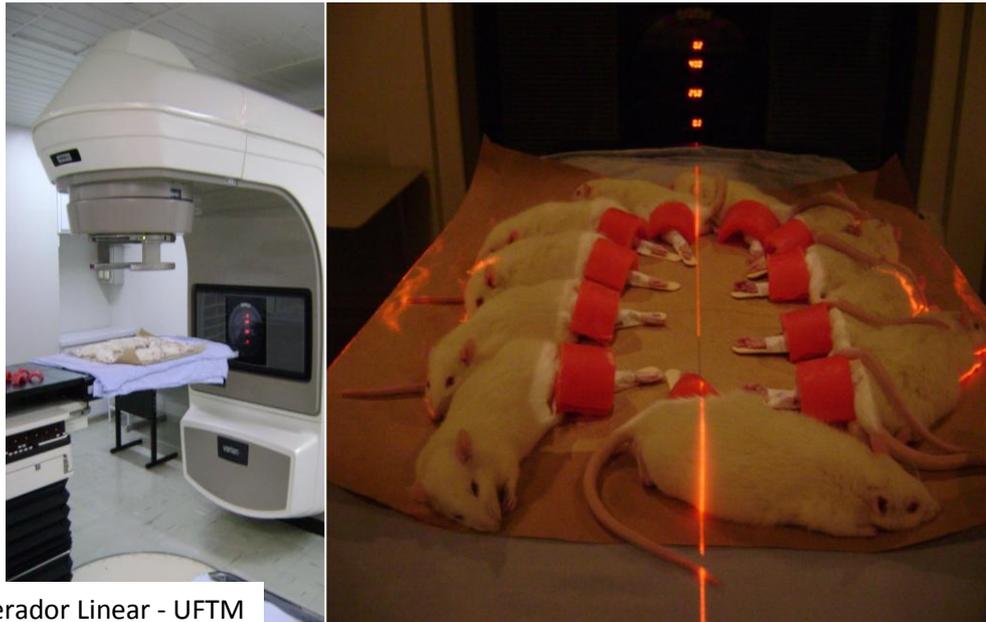
Foram utilizados 40 ratos machos *Rattus norvegicus*, da linhagem *Wistar*, clinicamente saudáveis com peso entre 250 a 350g. Os animais foram mantidos no Biotério da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) em gaiolas apropriadas e tratados com ração e água *ad libitum*. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as normas do COBEA, com aprovação prévia do comitê de ética de utilização de animais com protocolo de registro CEUA/UFU 105/13. Foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos distintos (Tabela 1): Perna esquerda do animal - Irradiada (GI), Perna direita do animal - Não Irrradiado (GNI), e cinco níveis de estudo a partir do número de sessões de OHB realizada (0, 10, 20, 30 e 40 sessões) apresentando 8 animais cada (Ishii et al, 2002, Sawai et al, 1996).

Tabela 1 – Distribuição do número de amostras pelas variáveis grupos e números de sessões de oxigenoterapia Hiperbárica

OHB Sessões	Grupo Não Irrradiado (GNI) Defeito ósseo (Perna Direita)	Grupo Irrradiado (GI) Defeito ósseo + Radiação (Perna Esquerda)
0	8	8
10	8	8
20	8	8
30	8	8
40	8	8
Amostras	40	40

RADIOTERAPIA

O protocolo de radioterapia de Da Cunha et al. (2007) e Lerouxel et al. (2009) adaptado foi realizado na perna esquerda de todos os 40 animais conforme descrito a seguir. Antes da sessão de radioterapia os animais foram submetidos à anestesia geral através da injeção intraperitoneal, contendo 0,025 ml/100g de peso corpóreo do animal, do sedativo, analgésico e relaxante muscular Cloridrato de Xilazina 2% (*Anasedan*® Divisão Vertbrands Saúde Animal – Jacareí – SP/Brasil) e 0,05 ml/100g de peso corpóreo do animal do anestésico geral Cloridrato de quetamina 10% (*Dopalen*® Divisão Vertbrands Saúde Animal – Jacareí – SP/Brasil). A radioterapia foi realizada utilizando o Acelerador Linear de Elétrons de 6MeV (*Varian 600-C*® Varian Medical Systems Inc. Palo Alto, Califórnia/EUA). A perna esquerda foi estendida lateralmente e fixada em uma determinada posição por espátulas de madeira e fita adesiva (*Scotch*®, 3M do Brasil, São Paulo-SP/Brasil) Uma área de 4 centímetros de comprimento do fêmur esquerdo foi irradiado por campo anterior único. A área irradiada foi marcada com caneta dermatográfica para cirurgias na cor azul (*Securline*®, Securline, São Paulo-SP/Brasil) bem como o feixe foi individualmente colimado com um fator de 1,082 limitando a área a um tamanho de 40 x 40 cm e uma altura de 100 cm da placa de cera colocada sobre a perna do animal com 1,5 cm de espessura, medida a partir da qual a radiação atinge o ponto máximo de interação após primeiro contato (Figura 2). Foi utilizada dose única de 30 Gy totalizando 2.773 unidades de monitor em quatro períodos, em virtude do descanso do aparelho, considerada adequada por produzir um leito cirúrgico comprometido, simulando em roedores a situação clínica observada em humanos (Lerouxel et al., 2009). O intervalo entre a radioterapia e o procedimento cirúrgico com início da oxigenoterapia hiperbárica, foi de 30 dias seguindo o protocolo de Batista et al. (2011)



Acelerador Linear - UFTM

Imagem de Batista et al. (2011)

Figura 2. Animais com as pernas esquerdas estabilizadas e posicionadas dentro do campo de radiação

CIRURGIA

Após 30 dias da radioterapia todos os animais foram submetidos à cirurgia para confecção das lesões nos fêmures, de maneira similar ao estudo de Batista et al. (2011) (Figura 3). Previamente ao ato cirúrgico, os animais foram anestesiados com injeção contendo Tiletamina-zolazepam (10 mg/Kg) e Fentanil (0,025 mg/Kg), via intramuscular (Carpenter et al, 2001) Após a anestesia, os animais foram submetidos à tricotomia da região coxofemoral direita e esquerda com lâmina de barbear (*Gillette®*, Gillette do Brasil, São Paulo-SP/Brasil). Logo após, foi realizada a antissepsia da região com solução de álcool iodado 0,5% (*Laborquim*, Laborquim® Ltda, Araxá-MG/Brasil). A área operatória foi limitada com campo cirúrgico fenestrado de TNT (tecido não tecido) esterilizado, adaptado para o procedimento (Figura 4). O sítio para intervenção cirúrgica foi a região mediana do osso fêmur direito e esquerdo do animal.

Com o animal posicionado em decúbito lateral esquerdo, para à região lateral do fêmur direito e em decúbito lateral direito, para o acesso cirúrgico à região lateral do fêmur esquerdo, o acesso foi obtido por meio de incisão contínua longitudinal, na pele e tecido subcutâneo com 2 cm de extensão, (Figura 5) utilizando-se lâmina de aço inox nº 15 (*BD Lâmina* – Curitiba – PR/Brasil) montada em cabo para bisturi nº3 (*Golgran®*, Golgran Ind. e Com. de Instrumental Odontológico LTDA São Paulo – SP). Após a incisão da fáscia muscular, a musculatura da região foi divulsionada com auxílio de uma tesoura cirúrgica romba curva (*Golgran®*, Golgran Ind. e Com. de Instrumental Odontológico LTDA São Paulo – SP) e pinça anatômica 14 cm (*Golgran®*, Golgran Ind. e Com. de Instrumental Odontológico LTDA São Paulo – SP), até a exposição do perióstio, que foi incisado e descolado ao longo da área óssea a ser exposta, permitindo, assim, acesso direto à diáfise do fêmur (Figura 6). O fêmur foi então delimitado em três porções (superior, mediana e inferior), com o objetivo de padronizar a área a ser manipulada, sendo a região mediana, o local de eleição para a realização do experimento. Na porção inferior da face lateral do fêmur, próximo à junção entre o fêmur e a tíbia, foi realizada pequena osteotomia utilizando broca nº 701 (Figura 7) para o posicionamento fixo em torno do fêmur de fio de sutura cirúrgico de monofilamento de nylon, estéril, não absorvível 4-0, (*Shalon®*, Shalon Fios Cirúrgicos Ltda. São Luiz de Montes Belos – GO/Brasil), que tem como finalidade o estabelecimento de um ponto de referência para a identificação no momento da obtenção das amostras, do posicionamento do defeito ósseo a ser estudado, realizado à 5 mm, na região mediana (Figura 8), com broca esférica nº 8 (*KG®*, KG Sorensen, São Paulo-SP) acoplada em motor elétrico (*Beltec* Indústria e Comércio de Equipamentos Odontológicos LTDA, Araraquara – SP/Brasil) com 1000 rpm, associado à irrigação abundante com solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9% (Laboratório Sanobiol Ltda., São Paulo-SP/Brasil). O parâmetro de profundidade da perfuração foi o rompimento da cortical óssea e a profundidade na medula óssea (Figura 9)

