

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**ANÁLISE RADIOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DA
REPARAÇÃO ÓSSEA COM ENXERTO OMENTAL
AUTÓGENO LIVRE NA OSTEOTOMIA
UNICORTICAL DA TÍBIA DE OVINOS**

Bruna de Souza Teixeira
Médica Veterinária

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL
Agosto - 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**ANÁLISE RADIOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DA
REPARAÇÃO ÓSSEA COM ENXERTO OMENTAL
AUTÓGENO LIVRE NA OSTEOTOMIA
UNICORTICAL DA TÍBIA DE OVINOS**

Bruna de Souza Teixeira

Orientador: Prof. Dr. Geison Morel Nogueira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Uberlândia como parte do requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Veterinárias (Saúde Animal).

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL

Agosto - 2018

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

T266a Teixeira, Bruna de Souza, 1990-
2018 Análise radiográfica e histológica da reparação óssea com enxerto
 omental autólogo livre na osteotomia unicortical da tíbia de ovinos
 [recurso eletrônico] / Bruna de Souza Teixeira. - 2018.

 Orientador: Geison Morel Nogueira.
 Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias.
 Modo de acesso: Internet.
 Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2025.5227>
 Inclui bibliografia.
 Inclui ilustrações.

 1. Veterinária. I. Nogueira, Geison Morel, 1975-, (Orient.). II.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-graduação em
Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

André Carlos Francisco
Bibliotecário-Documentalista - CRB-6/3408



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



Ata da defesa de Dissertação de **MESTRADO ACADÊMICO** junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa de: Dissertação de mestrado acadêmico nº **PPGCV/016/2018**

Data: 28/08/2018

Discente: **Bruna de Souza Teixeira** – Matrícula – 11612MEV004

Título da Dissertação: **ANÁLISE HISTOLÓGICA E RADIOGRÁFICA DA REPARAÇÃO ÓSSEA COM ENXERTO OMENTAL AUTÓGENO NA OSTEOTOMIA UNICORTICAL DA TÍBIA DE OVINOS**

Área de concentração: SAÚDE ANIMAL

Linha de pesquisa: ANESTESIOLOGIA E CIRURGIA


Projeto de Pesquisa de vinculação: MÉTODOS DE REPARAÇÃO DE FALHAS ÓSSEAS


No dia 28 de Agosto do ano de 2018 às 14:00 horas no Anfiteatro do Hospital Veterinário – Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Comissão Julgadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, composta pelos Professores(as)/Doutores(as): **Francisco Cláudio Dantas Mota** – UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA; **Paulo Vinícius Tertuliano Marinho** – INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SUL DE MINAS GERAIS – CAMPUS MUZAMBINHO e **Geison Morel Nogueira** orientador(a) do(a) candidato(a).

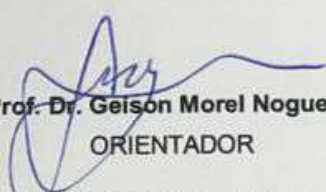
Iniciando os trabalhos o(a) presidente da comissão Dr./Dra. Geison Morel Nogueira concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para uma exposição do seu trabalho, contando com o tempo máximo de 50 minutos. A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o(a) candidato(a), durante o prazo máximo de (30) minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para resposta. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Comissão Julgadora, em sessão secreta, considerou o(a) candidato(a) APROVADA.

Esta defesa de dissertação de mestrado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme Regulamento do Programa, Legislação e a Regulamentação Interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar o(a) Presidente encerrou os trabalhos às 17 horas e 00 minutos, lavrou esta ata que será assinada por todos os membros da Comissão Examinadora. Uberlândia, 28 de Agosto de 2018.


Prof. Dr. Francisco Cláudio Dantas Mota
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA


Prof. Dr. Paulo Vinícius Tertuliano Marinho
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DO SUL DE MINAS – CAMPUS MUZAMBINHO


Prof. Dr. Geison Morel Nogueira
ORIENTADOR

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Bruna de Souza Teixeira– nascida na cidade de Uberlândia, estado de Minas Gerais, aos seis dias do mês de setembro de um mil novecentos e noventa. Ingressou no curso de Medicina Veterinária em janeiro do ano de 2009, tendo concluído o curso em janeiro de 2014 na Universidade de Uberaba (UNIUBE). Em fevereiro de 2014 foi aprovada no Programa de Residência Uniprofissional em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), na área de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais, concluindo em março de 2016. Neste mesmo mês, após a aprovação, ingressou no curso de Mestrado pelo programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFU, na subárea de Anestesiologia e Cirurgia. Foi docente na Universidade Professor Antônio Carlos (UNIPAC) onde ministrou as disciplinas de Semiologia de Grandes Animais, Clínica Médica de Grandes Animais I e Clínica Médica de Grandes Animais II e Patologia Clínica Cirúrgica nos semestres 2017/2 e 2018/1, atualmente é docente na Universidade do Triângulo (UNITRI) ministrando as disciplinas de Clínica de Ruminantes, Semiologia Animal e Microbiologia. Trabalhou com enxerto de omento autógeno livre após osteotomia unicortical em ovinos.

*“Porque os caminhos do homem estão perante os olhos do Senhor, e Ele
aplana todas as suas carreiras.”
(Provérbios 5:21)*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por seus cuidados em cada detalhe da minha vida.

Meus pais e irmã por serem minha base e sempre me apoiarem em tudo que me proponho. Também agradeço minhas amigas que me apoiam sempre.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Geison Morel Nogueira, por toda sabedoria e paciência desde a graduação, residência e também mestrado, sendo um exemplo de profissional.

Prof. Dr. Francisco Mota, Diego Delfiol e João Paulo Sault, por toda ajuda e ensinamento, assim como o Prof. Dr. Marcelo Beletti por sua imensa contribuição e disposição, por ceder o laboratório para que fosse possível realizar a pesquisa. Agradeço também a todos do laboratório que muito bem me receberam.

Agradeço a Layane Magalhães, que desde a residência é minha parceira e contribui sempre que solicitada de forma eficiente e agradável, buscando acrescentar de todas as formas, assim como a Carol que tanto me ensinou. Também aos residentes Brenda, Fernanda e Kamilla, obrigada pela disposição sempre.

Aos colaboradores do Setor de Grandes animais, Senhor Joaquim, Cafú e Marlon por suas importantes contribuições cuidando do bem-estar dos animais.

Agradeço ao meu parceiro de Mestrado Leandro pelo tempo dedicado e ajuda.

Agradeço aos animais utilizados para estudo, como forma de respeito à vida.

Assim agradeço também a equipe HV-UFU por permitir o desenvolvimento de trabalhos de pesquisa, incentivando e colaborando com os alunos da pós-graduação. À FAMEV e equipe de pós-graduação em Ciências Veterinárias que muito fazem para incentivar as pesquisas.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
REVISÃO DE LITERATURA	11
Estrutura e organização do tecido ósseo	11
Reparação óssea	13
Enxertos ósseos	14
Enxerto omental	15
MATERIAL E MÉTODOS	17
Animais	17
Procedimentos cirúrgicos	18
Osteotomia unicortical da tíbia	18
Laparotomia e enxerto omental	19
Análise radiográfica	21
Biópsia óssea	22
Análise histológica	22
Análise estatística	23
RESULTADOS	23
Animais - Avaliação clínica	23
Análise radiográfica	23
Análise histológica	24
DISCUSSÃO	25
CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	28

LISTA DE ABREVIATURAS

CEUA – Comissão Ética na Utilização de Animais

bFGF – Fator de Crescimento Fibroblático Básico

cm - Centímetros

CONCEA – Conselho Nacional de Controle e experimentação Animal

Mm - Milímetros

TGF- β 1 – Fator de Crescimento Transformador Beta-1

UFU – Universidade Federal de Uberlândia

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Campo cirúrgico expondo a região de face medial da metáfise proximal da tíbia após osteotomia unicortical por escariação com fresa seis mm de diâmetro, obtendo a falha óssea planejada neste experimento.

Figura 2 - Campo cirúrgico expondo a região de face medial da metáfise proximal da tíbia esquerda após recobrimento da falha óssea de 6 mm de diâmetro com enxerto omental autógeno livre.

Figura 3: Exame radiográfico da região proximal da tíbia esquerda de ovino, em projeção mediolateral do grupo tratado. **A** - área radioluscente circular, indicando região osteotomizada de 6 mm de diâmetro, com borda óssea bem definida no dia zero; **B** - área radioluscente circular, indicando região osteotomizada de 6 mm, com radiopacidade em borda e diminuição de definição do contorno, aos 60 dias pós-operatórios.

Figura 4: Diferença significativa na mensuração radiográfica das áreas osteotomizadas entre membros tratados e controle, nos distintos tempos pós-operatórios.

Figura 5: Imagem histológica da biópsia óssea. Area de transição da ossificação intramembranosa e região osteotomizada, corada por Tricrômico de Gomori em aumento 4X. Detectou-se centro de ossificação, reconhecido a partir da presença de osteócitos, demonstrado na imagem por seta.