A broca foi substituída a cada três animais, devido à diminuição do poder de corte. A sutura foi realizada por planos com fio cirúrgico

monofilamento de nylon, estéril, não absorvível 4-0, (*Shalon®*, Shalon Fios Cirúrgicos Ltda. São Luiz de Montes Belos – GO/Brasil) (Figura 9). No período pós-operatório foi administrado Tramadol (10 mg/Kg), via subcutânea (Kriz et al., 2010) durante quatro dias.

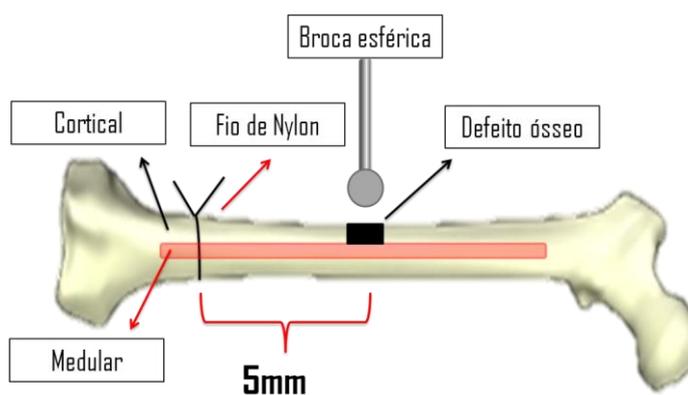


Figura 3. Modelo esquemático



Figura 4. Área operatória após tricotomia e montagem de campo cirúrgico

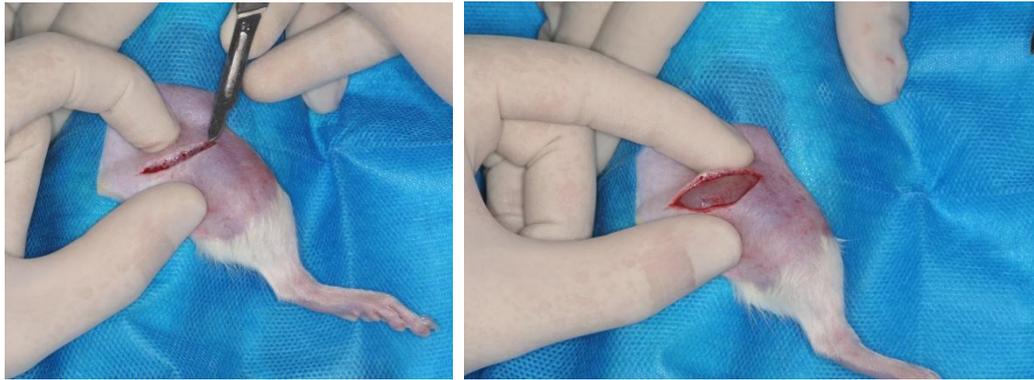


Figura 5. Incisão contínua longitudinal na pele e tecido subcutâneo

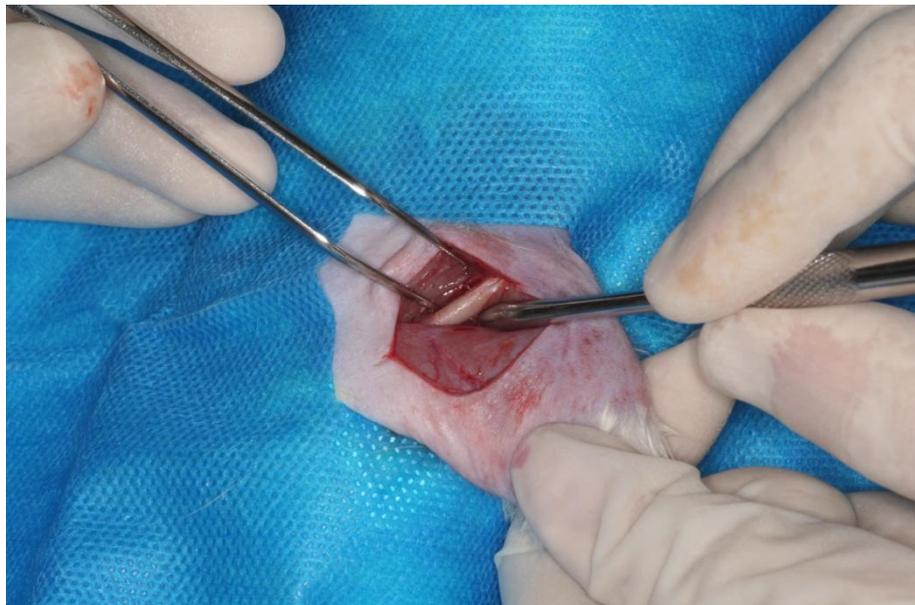


Figura 6. Acesso direto à diáfise do fêmur

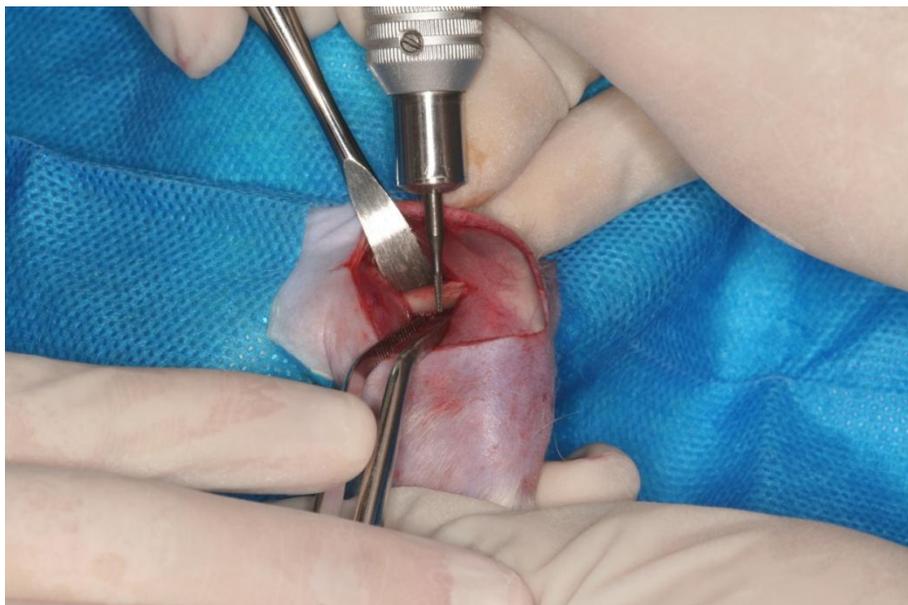


Figura 7. Osteotomia para estabilização do fio de referência

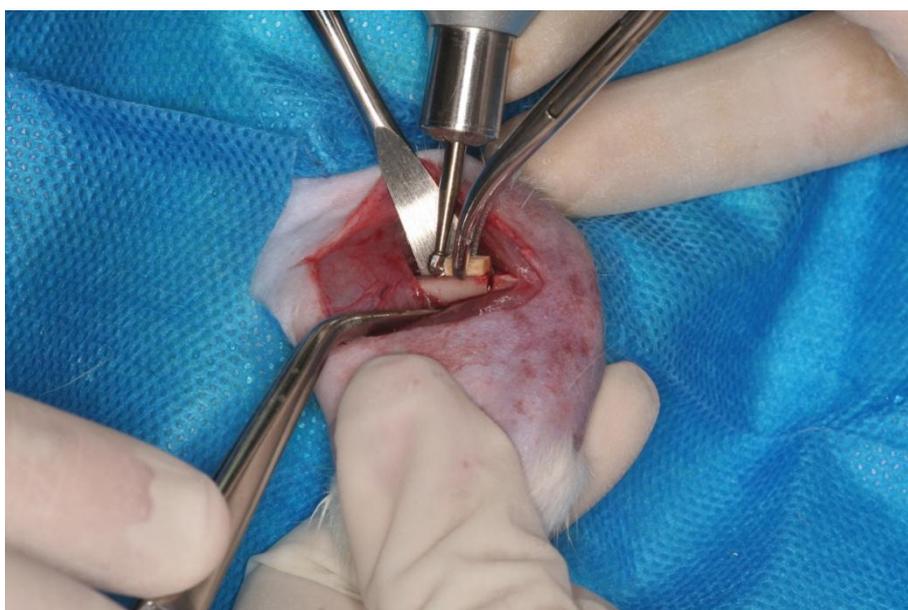


Figura 8. Realização do defeito ósseo a 5 mm superior na região mediana do fêmur com uma broca esférica nº 8