ANÁLISE RADIOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DA REPARAÇÃO ÓSSEA COM ENXERTO OMENTAL AUTÓGENO LIVRE NA OSTEOTOMIA UNICORTICAL DA TÍBIA DE OVINOS

RESUMO – O enxerto omental autógeno estimula o crescimento do osso em resposta à lesão, sendo um fator coadjuvante na cicatrização promovendo importante atividade angiogênica e aceleração da reparação óssea. Objetivou-se avaliar a influência do enxerto de omento autógeno livre no processo de reparação óssea, por meio de análise radiográfica e histológica das regiões submetidas à osteotomia unicortical. Seis ovelhas adultas foram utilizadas para o estudo. Uma osteotomia unicortical de seis milímetros de diâmetro foi produzida na face medial da tíbia, em ambos os membros, por meio de escariação. O membro direito foi utilizado como controle, sendo a tíbia esquerda recoberta por omento livre autógeno, compondo o grupo tratado. A avaliação da reparação óssea e redução da área osteotomizada foram realizadas por meio de análises radiográfica nos dias zero, 15, 30, 45 e 60 pós-operatório e histológica aos 60 dias. A partir das análises radiográfica e histológica, observou-se diferença estatística ($p < 0,0001$) nos membros tratados aos 60 dias, havendo redução da área de injúria óssea recoberta com enxerto omental em relação aos membros controles. Na biopsia, o grupo controle apresentou 83,33% (5/6) dos membros com tecido conjuntivo preenchendo toda a área osteotomizada, 66,66% (4/6) com osso neoformado nas bordas e 33,33% (2/6) com preenchimento total da área por osso neoformado. Apenas um membro 16,66% (1/6) apresentou tecido adiposo aderido ao periósteo – omento. O grupo controle apresentou tecido conjuntivo preenchendo toda a lesão em 100% (6/6) das amostras, com presença de osso neoformado na borda e não houve nenhum preenchimento total da falha por osso neoformado. Conclui-se, com este estudo, que o enxerto de omento autógeno livre em tecido ósseo, pós osteotomia em ovinos, apresentou ação adjuvante na regeneração óssea, estimulando e acelerando o processo fisiológico, de acordo com as análises radiográficas e histológicas aos 60 dias pós-operatórios, sendo um modelo com potencial translacional que pode contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens em regeneração óssea.

Palavras-Chave: fratura, medicina regenerativa, modelo experimental, ortopedia, ruminantes

RADIOGRAPHIC AND HISTOLOGICAL ANALYSIS OF BONE REPAIR WITH FREE AUTOGENOUS OMENTAL GRAFT IN UNICORTICAL OSTEOTOMY OF THE TIBIA IN SHEEP

ABSTRACT - The autogenous omental graft stimulates bone growth in response to injury, acting as a coadjuvant factor in healing by promoting significant angiogenic activity and accelerating bone repair. This study aimed to evaluate the influence of the free autogenous omental graft on the bone repair process through radiographic and histological analysis of regions subjected to unicortical osteotomy. Six adult sheep were used in the study. A unicortical osteotomy measuring six millimeters in diameter was performed on the medial surface of the tibia in both limbs, using curettage. The right limb was used as the control, while the left tibia was covered with the free omental graft, forming the treated group. The bone repair response was evaluated through radiographic and histological analyses on days 15, 30, and 60 postoperatively. At 60 days, statistical differences ($p < 0.0001$) were observed between treated and control limbs, with a significant reduction in the injury area in those covered with the omental graft compared to the controls. In the biopsy, the control group showed 83.33% (5/6) of the limbs filled with connective tissue throughout the osteotomized area, 66.66% (4/6) with newly formed bone at the edges, and 33.33% (2/6) with total filling by newly formed bone. Only one limb (16.66%; 1/6) had adipose tissue adhered to the periosteum. The treated group showed connective tissue filling the lesion in 100% (6/6) of the samples, with newly formed bone at the edges in all of them, but no complete filling of the defect with new bone. It is concluded that the use of the free autogenous omental graft in bone tissue after osteotomy in sheep showed adjuvant action in bone regeneration, stimulating and accelerating the physiological process, according to radiographic and histological analyses at 60 days postoperatively. This represents a model with translational potential that could contribute to the development of new approaches in bone regeneration.

Keywords: experimental model, fracture, orthopedics, regenerative medicine, ruminants

INTRODUÇÃO

O tratamento de condições pós-traumáticas ósseas com complicações como não uniões, uniões tardias e perda óssea ainda é um desafio, sendo necessária a estabilização e restauração do alinhamento das estruturas ósseas na maioria dos casos e ainda com a utilização de adjuvantes para preenchimento e auxílio na consolidação óssea, como os enxertos (FINKEMEIER, 2002).

Para que haja cicatrização óssea é necessário que o processo fisiológico intrínseco aconteça e para isso é importante que técnicas ideais de estabilização sejam aplicadas (SCHMAEDECKE et al., 2003). Além disso, existem diversas técnicas com uso de materiais biodegradáveis que auxiliam a reparação e recuperação de fraturas como bifosfonados, preparados ricos em fatores de crescimento, proteínas morfogênicas ósseas (ASTUR et al., 2016) e enxertos (FRIEDLAENDER, 1987) de baixo custo e disponíveis (NNAJI; NWAKUCHE, 2015).

Enxerto é um tecido transplantado a outra região com a intenção de reparação. Inicialmente, os enxertos eram utilizados com a função de fornecer estabilidade mecânica ao osso, mas seu uso evoluiu e passou se a utilizar com as finalidades de estimulação ao crescimento do osso em resposta à lesão sofrida (MARTINEZ; WALKER, 1999), sendo assim, o enxerto de omento tem sido bastante estudado em todo mundo (NNAJI; NWAKUCHE, 2015).

O omento tem função central nos mecanismos de proteção intraperitoneal, em virtude da sua função imunológica inata, alta capacidade de absorção e aderência a estruturas adjacentes, sendo um fator coadjuvante na cicatrização promovendo importante atividade angiogênica. Por ter essa característica, vários cirurgiões utilizam o omento de diversas maneiras, desde reconstrução de diversos tecidos à indução de cicatrização (PLATELL et al., 2000).

Objetivou-se, neste estudo, avaliar a influência do enxerto de omento autógeno livre no processo de reparação óssea, por meio de análise radiográfica e histológica das regiões submetidas à osteotomia unicortical.

REVISÃO DE LITERATURA

Estrutura e organização do tecido ósseo

O osso é uma substância viva, com vasos sanguíneos, linfáticos e nervos. Sendo assim, cresce e está sujeito a doenças e fraturas tendo a capacidade de se regenerar. A estrutura orgânica do osso é composta de células e tecido fibroso e são os sais inorgânicos que proporcionam rigidez e a opacidade ao exame radiográfico (GETTY, 2008). O osso compacto, que é composto de matriz densa com poucos espaços entre os elementos, forma a parte externa das diáfises e epífises (JUNIOR; BARCHA, 2003).

Os ossos têm a função de sustentação para o corpo, alavanca e inserções para os músculos, proteção para algumas vísceras como pulmões, coração, encéfalo e medula espinhal, contém a medula óssea que está relacionada com a produção das células sanguíneas e reserva minerais (GETTY, 2008; FRANDSON; WILKE; DEE, 2009a).

Na diáfise de ossos longos se encontra a cavidade medular (GETTY, 2008), esses possuem epífise que se refere a qualquer extremidade de um osso longo, diáfise que é o eixo cilíndrico do osso longo e está situada entre as duas epífises e por fim a metáfise de um osso maduro, que é a área fletida adjacente à epífise. A cartilagem ou disco epifisário é uma camada de cartilagem hialina dentro da metáfise de um osso imaturo que separa a diáfise da epífise. Esta é a única área em que um osso pode alongar (FRANDSON; WILKE; DEE, 2009a).

O perióstio reveste a superfície externa do osso, exceto onde há cartilagem, é uma lâmina de tecido conectivo com potência osteogênica (GETTY, 2008) muito vascularizado e bem innervado. Osteoblastos do perióstio são responsáveis pelo aumento do diâmetro dos ossos e assim são células responsáveis pela reparação de fraturas (FRANDSON; WILKE; DEE, 2009a).

O endóstio é uma membrana fibrosa fina que limita a cavidade medular e os canais nutritivos maiores do osso (canais haversianos) (GETTY, 2008). A cavidade medular é determinada pela ação dos osteoclastos. Ambos, perióstio e endóstio contêm osteoblastos e osteoclastos (FRANDSON; WILKE; DEE,

2009a). Os osteoblastos e os osteoclastos situam-se livres na superfície da matriz óssea (JUNIOR; BARÇA, 2003).

O osso maduro é composto por células ósseas chamadas de osteócitos, envolvidas por matriz intercelular composto de material calcificado. Os osteócitos estão em pequenas cavidades no osso denominadas lacunas. Um sistema de pequenos canais, chamado canalículos, conecta as lacunas dentro da substância do osso (FRANDSON; WILKE; DEE, 2009b).

Os osteoclastos são células responsáveis por reabsorção óssea em condições normais ou anormais. São grandes, multinucleados, derivados de macrófagos e através da ação da absorção óssea liberam ácidos orgânicos e enzimas (FRANDSON; WILKE; DEE, 2009b). Já os osteoblastos secretam a maior parte da matriz e acabam circundados por ela, passando a ser chamados de osteócitos (JUNIOR; BARÇA, 2003).

Ossificação é a formação de osso verdadeiro por deposição de sais de cálcio em uma matriz osteóide. A calcificação refere-se ao depósito de sais de cálcio em qualquer tecido. A sequência da formação óssea consiste em osteoblastos que originam o tecido osteóide que é subsequentemente calcificado sob a influência da enzima fosfatase alcalina (KONIG; LIEBICH, 2016). O ambiente em que estabelece o tecido ósseo determina se o tipo de ossificação é endocondral ou intramembranosa sendo a vascularização importante também nessa fase (FRANDSON; WILKE; DEE, 2009b; HANKENSON et al., 2011).