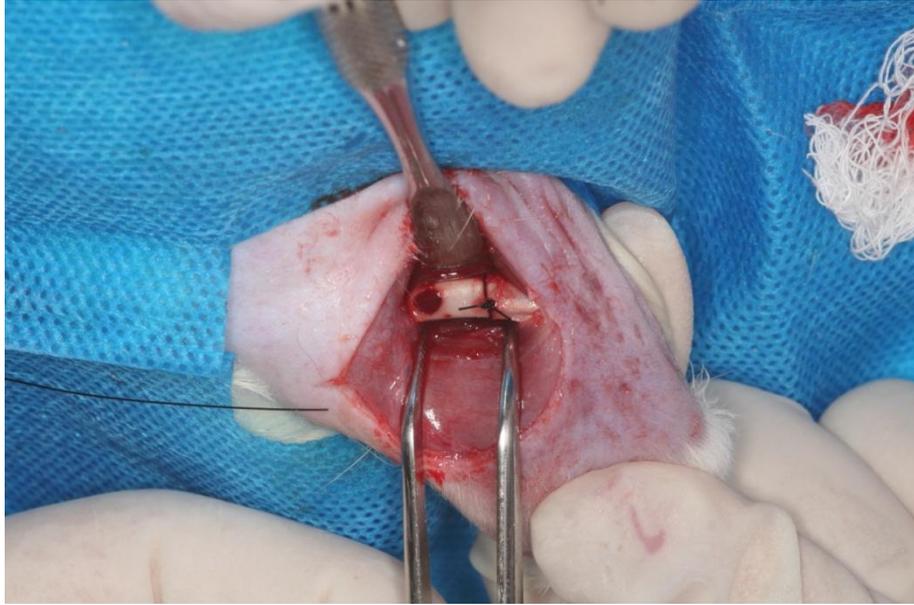


Figura 9. Aspecto final após confecção do defeito ósseo com rompimento da cortical óssea



Figura 10. Sutura por planos com fio cirúrgico monofilamento de nylon, estéril, não absorvível 4-0.

OXIGENOTERAPIA HIPERBÁRICA (OHB)

Imediatamente após o procedimento cirúrgico, os animais foram conduzidos para a sessão inicial de HBO, no interior de câmaras “monoplaces” experimentais Ecobar 400 (Ecotec Equipamentos e Sistemas Ltda®, Mogi das Cruzes, SP, Brasil) (Figura 11). Inicialmente ocorre um período de compressão 0.3ATA/min até atingir a pressão necessária para OH. A sessão teve duração de 90 minutos sob pressão de 2,5 ATA (ATA = 1 atmosfera absoluta = 760mmHg). Após, segue período de descompressão a 0.3ATA/min. As sessões foram realizadas diariamente de forma contínua e assim que o número de sessões era completada, oito animais não eram mais conduzido às sessões, sendo separados e identificados ao final em animais que não receberam sessões de OHB e animais que receberam 10, 20, 30 e 40 sessões.



Figura 11. Animais durante a sessão na câmara experimental

OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Os animais foram sacrificados com 41 dias após a cirurgia, por aprofundamento anestésico seguido de deslocamento cervical, até que a morte dos animais pudesse ser constatada pela ausência dos sinais vitais, seguindo os princípios da Declaração dos Direitos dos Animais. Após, foi realizada incisão longitudinal acompanhando a cicatriz cutânea existente ao longo do osso fêmur operado realizando cuidadosa e completa separação óssea dos tecidos moles. Os espécimes dos fêmures obtidos foram colocados em potes plásticos previamente identificados e fixados em paraformaldeído 4% em Tampão Fosfato 0,1M por 48 horas, processados, cortados e então levados ao Micro CT para obtenção das imagens. As tíbias dos animais também foram dissecadas e congeladas em gaze embebida por tampão fosfato (PBS) 0,1M, para após serem submetidas ao teste biomecânico de três pontos.

MÉTODOS DE ANÁLISE

Teste biomecânico de três pontos

Após descongelamento e retorno a temperatura ambiente com manutenção em gaze embebida com soro para evitar a desidratação, as tíbias foram posicionadas em dispositivo de ensaio de flexão de três pontos com distância entre os apoios de 16mm. Foram submetidas à aplicação de carga de compressão no centro das mesmas por meio de célula de carga de 50 Kgf com velocidade de 0,5 mm/min (Figura 12). A curva da carga de deslocamento e a carga máxima até o momento de fratura foram obtidas (Figura 13) e, subsequentemente, os dados foram plotados em gráfico. Foram determinados a força final (a força máxima sustentada pela amostra), rigidez (declive da porção linear da curva de carga-deslocamento), e o trabalho para falha (integração da curva de carga-deslocamento para o ponto de falha).



Figura 12. Carregamento de compressão no centro do osso

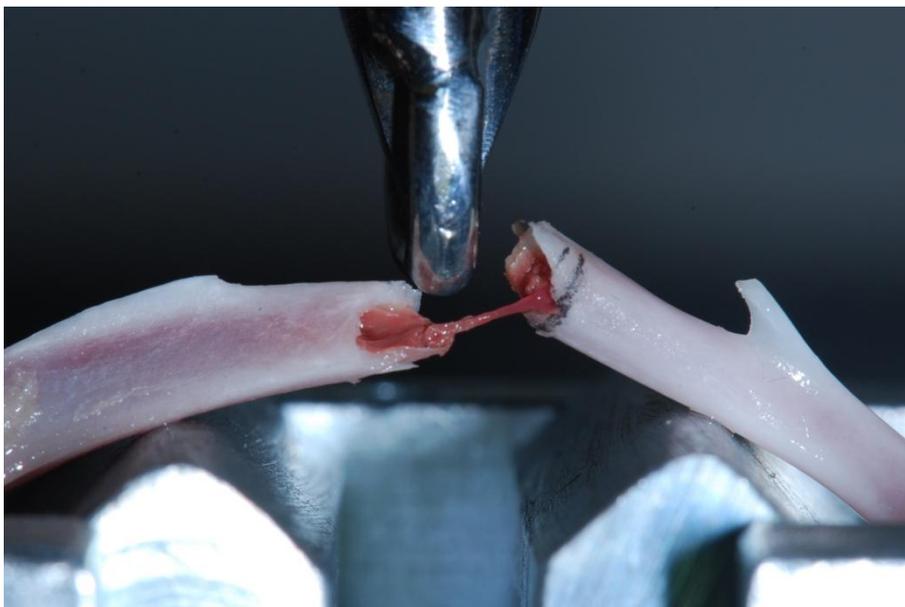


Figura 13. Fratura após aplicação do carregamento no ponto central da diáfise

Micro tomografia computadorizada (MicroCT)

As amostras dos fêmures já recortadas na região de interesse do defeito ósseo, foram digitalizados em um microfoco de raios-X Tomógrafo com alta resolução (SkyScan1272; Bruker®, Kontich, Bélgica) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia – Minas Gerais - Brasil (Figura 14) . Na aquisição foi utilizado fóton energia de 50kV e intensidade de 160mA com resolução 15µm pixel usando filtro de alumínio (0.5 mm), com rotação, aproximação de 8 µm, altura de 20mm, resolução de 1632x1092 e calibração do Flat-Field em 1250 (Figura 15). Após o escaneamento, as imagens foram reconstruídas utilizando software (NRecon, Kontich, Bélgica), com calibração de Ring = 9 , Smothing = 2 e Beam-Hardening correction = 0, Que forneceu secções transversais axiais da estrutura interna das amostras em cortes. Um conjunto de dados foi criado a partir da visão transaxial com 321 cortes selecionados, que foram analisados utilizando o software v1.13.11.0 CTAN (SkyScan, Kontich, Bélgica). O volume de interesse (VOI) foi determinado para cada corte utilizando a Ferramenta de região de interesse (ROI) com (Lower grey threshold) Limite inferior de cinza = 55 (Upper grey threshold) Limite superior de cinza = 190. As variáveis morfométricas analisadas foram: (1) porcentagem de volume ósseo (BV / TV), parâmetro relevante quando o volume estudado está totalmente contido dentro de uma região bem definida como a amostra do defeito ósseo, avaliando a relação entre conteúdo sólido (osso) e o espaço; (2) Densidade de conectividade do tecido ósseo (Conn. D); (3) Separação entre as trabéculas ósseas (Tb.Sp); (4) Espessura das trabéculas (Tb.Th); (5) Número de trabéculas (Tb.N).