A ossificação endocondral é aquela que procede a presença de cartilagem, é o que acontece durante o desenvolvimento fetal, onde toda a cartilagem produzida é substituída por matriz óssea (KONIG; LIEBICH, 2016). Ocorre a invasão por vasos sanguíneos no ambiente avascular cartilaginosa guiado por células condroclásticas com progenitores de osteoblastos que desempenham deposição de cálcio nas ilhas de superfície da cartilagem (HANKENSON ET AL., 2011). O centro de ossificação se desenvolve a partir de um eixo médio no osso longo (FRANDSON; WILKE; DEE, 2009b).

Já a ossificação intramembranosa, embora diferente também requer vascularização (HANKENSON et al., 2011), tem sua constituição a partir de uma membrana fibrosa, ou matriz, que é um infiltrado de osteócitos. As camadas de perióstio de cada lado do osso formam então um osso adicional. Como ossos longos dos membros e grandes ossos chatos em animais adultos, que são

envoltos de osso compacto ou osso cortical e um núcleo ósseo esponjoso (FRANDSON; WILKE; DEE, 2009b). As lamelas do osso intramembranoso possuem a mesma estrutura básica que de osso endocondral (JUNIOR; BARCHA, 2003).

Reparação óssea

A perda de continuidade óssea é chamada de fratura óssea (FRANDSON; WILKE; DEE, 2009b). Imediatamente após a lesão, o volume do leito vascular aumenta devido à vasodilatação, essa hiperemia contribui para o edema, mas também contribui com a formação do coágulo que precede a formação do calo ósseo temporário (HANKENSON et al., 2011).

Apesar do extravasamento de sangue nas extremidades que sofreram injúria, segue-se por um período de hipóxia e necrose. O osso necrótico é absorvido e a irrigação é regularizada à medida que acontece a cicatrização (HANKENSON et al., 2011). Quando o espaço entre as bordas ósseas pós-fratura é pequeno e não há movimentação entre elas acontece à cicatrização óssea primária, mas, quando as bordas estão muito distantes ocorre à cicatrização óssea secundária, devido a maior movimentação óssea (KONIG; LIEBICH, 2016).

Na reparação óssea, ocorre a angiogênese, que é a formação de novos vasos locais a fim de nutrir e facilitar o transporte de nutrientes. A sua importância na regeneração também se dá por transporte a células precursoras ósseas. A angiogênese é regulada por fatores de crescimento, incluindo o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (HANKENSON et al., 2011).

Os osteoblastos presentes na superfície do osso, no periósteo e endósteo alinham as cavidades da medula e dividem de forma rápida os canais haversianos produzindo uma enorme quantidade de tecido osteóide chamado calo ósseo (FRANDSON; WILKE; DEE, 2009b). O tecido osteóide preenche o espaço entre as extremidades ósseas e a cavidade medular, envolvendo as extremidades do osso e formando uma ponte que geralmente impede o movimento entre os segmentos (FRANDSON; WILKE; DEE, 2009b).

O calo inicial é maleável, constituído de tecido conectivo fibroso que sofre calcificação e reorganização originando osso compacto (KONIG; LIEBICH, 2016), sendo o tecido ósseo continuamente remodelado através da ação e função dos osteoblastos, que orquestram a reabsorção e deposição óssea (SILVA et al., 2015).

Se o processo de cicatrização não é normal ou é interrompido acontecem condições patológicas da consolidação (HANKENSON et al., 2011). Sendo assim, a regularização na circulação e microcirculação são de extrema importância para todo o processo de reparação (Saifzadeh et al., 2009).

Enxertos ósseos

Os enxertos são tecidos extraídos e transportados para outras regiões, podendo ser utilizados em receptores diferentes dos doadores ou até mesmo entre o mesmo doador e receptor, com a intenção de auxílio em reparação tecidual. Os diversos enxertos ósseos antes eram utilizados com a função de estabilização óssea, mas, após estudos, observou-se sua capacidade de estimulação à cicatrização em resposta à injúria sofrida (MARTINEZ; WALKER, 1999).

Conhecer a definição de enxertos ósseos é necessário para entender as funções, indicações, contraindicações e função biológica de vários tipos de enxertos ósseos. Esses enxertos são nomeados de acordo com a sua origem e composição (FRIEDLAENDER, 1987).

O enxerto autógeno (autoenxerto) é um tecido coletado do doador e implantado no local receptor no mesmo indivíduo. Algumas características deste tipo de enxerto são histocompatibilidade com o sistema imunológico do hospedeiro e baixo risco de transmissão de doenças. O enxerto alógeno (aloenxerto) é aquele em que um tecido é transplantado de um indivíduo para outro da mesma espécie. Já o xenoenxerto (xenogênico) é um tecido transplantado entre indivíduos de diferentes espécies (MARTINEZ; WALKER, 1999).