Figura 14. SkyScan1272; Bruker®, Kontich, Bélgica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia – Minas Gerais – Brasil



Figura 15. Aquisição das Imagens

Avaliação estatística

Os dados analisados foram avaliados utilizando software (GraphPad Prism 6, GraphPad Software Inc., EUA). A distribuição dos dados foi testada usando o teste Shapiro-Wilk. Como os dados foram distribuídos normalmente, a análise de variância fatorial (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey foi utilizado para comparar entre número de sessão de OHB, enquanto foi utilizado o teste t para comparar entre os grupos para o mesmo número de sessões OHB.

Em todos os casos, foram consideradas significantes probabilidades de rejeição da hipótese nula de 95%.

2. RESULTADOS

Devido aos efeitos deletérios da radioterapia, um grande número de amostras de fêmures do grupo irradiado foram perdidas, devido a fraturas patológicas ocorridas na região do defeito ósseo realizado. As perdas representaram 5 amostras para 0 sessões, 07 de 10, 07 de 20, 05 de 30 e 05 de 40 sessões.

Em relação aos parâmetros biomecânicos avaliados, para força e energia, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos estudados ou para os números de sessões de HBO estudados. Porém, para o teste de rigidez, embora o número de sessões não tenha influenciado os resultados de forma significativa, diferenças entre os grupos estudados (I x NI) foram encontrados para 0 sessões ($p=0,006$) 10 sessões ($p=0,049$) 20 sessões ($p=0,027$) e 40 sessões ($p=0,047$) Os resultados são demonstrados na tabela 2 e figuras 16-18.

Tabela 2: Letras diferentes indicam diferenças significativas para cada parâmetro isolado. Letras maiúsculas - comparações dentro de cada linha, (N°sessões) em cada grupo; letras minúsculas - comparações dentro dos grupos em cada condição (GIxGNI).

HBO sessão	Força Final (N)		Trabalho para Falha (mJ)		Rigidez (N/mm)	
	GNI	GI	GNI	GI	GNI	GI
0	59.5±19.8 ^{Aa}	63.3 ± 9.7 ^{Aa}	12.8 ± 8.2 ^{Aa}	18.0 ± 5.2 ^{Aa}	253.9 ± 37.2 ^{Aa}	173.6 ± 36.7 ^{Ab}
10	71.2±15.0 ^{Aa}	61.1 ± 8.4 ^{Aa}	18.1 ± 6.4 ^{Aa}	16.3 ± 5.5 ^{Aa}	275.0 ± 57.5 ^{Aa}	167.1 ± 91.8 ^{Ab}
20	69.5±16.0 ^{Aa}	56.1 ± 7.5 ^{Aa}	16.2 ± 6.2 ^{Aa}	14.4 ± 5.8 ^{Aa}	287.2 ± 55.6 ^{Aa}	211.5 ± 34.8 ^{Ab}
30	61.9±28.8 ^{Aa}	56.8 ± 10.8 ^{Aa}	16.7 ± 8.5 ^{Aa}	10.9 ± 4.0 ^{Aa}	236.9 ± 59.0 ^{Aa}	223.9 ± 35.3 ^{Aa}
40	48.4±21.3 ^{Aa}	56.3 ± 9.8 ^{Aa}	9.8 ± 6.5 ^{Aa}	11.7 ± 3.7 ^{Aa}	245.6 ± 29.1 ^{Aa}	210.4 ± 19.4 ^{Ab}

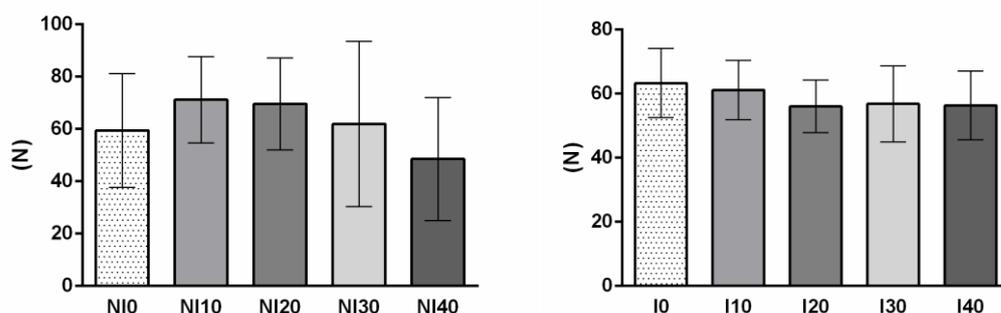


Figura 16. Força Final

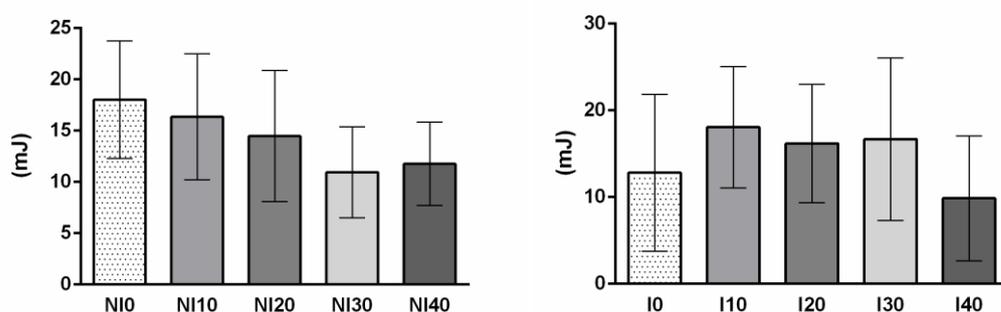


Figura 17. Trabalho para falha

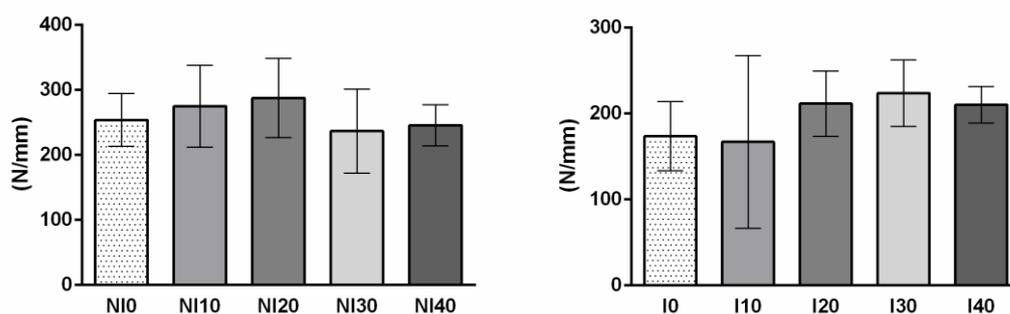


Figura 18. Rigidez

Em relação à análise por Micro CT, para os diversos parâmetros avaliados o único parâmetro no qual o número de sessões de HBO interferiu nos resultados de forma significativa foi na separação trabecular (Tb_sp) onde foi encontrada diferença significativa quando 0 e 20 sessões foram comparados ($p < 0.05$) no grupo irradiado, demonstrando uma menor separação entre as trabéculas ósseas nas amostras que foram submetida a 20 sessões de OHB, favorecendo a resistência mecânica deste tecido em reparo. Quando os grupos estudados foram comparados 2x2, para um mesmo número de sessões não foram encontradas diferenças significativas para nenhum dos parâmetros avaliados. Os resultados estão expostos na tabela 3 e nas figuras 19-23.

Tabela 3: Letras diferentes indicam diferenças significativas para cada parâmetro isolado. Letras maiúsculas - comparações dentro de cada linha, (N°sessões) em cada grupo; letras minúsculas - comparações dentro dos grupos em cada condição (GIxGNI).

	BV/TV (%)		Conn. D (mm ³)		Tb_Sp(mm)		Tb_Th(mm)		Tb_N (1/mm)	
	GNI	GI	GNI	GI	GNI	GI	GNI	GI	GNI	GI
OHB sessão										
0	55.7±2.1 Aa	59.1±4.0 Aa	16.7±7.0 Aa	32.8±24.1 Aa	0,6±0,1Aa	0,6±0,1 Aa	0,5±0,0 Aa	0,5±0,1 Aa	1,2±0,1 Aa	1,3±0,3 Aa
10	62.3±3.3 Aa	61.5±6.5 Aa	57.8±12.3Aa	41.5±20.2 Aa	0,2±0,0Aa	0,2±0,2 ACa	0,6±0,0 Aa	0,6±0,0 Aa	1,1±0,1 Aa	1,0±0,2 Aa
20	61.4±4.0 Aa	68.6±6.8 Aa	53.7±27.2Aa	54.0±25.5 Aa	0,3±0,2Aa	0,2±0,1 BCa	0,6±0,1 Aa	0,6±0,0 Aa	1,1±0,1 Aa	1,2±0,1 Aa
30	58.8±3.2 Aa	63.1±6.9 Aa	46.4±30.1Aa	47.3±26.8 Aa	0,5±0,2 Aa	0,4±0,2 ACa	0,4±0,1 Aa	0,5±0,0 Aa	1,5±0,7 Aa	1,3±0,2 Aa
40	62.2±3.0 Aa	60.5±6.5 Aa	24.6±10.6Aa	35.5±16.7 Aa	0,4±0,1 Aa	0,5±0,2 ACa	0,5±0,1 Aa	0,4±0,1 Aa	1,3±0,2 Aa	1,5±0,3 Aa

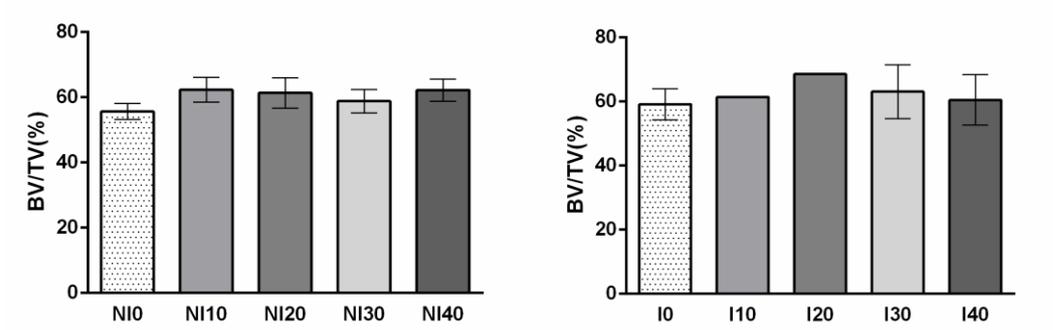


Figura 19. Porcentagem de volume ósseo

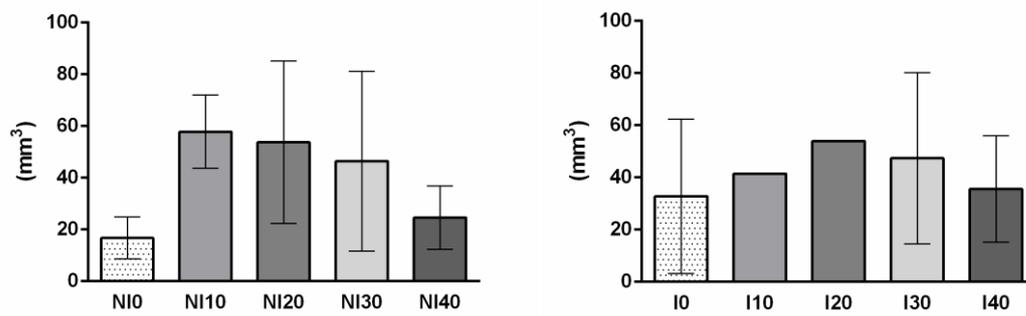


Figura 20. Densidade de conectividade

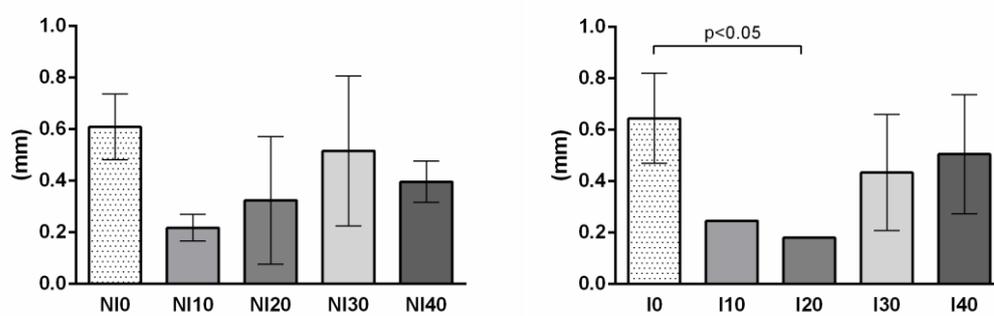


Figura 21. Separação Trabecular

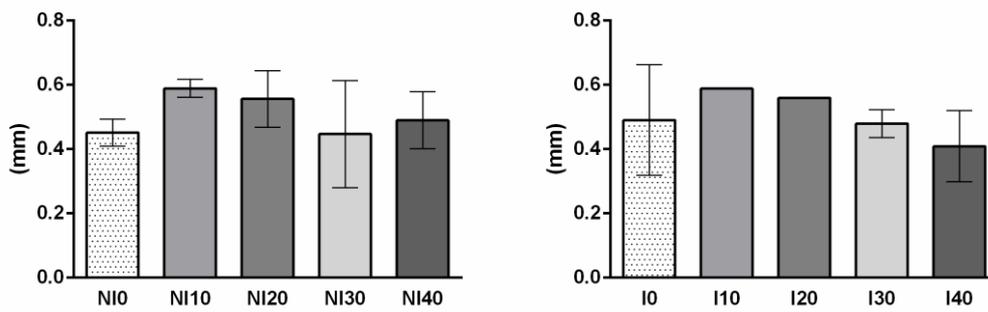


Figura 22. Espessura Trabecular

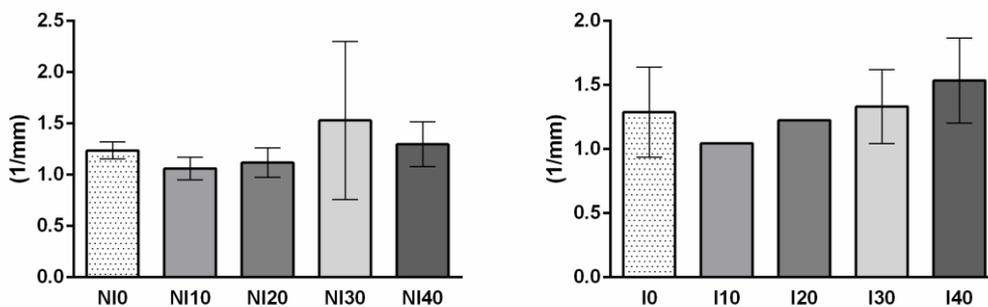


Figura 23. Número Trabecular

3. DISCUSSÃO

Este estudo investigou a influência do número de sessões de OHB na microarquitetura da reparação do tecido ósseo após confecção de um defeito em fêmur e as propriedades biomecânicas através dos testes com a tibia. Os resultados vão de encontro com a hipótese investigada de que a OHB favorece as propriedades deste tecido. No entanto, o maior número de sessões de OHB não demonstrou influência significativa no favorecimento da microarquitetura do reparo tecidual e das propriedades biomecânicas do tecido ósseo. A investigação foi realizada utilizando análise de parâmetros quantitativos, assim, o fato do maior número de OHB não favorecer a reparação do defeito ósseo no

fêmur ou recuperar a rigidez das tíbias irradiadas, não implica que a terapia não possa melhorar a neovascularização favorecendo a revascularização e consequentemente a vitalização destes tecidos ósseos. Desta forma, trabalhos em outros modelos devem ser realizados com o objetivo de evitar que grandes números de sessões sejam indicados sem comprovado seus reais benefícios, uma vez que a terapia requer grande tempo e alto custo para o paciente.