Os enxertos esponjosos consistem em osso trabecular altamente celular que é colhido nas cavidades medulares associadas a regiões metafisárias de

ossos longos. Esses enxertos estimulam a cicatrização óssea, mas não fornecem suporte mecânico ou estrutural imediato para o osso (FRIEDLAENDER, 1987; MARTINEZ; WALKER, 1999).

Os enxertos corticais consistem em osso cortical externo denso que fornece suporte estrutural, bem como “andaimes” para o crescimento de novo osso. Os enxertos corticoesponjosos são uma mistura de osso cortical e esponjoso. Enxertos compostos são uma combinação de osso esponjoso fresco usado com aloimplantes preservados. Os enxertos osteocondrais incluem cartilagem articular e osso. O enxerto fresco é colhido no momento do uso e o enxerto preservado é colhido antes de ser utilizado, sendo esterilizado e armazenado. Os métodos de esterilização mais utilizados incluem a esterilização química com óxido de etileno, congelamento e irradiação (FRIEDLAENDER, 1987).

Os enxertos vascularizados são colhidos com vasos sanguíneos intactos e são anastomosados no local do receptor. Com um enxerto livre, o suprimento de sangue não está mais intacto e ocorre vascularização, com a angiogênese originada no local do hospedeiro (MARTINEZ; WALKER, 1999).

Enxerto omental

As pesquisas sobre a biologia do osso buscando coadjuvantes da osteogênese levou ao desenvolvimento de uma variedade de produtos feitos para estimular e promover os fatores biológicos necessários para a consolidação (FOSTER et al., 2009), mas a disponibilidade e custo de alguns tornam seu uso quase impossível. Sendo assim, desenvolver um material biodegradável, de baixo custo e disponível que possa promover a cicatrização óssea é de suma importância, portanto o omento tem sido bastante estudado em todo mundo (NNAJI; NWAKUCHE, 2015).

O omento maior é um órgão rico em vasos e plexo linfático, tendo como função a proteção dos órgãos da cavidade abdominal. Durante anos, profissionais utilizaram este tecido tentando promover a reconstituição e proteção de outros tecidos ou órgãos (MORAN; PANJE, 1987). Este tecido é estudado desde o século XIX e a partir do século XX outras pesquisas de

diversas especialidades têm sido realizadas no meio extraperitoneal (CLARO JÚNIOR et al., 2014). O omento maior tem sido utilizado como produto na estimulação da cicatrização óssea (OLOUMI et al., 2006), já que apresenta uma função imunológica de liberação de células de defesa, além de localizar e restringir infecções, aderindo ao foco da inflamação (PLATELL et al., 2000).

Para utilização do omento em regiões extra peritoneais, há a necessidade de realização da laparotomia, o que pode ser limitante, além de submeter o paciente a outro procedimento cirúrgico (KOS et al., 2006). Puma et al. (2003) preconizaram o uso da laparoscopia para casos em que o paciente esteja debilitado, diminuindo assim o trauma cirúrgico.

Alguns estudos de Nnaji e Nwakuche (2015) mostraram que o uso de retalho omental pode desempenhar um papel importante na cicatrização óssea de cabras anãs da África Ocidental, acelerando a osteogênese. O tecido pode ainda ser utilizado em conjunto com outros materiais como os substitutos do enxerto ósseo sintético, como forma de melhorar a formação de tecido ósseo e o reparo de defeitos ósseos (Sotoudeh et al., 2012).

O omento tem propriedade angiogênica, atividade anti-inflamatória e síntese de colágeno. A angiogênese é mediada pelo fator de crescimento fibroblástico básico (*bFGF*) assim como fator de crescimento transformador beta-1 (TGF- β 1) resultando em produção abundante de colágeno (OLOUMI et al., 2006). Porém, o principal fator angiogênico produzido pelo omento é o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), sendo o tecido com maior concentração e secreção dessa substância em modelos experimentais (STREET et al., 2002; ZHANG et al., 1997).

O enxerto livre de omento maior tem sido utilizado em tratamento de osteoradionecrose mandibular e reconstrução, promovendo cicatrização, angiogênese e analgesia em medicina humana (MORAN; PANJE, 1987); tratamento para osteomielite crônica (AZUMA et al., 1976); recobrimento pós-anastomose intestinal extraperitoneal em ratos (PIERIE et al., 2000); reconstrução pós-lesões de cabeça e pescoço em humanos (PANJE; PITCOCK; VARGISH, 1989).

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados neste estudo estão de acordo com os princípios éticos na experimentação animal conforme regulamentações do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) – Universidade Federal de Uberlândia (UFU) sob o número de protocolo 081/17.