Os resultados dos testes de rigidez não apresentaram significância estatística, diferente do encontrado em outro estudo semelhante (Kawada et al., 2013). Mas, o aumento progressivo dos valores sugere que as sessões de oxigenoterapia hiperbárica podem recuperar a rigidez destes tecidos irradiados. Esta ausência pode estar associada a algumas limitações anatômicas, como a variação do tamanho e a forma geométrica das tíbias dos ratos (Campbell et al, 2008). Estudos mostram que a forma ideal das amostras para teste de flexão de três pontos é de mesma dimensão e cilíndricas, com as proporções entre a largura e a forma de secção transversal constante ao longo de todo o seu comprimento, variável impossível de ser controlada em experimentos com amostras biológicas, diferente de estudos com elementos finitos que permite a confecção de uma geometria correta. As tíbias dos ratos são anatomicamente ovais, triangulares ou achatadas, dificultando a obtenção de resultados significantes, mas não inviabilizando a técnica, já que estudos comparando fêmures e tíbias de ratos mostraram que ambas as amostras possibilitam a realização do teste flexural (Schriefer et al., 2005). No entanto, outro estudo, (van Lenthe et al, 2008) demonstrou que o teste de resistência flexural apresenta limitações devido aos pressupostos implícitos sobre a geometria óssea, demonstrando resultados imprecisos. Então, neste estudo foram controlados os fatores da influência da geometria das amostras, para obtenção de resultados precisos. Foram utilizadas tíbias, porque a morfologia do osso permitiu que fosse facilmente posicionada para o teste, mas, como apresenta morfologia transversal e longitudinal variável não foi utilizado na avaliação o parâmetro de resistência flexural e sim os parâmetros rigidez e trabalho para falha, já que apresentam resultados precisos mesmo em amostras com geometria variável. (van Lenthe et al, 2008)

Depois de mensurados os parâmetros quantitativos para microarquitetura do processo de reparo através análise por micro CT os resultados mostraram uma diferença estatística apenas no parâmetro separação trabecular entre 0 e 20 sessões. A variável 20 sessões apresentou uma menor separação em relação a variável onde não foi utilizado OHB, demonstrando que OHB favoreceu a organização de uma estrutura trabecular mais compacta, com menor porosidade no tecido irradiado, além de uma maior conexão entre estas estruturas conforme aumento sugestivo no parâmetro densidade de conectividade (Conn. D), corroborando com os achados do teste biomecânico sugerindo que a OHB favorece a rigidez do tecido ósseo irradiado. No entanto, não houve diferença no volume de formação de do tecido ósseo, conforme demonstrado no parâmetro (BV/TV) bem como do número e da espessura das trabéculas ósseas formadas na reparação do defeito cirúrgico realizado.

Na literatura, estudos foram realizados para avaliar os efeitos de altas doses de radiação ionizante sobre a reparação óssea (Arnold et al., 1995; Arnold et al., 1998; Takekawa et al., 2000; Schultze-Mosgau, 2002; Lerouxel et al., 2009). A maioria desses estudos se baseia em modelos experimentais com animais, especialmente em ratos (Arnold et al., 1995; Arnold et al., 1998; Takekawa et al., 2000; Schultze-Mosgau, 2002; Lerouxel et al., 2009). Eles mostraram que altas doses de radiação modificaram a histologia do osso, particularmente em fibro-edema e promovendo retardo da reparação. Este modelo animal também é útil para avaliar a capacidade das terapias adjuvantes para reparar defeitos ósseos após a irradiação ou ORN (Larouxel et al, 2009). No objetivo de maximizar o número de animais utilizados, foi realizado defeito ósseo no fêmur direito e esquerdo, mas, apenas a perna esquerda havia sido exposta à radiação (Perna Direita - Grupo Não Irradiado) (Perna Esquerda - Grupo Irradiado), já que não foram encontrados trabalhos demonstrando que a radiação de membros de animais, promova efeito sistêmico ao tecido ósseo, incentivando novos experimentos. No entanto, quando a radiação é direcionada ao cérebro, o hipopituitarismo é comum e pode afetar o crescimento,

composição corporal, função cardiovascular, a densidade óssea e outros fatores que influenciam a qualidade de vida (Forbes et al., 2013).

Durante o experimento houve uma considerável perda de amostras dos fêmures do grupo irradiado (fêmur esquerdo), em virtude de fraturas patológicas no local do defeito ósseo, complicação também encontrada em outros experimentos similares (Larouxel et al., 2009). Hipóteses como o peso adquirido pelos animais em virtude do grande tempo do experimento, agitação durante as sessões de HBO, tamanho do defeito ósseo realizado, dose de radiação utilizada ou a associação destas, foram supostas, já que perdas de amostras de fêmures não irradiadas também ocorreram, mas em número bem menor. A dose de radiação ionizante utilizada foi de 30Gy, equivalente a 120 Gy por entrega multi-fracionada (Larouxel et al., 2009) , duas vez maior do que as doses de rotina utilizada para o tratamento de carcinoma de células escamosas do trato aerodigestivo superior em humanos (60 Gy por entrega multi-fracionada é uma dose de rotina)(Larouxel et al., 2009). Embora a dose já tenha se mostrado eficaz na alteração da histologia e reparação do osso e um útil modelo experimental em ratos (Larouxel et al., 2009), hipóteses como uma dose excessiva e um dano altamente deletério ao tecido ósseo, não podem ser desconsideradas, dificultando ou até mesmo impossibilitando um novo potencial de reparo, mesmo com terapias adjuvantes, influenciado no resultado final encontrado neste estudo.

O uso da OHB de forma profilática em pacientes irradiados (Nabil e Samman, 2011) baseia-se na teoria de Marx quanto à fisiopatologia da ORN (Shaw e Butterworth, 2011). Segundo essa teoria (Marx,1983a) a ORN é produto da hipóxia tecidual, hipocelularidade e hipovascularização nas áreas irradiadas (Jacobson et al., 2010). Sendo assim, o maior gradiente de oxigênio obtido em função do uso da OHB aumenta a sua difusão nos tecidos em hipóxia, estimulando a oxigenação, proliferação celular e neovascularização (Feldmeier, 2004), o que melhora a qualidade e o potencial de reparo ósseo e consequentemente, reduz a possibilidade de ORN. Neste estudo, os resultados não demonstraram diferenças estatísticas para a maioria dos parâmetros

quantitativos avaliados. A OHB foi utilizada de forma terapêutica, para a avaliação do processo de reparo do defeito ósseo realizado, com diferentes números de sessões (0, 10, 20, 30 e 40 sessões), diferente do protocolo utilizado por Marx (1983a), onde foram utilizadas 20 sessões pré-operatória e 10 sessões pós-operatória, que se mostrou eficaz no tratamento de tecidos em estado de hipóxia em humanos. Assim, a indiferença dos resultados entre 0 sessões e os níveis 10, 20, 30 e 40 sessões para a maioria dos parâmetros avaliados na análise da microarquitetura do processo de reparo, ressalta talvez a importância das sessões pré-operatórias, podendo ser avaliada em futuros experimentos.