Animais

O experimento foi realizado utilizando seis ovinos, fêmeas, adultas, sem raça definida, com peso médio de $54,4 \pm 8,8$ kg, em condições de higiene física e osteoarticular ao exame clínico, provenientes da Fazenda Experimental Capim Branco – UFU. Durante o estudo, foram mantidos em piquete de 200 m² no Hospital Veterinário - UFU, receberam água tratada *ad libitum*, feno de *coast cross*, silagem de milho e sal mineral. Após duas semanas de adaptação, os animais foram submetidos à avaliação hematológica, coproparasitológica e citológica vaginal prévias ao estudo.

A análise citológica vaginal foi realizada para identificação da fase do ciclo estral com objetivo de padronização dos animais e diminuição de interferência hormonal no processo de reparação óssea, uma vez que o estradiol participa do processo de ossificação. Todas as ovelhas foram avaliadas em um mesmo momento, com contenção manual dos animais para garantir segurança e facilitar a coleta. O material foi coletado por meio de um *swab* estéril introduzido na vagina, realizando movimentos circulares para obtenção de muco e células epiteliais. Em seguida, o conteúdo coletado foi espalhado em lâminas de vidro limpas, formando um esfregaço uniforme. As lâminas foram imediatamente fixadas com álcool absoluto por 10 minutos e, após a secagem, submetidas à coloração pelo método panótico rápido. A análise microscópica foi realizada em microscópio óptico, observando-se a morfologia celular, presença de muco e células inflamatórias. A avaliação citológica revelou predomínio de células epiteliais superficiais anucleadas ou com núcleo picnótico, com ausência de

células inflamatórias, indicando que todas as ovelhas se encontravam na fase de estro.

Os grupos, tratado e controle, foram compostos pelos mesmos animais ($n = 6$), sendo o membro pélvico esquerdo destinado ao Grupo Tratado e o membro pélvico direito ao Grupo Controle.

Procedimentos cirúrgicos

Após 16 horas de jejum alimentar e 12 horas de jejum hídrico, os animais foram submetidos à tricotomia e antissepsia na face medial da tíbia em toda sua extensão e região abdominal ventrolateral direita.

Os animais foram submetidos a protocolo anestésico, realizando-se medicação pré-anestésica com acepromazina 0,1 mg/kg, via intramuscular e, após 10 minutos, a indução com cloridrato de cetamina 2,0 mg/kg e cloridrato xilazina 0,05 mg/kg, ambas por via intravenosa. A manutenção anestésica foi realizada com isoflurano 2% em circuito aberto, após intubação orotraqueal.

Osteotomia unicortical da tíbia

Os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo, para realização das osteotomias dos membros tratado e controle, bem como da laparotomia ventrolateral do flanco direito. Foram utilizadas as faces mediais das tíbias direita e esquerda.

Realizou-se incisão curvilínea de pele e subcutâneo na face medial da metáfise proximal da tíbia de aproximadamente dois centímetros (cm). A incisão foi procedida ventralmente a borda articular proximal da tíbia e caudalmente a tuberosidade da crista tibial, para realização do acesso cortical. Nesta região efetuou-se a osteotomia unicortical utilizando miniperfuratriz com fresa óssea (BRD®) redonda de seis milímetros (mm) de diâmetro, introduzida até alcançar região esponjosa óssea, sob irrigação com solução salina estéril (Figura 1). As regiões osteotomizadas receberam, posteriormente, limpeza com solução salina estéril, para remoção de pequenos fragmentos ósseos, prévia a aplicação do

enxerto no membro pélvico esquerdo e síntese de subcutâneo com o fio poliglactina (Vicryl) 3-0 e da pele com nylon 2-0, no padrão colchoeiro.



Figura 1. Campo cirúrgico expondo a região de face medial da metáfise proximal da tíbia após osteotomia unicortical por escariação com fresa seis mm de diâmetro, obtendo a falha óssea planejada neste experimento.

Laparotomia e enxerto omental

Para obtenção do enxerto de omento maior, foi realizada laparotomia de aproximadamente seis cm na região ventrolateral do flanco direito, 15 cm ventral ao processo transversal das vértebras lombares e quatro cm caudal a 13ª costela. Após o acesso à cavidade, identificação e exteriorização do omento maior, coletou-se um fragmento de 3,0 x 3,0 cm² para o recobrimento da osteotomia no membro pélvico esquerdo, do grupo tratado (Figura 2). O membro pélvico direito foi utilizado como controle não sendo recoberto por enxerto, após a osteotomia.

Após a coleta do fragmento de omento maior, que foi mantido envolto em gaze embebida em solução salina estéril, transportado diretamente até sua aplicação sobre a região osteotomizada do membro pélvico esquerdo, onde o enxerto foi aplicado diretamente sobre a superfície cortical, sem ancoragem em tecidos adjacentes, realizando-se a refiação dos planos nas incisões dos membros, conforme descrito acima.