A terapia estudada neste experimento foi utilizada a partir achados da literatura, que mostram que tecidos em áreas irradiadas encontram níveis baixos de PO_2 , que variam entre 5 e 15 mm Hg (Cater e Silver, 1960) e durante o protocolo de OHB podemos chegar a níveis arteriais de PO_2 entre 1000-1300 mm de Hg. Embora a saturação da hemoglobina não possa ser aumentada alcançada 100%, a dissolução física de oxigênio no plasma e fluido intersticial aumenta acentuadamente. Tecidos hipóxicos mostram um aumento de PO_2 , com níveis que variam entre 100 e 250 mm de Hg durante a terapia (Marx, 1982). Apesar da PO_2 nos tecidos retornar a níveis preexistentes dentro de 10 minutos após a saída da câmara hiperbárica, (Sawai et al., 1996) a curta exposição do tecido a níveis hiperóxicos estimula os fibroblastos existentes no tecido hipóxico que conseqüentemente, estimulam a proliferação endotelial dos capilares adjacente ao tecido (Marx et al., 1985). Com sucessivas exposições a OHB, ocorre um crescimento na formação de novos capilares em uma nova matriz de tecido conjuntivo. Assim, o conseqüente aumento da vascularização estimula a proliferação celular adicional de fibroblastos, anteriormente suprimida pela hipóxia tecidual. Após esta indução de neovascularização, é possível observar uma melhora dos níveis de PO_2 nos tecidos, variando entre 20 e 35 mmHg, durante os intervalos das sessões (Marx, 1982). Histologicamente, o resultado é uma melhoria na celularidade e vascularização deste tecido irradiado (Marx, 1982)

4. CONCLUSÃO

O número de sessões de OHB utilizadas não demonstrou influência no processo de reparo e nas propriedades biomecânicas do tecido ósseo de ratos.

REFERÊNCIAS *

Arnold M, Kummermehr J, Trott KR. Radiation-induced impairment of osseous healing: quantitative studies using a standard drilling defect in rat femur. **Radiat Res.** 1995 Jul;143(1):77-84.

Arnold M, Stas P, Kummermehr J, Schultz-Hector S, Trott KR. Radiation-induced impairment of bone healing in the rat femur: effects of radiation dose, sequence and interval between surgery and irradiation. **Radiother Oncol.** 1998 Sep;48(3):259-65

Baker MI, Eberhardt AW, Martin DM, McGwin G, Lemons JE. Bone properties surrounding hydroxyapatite-coated custom osseous integrated dental implants. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.** 2010;95:218-224.

* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

Batista JD. Efeitos da terapia laser de baixa potência sobre o reparo ósseo: avaliação do osso submetido à radioterapia e do efeito sistêmico. [Tese]. Brasil (RS): **Pontifícia Universidade Católica** – PUCRS; 2011

Beumer J 3rd, Curtis T, Harrison RE. (1979). Radiation therapy of the oral cavity: sequelae and management, part 1. **Head Neck Surg.** 1979 Mar-Apr;1(4):301-12.

Bicalho A, Pereira R, Zanatta R, Franco S, Tantbirojn D, Versluis A, et al. Incremental Filling Technique and Composite Material-Part I: Cuspal Deformation, Bond Strength, and Physical Properties. **Oper Dent.** 2013; Oct 22.

Campbell GM, Buie HR, Boyd SK. Signs of irreversible architectural changes occur early in the development of experimental osteoporosis as assessed by in vivo micro-CT. **Osteoporos Int.** 2008 Oct;19(10):1409-19

Carpenter RC, Miao L, Miyagi Y, Bengten E, Zhang JH. Altered expression of P(2) receptor mRNAs in the basilar artery in a rat double hemorrhage model. **Stroke.** 2001 Feb;32(2):516-22

Cater DB, Silver IA. Quantitative measurements of oxygen tension in normal tissues and in the tumours of patients before and after radiotherapy. **Acta radiol.** 1960 Mar;53:233-56

Chen JH, Liu C, You L, et al. Boning up on Wolff's law: mechanical regulation of the cells that make and maintain bone. **J Biomech** 2009;43:108–18.

Clark CL, Strider J, Hall C, Ferguson HW, Armstrong KL, Runner RR, Baur DA. Distraction osteogenesis in irradiated rabbit mandibles with adjunctive hyperbaric oxygen therapy. **J Oral Maxillofac Surg**. 2006 Apr;64(4):589-93

Costantino PD, Friedman CD, Steinberg MJ. Irradiated bone and its management. **Otolaryngol Clin North Am**. 1995 Oct;28(5):1021-38.

Cunha, S.S.; Sarmiento, V.; Ramalho, L.M.; DE Almeida, D.; Veeck, E.B.; DA Costa, N.P.; Mattos, A.; Marques, A.M.; Gerbi, M.; Freitas, A.C.; Effect of laser therapy on bone tissue submitted to radiotherapy: experimental study in rats. **Photomed Laser Surg**, New Rochelle, v.25, n.3, p.197-204, Jun. 2007

Davies JE, Hosseini MM. Histodynamics of endosseous. wound healing. In: Davies JE, ed. **Bone engineering**. Toronto: em squared Inc; 2000: 435-40 p

Dreizen S, Daly TE, Drane JB, Brown LR. Oral complications of cancer radiotherapy. **Postgrad Med**. 1977 Feb;61(2):85-92

Dunlop, J.W. C.; Fratzi, P. Biological Composites. Annu. **Rev. Mater. Res**. 2010, 40:1–24

Efeoglu C, Fisher SE, Ertürk S, Oztop F, Günbay S, Sipahi A. Quantitative morphometric evaluation of critical size experimental bone defects by microcomputed tomography. **Br J Oral Maxillofac Surg**. 2007 Apr;45(3):203-7

Epstein J, van der Meij E, McKenzie M, Wong F, Lepawsky M, Stevenson-Moore P. Postradiation osteonecrosis of the mandible: a long-term follow-up study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 1997 Jun;83(6):657-62.

Feldmeier JJ. Hyperbaric oxygen for delayed radiation injuries. **Undersea Hyperb Med.** 2004 Spring;31(1):133-45.

Fok TC, Jan A, Peel SA, Evans AW, Clokie CM, Sándor GK. Hyperbaric oxygen results in increased vascular endothelial growth factor (VEGF) protein expression in rabbit calvarial critical-sized defects. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 2008;105(4):417-22

Forbes ME, Paitsel M, Bourland JD, Riddle DR. Systemic effects of fractionated, whole-brain irradiation in young adult and aging rats. **Radiat Res.**2013 Sep;180(3):326-33

Giebfried JW, Lawson W, Biller HF. Complications of hyperbaric oxygen in the treatment of head and neck disease. **Otolaryngol Head Neck Surg** 1986;94:508–12

Ha CT, Li XH, Fu D, Xiao M, Landauer MR. Genistein nanoparticles protect mouse hematopoietic system and prevent proinflammatory factors after gamma irradiation. **Radiat Res.** 2013;180(3):316-25.

Hall EJ. Radiobiology for the radiobiologist. 6th ed. Philadelphia(PA): **Lippincott, Williams and Wilkins;** 2000

Ishii Y, Ushida T, Tateishi T, Shimojo H, Miyanaga Y. Effects of different exposures of hyperbaric oxygen on ligament healing in rats. **J Orthop Res.** 2002 Mar;20(2):353-6

Jacobson AS, Buchbinder D, Hu K, Urken ML. Paradigm shifts in the management of osteoradionecrosis of the mandible. **Oral Oncol.** 2010 Nov;46(11):795-801

Jan AM, Sándor GK, Iera D, Mhawi A, Peel S, Evans AW, Clokie CM. Hyperbaric oxygen results in an increase in rabbit calvarial critical sized defects. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006 Feb;101(2):144-9.

Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia Básica*. Rio de Janeiro: Guanabara. 2004. 136-53 p

Kawada S, Wada E, Matsuda R, Ishii N. Hyperbaric hyperoxia accelerates fracture healing in mice. **PLoS One.** 2013 Aug 14;8(8):e72603

Katchburian E, Arana-Chaves V. *Histologia e Embriologia Oral*. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara; 2004.

Korres N, Tsiridis E, Pavlou G, Mitsoudis A, Perrea DN, Zoumbos AB. Biomechanical characteristics of bone in streptozotocin-induced diabetic rats: A in-vivo randomized controlled experimental study. **World J Orthop.** 2013;4(3):124-9.

Kriz J, Jirak D, Vilk GJ, Girman P, White DJ, Hajek M, Saudek F. Vascularization of artificial beds for pancreatic islet transplantation in a rat model. **Transplant Proc.** 2010 Jul-Aug;42(6):2097-101

Kürklü M, Yurttaş Y, Köse O, Demiralp B, Yüksel HY, Kömürcü M. Adjunctive hyperbaric oxygen therapy in the treatment of atrophic tibial nonunion with Ilizarov external fixator: a radiographic and scintigraphic study in rabbits. **Acta Orthop Traumatol Turc.** 2012;46(2):126-31.

Lerouxel E, Moreau A, Bouler JM, Giumelli B, Daculsi G, Weiss P, Malard O. Effects of high doses of ionising radiation on bone in rats: A new model for evaluation of bone engineering. **Br J Oral Maxillofac Surg**, London, v.47, n.8, p.602–607, Dez. 2009

Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. Platelet-Rich Plasma: A Source of Multiple Autologous Growth Factors for Bone Grafts: in Tissue Engineering, Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Illinois: **Quintessence.** 1999. p. 71-101

Lyons A, Ghazali N. Osteoradionecrosis of the jaws: current understanding of its pathophysiology and treatment. **Br J Oral Maxillofac Surg.** 2008 Dec;46(8):653-60

Maeda, M.; Bryant, M.H.; Yamagata, M.; Li, G.; Earle, J.D.; Chao, E.Y. Effects of irradiation on cortical bone and their time-related changes. A biomechanical

and histomorphological study. **J Bone Joint Surg Am**, v.70, n.3, p.392–399, Mar. 1988

Marx RE. Bone and bone graft healing. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am**. 2007 Nov;19(4):455-66,

Marx RE. Osteoradionecrosis: a new concept of its pathophysiology. **J Oral Maxillofac Surg**. 1983a May;41(5):283-8.

Marx RE. A new concept in the treatment of osteoradionecrosis. **J Oral Maxillofac Surg**. 1983b Jun;41(6):351-7.

Marx RE, Ames JR. The use of hyperbaric oxygen therapy in bony reconstruction of the irradiated and tissue-deficient patient. **J Oral Maxillofac Surg**. 1982 Jul;40(7):412-20

Marx RE, Johnson RP, Kline SN. Prevention of osteoradionecrosis: a randomized prospective clinical trial of hyperbaric oxygen versus penicillin. **J Am Dent Assoc**. 1985 Jul;111(1):49-54

Meyer I. Infectious diseases of the jaws. **J Oral Surg**. 1970 Jan;28(1):17-26

Muhonen, A.; Haaparanta, M.; Grönroos, T.; Bergman, J.; Knuuti, J.; Hinkka, S.; Happonen, R.P. Osteoblastic activity and neoangiogenesis in distracted bone of irradiated rabbit mandible with or without hyperbaric oxygen treatment. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.33, n.2, p.173-8, Mar. 2004.

Muhonen A, Muhonen J, Lindholm TC, Minn H, Klossner J, Kulmala J, Happonen RP. Osteodistraction of a previously irradiated mandible with or without adjunctive hyperbaric oxygenation: an experimental study in rabbits. **Int J Oral Maxillofac Surg**. 2002 Oct;31(5):519-24

Nabil S, Samman N. Incidence and prevention of osteoradionecrosis after dental extraction in irradiated patients: a systematic review. **Int J Oral Maxillofac Surg**. 2011 Mar;40(3):229-43

Pelisser, A.; Vier-Pelisser, F.V.; Fontanella, V.R.C.; Figueiredo, M.AZ. Microscopical analysis of fractionated cobalt-60 radiotherapy effects on mandibles of rats. **Radiol Bras**, São Paulo, v.40, n.2, p.113-8, 2007.

Pedersen TO, Xing Z, Finne-Wistrand A, Hellem S, Mustafa K. Hyperbaric oxygen stimulates vascularization and bone formation in rat calvarial defects. **Int J Oral Maxillofac Surg**. 2013 Jul;42(7):907-14

Pitak-Arnop P, Sader R, Dhanuthai K, Masaratana P, Bertolus C, Chaine A, Bertrand JC, Hemprich A. Management of osteoradionecrosis of the jaws: an analysis of evidence. **Eur J Surg Oncol**. 2008 Oct;34(10):1123-34.

Polak SJ, Candido S, Levensgood SK, Johnson AJ. Automated segmentation of micro-CT images of bone formation in calcium phosphate scaffolds. **Comput Med Imaging Graph**. 2012 Jan;36(1):54-65

Rabelo, G.D.; Beletti, M.E.; Dechichi, P. Histological analysis of the alterations on cortical bone channels network after radiotherapy: A rabbit study. **Microsc Res Tech**, v.73, n.11, p.1015-8, Out. 2010.

Roden RD Jr. Principles of bone grafting. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am**. 2010 Aug;22(3):295-300,

Sawai T, Niimi A, Takahashi H, Ueda M. Histologic study of the effect of hyperbaric oxygen therapy on autogenous free bone grafts. **J Oral Maxillofac Surg** 1996;54:975–81.

Schriefer JL, Robling AG, Warden SJ, Fournier AJ, Mason JJ, Turner CH. A comparison of mechanical properties derived from multiple skeletal sites in mice. **J Biomech**. 2005 Mar;38(3):467-75

Schultze-Mosgau S, Rödel F, Radespiel-Tröger M, Wörl J, Grabenbauer GG, Neukam FW. Vascularization of the area between free grafts and irradiated graft beds in the neck in rats. **Br J Oral Maxillofac Surg**. 2002 Feb;40(1):37-44

Silverman S Jr, Chierici G. Radiation therapy of oral carcinoma. I. Effects on oral tissues and management of the periodontium. **J Periodontol**. 1965 Nov-Dec;36(6):478-84

Shaw RJ, Butterworth C. Hyperbaric oxygen in the management of late radiation injury to the head and neck. Part II: prevention. **Br J Oral Maxillofac Surg**. 2011 Jan;49(1):9-13.

Spiegelberg L, Djasim UM, van Neck HW, Wolvius EB, van der Wal KG. Hyperbaric oxygen therapy in the management of radiation-induced injury in the head and neck region: a review of the literature. **J Oral Maxillofac Surg**. 2010 Aug;68(8):1732-9.

Steel GG. **Basic clinical radiobiology**. 3rd ed. London: Arnold; 2002

Takekawa M, Matsuda M, Ohotubo S. Effect of irradiation on autogenous bone transplantation in rat parietal bone. **Histol Histopathol**. 2000 Jan;15(1):7-19

Tauhata L, Salati IPA, Prinzi RDi, Prinzi MARRDi. Radioproteção e Dosimetria: **Fundamentos. 5a Revisão**. Agosto/2003. Rio de Janeiro/RJ. IRD/CNEN. 239p

Ten Cate AR. Histologia Bucal - **Desenvolvimento, Estrutura e Função. 5th** ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2001

Thom SR. Hyperbaric oxygen: its mechanisms and efficacy. **Plast Reconstr Surg** 2011;127(Suppl. 1):131S–41S.

Thorn JJ, Hansen HS, Specht L, Bastholt L. Osteoradionecrosis of the jaws: clinical characteristics and relation to the field of irradiation. **J Oral Maxillofac Surg**. 2000 Oct;58(10):1088-93

Trowbridge, H. O; Emling, R. C. Regeneração e cicatrização. In: Inflamação: uma revisão do processo. 4 ed. São Paulo: **Quintessence**, 1996. cap. 7. p. 146-7

Van Lenthe GH, Voide R, Boyd SK, Müller R. Tissue modulus calculated from beam theory is biased by bone size and geometry: implications for the use of three-point bending tests to determine bone tissue modulus. **Bone**. 2008 Oct;43(4):717-23

Vissink A, Jansma J, Spijkervet FK, Burlage FR, Coppes RP. **Oral sequelae of head and neck radiotherapy**. Crit Rev Oral Biol Med. 2003;14(3):199-212.



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco A, sala 224 - Campus Santa
Mônica - Uberlândia-MG –
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131; e-mail:ceua@propp.ufu.br;
www.comissoes.propp.ufu.br

ANÁLISE FINAL Nº 234/13 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 105/13

Projeto Pesquisa: "estudo do efeito do número de sessões de oxigenoterapia hiperbárica no reparo do tecido ósseo de ratos submetidos ou não à radioterapia."

Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Darceny Zanetta Barbosa

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 09 de Janeiro de 2013

Prof. Dr. César Augusto Garcia
Coordenador da CEUA/UFU