Figura 2. Campo cirúrgico expondo a região de face medial da metáfise proximal da tíbia esquerda após recobrimento da falha óssea de 6 mm de diâmetro com enxerto omental autólogo livre.

O fechamento da cavidade abdominal iniciou-se pela aposição do peritônio juntamente com o músculo transverso do abdome, utilizando-se fio absorvível poliglactina (Vicryl) 2-0 no padrão de sutura simples contínuo. Em seguida, realizou-se a sutura das camadas musculares: oblíquo interno e oblíquo externo do abdome em um único plano de sutura, utilizando fio absorvível poliglactina (Vicryl) 2-0 no padrão simples contínuo. O plano subcutâneo foi suturado com fio absorvível poliglactina (Vicryl) 3-0 em padrão simples contínuo e a pele foi suturada com fio não absorvível nylon 2-0 em padrão Reverdin.

Os animais receberam acompanhamento pós-operatório durante todo o experimento. Foram submetidos à antibioticoterapia com ceftiofur sódico 2,2 mg/kg, a cada 24 horas, via intravenosa, por 10 dias. A terapia analgésica e antiinflamatória foi realizada com cetoprofeno 3,0 mg/kg, a cada 12 horas, via intravenosa, durante cinco dias. A higienização das feridas cirúrgicas foi executada com solução de iodopolividona 1%, até a retirada dos pontos com 10 dias.

Análise radiográfica

O processo de reparação óssea foi acompanhado através de exame radiográfico dos membros tratado e controle nos dias zero, 15, 30, 45 e 60 pós-operatório, na projeção mediolateral. Utilizou-se a técnica de voltagem de 45,0 (kV), distância de 1,0 m foco filme e 0,12 segundos de exposição, com o aparelho Kodak MXG/Plus ®.

A análise das imagens radiográficas foi realizada com base na observação do preenchimento das áreas radioluscentes indicativas da osteotomia (Figura 3). Com auxílio de software de imagem AUTOCAD®, a partir da borda das áreas osteotomizadas, nas imagens salvas em modelo digital JPG, mensurou-se o diâmetro da área em seu maior eixo, observou-se a radiolusência circular, indicando a região osteotomizada de 6 mm, bem como o aumento da radiopacidade em borda e diminuição ou manutenção de definição do contorno da área osteotomizada.

Após a tabulação dos dados, foi desenvolvida a comparação dos resultados entre os grupos controle e tratado, com relação a mensuração da área radioluscente por dias de avaliação radiográfica.

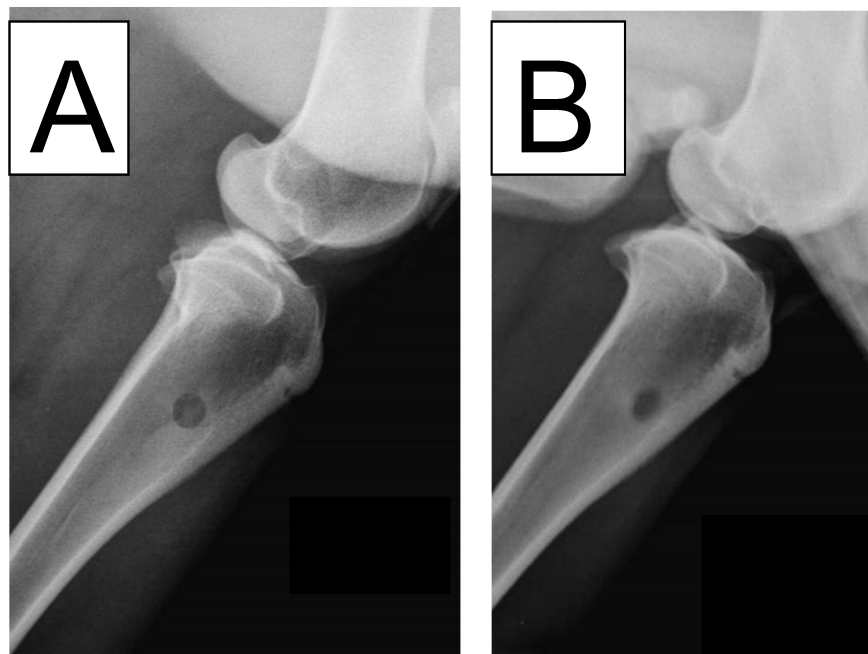


Figura 3. Exame radiográfico da região proximal da tíbia esquerda de ovino, em projeção mediolateral do grupo tratado. **A** - área radioluscente circular, indicando região osteotomizada de 6 mm de diâmetro, com borda óssea bem definida no dia zero; **B** - área radioluscente circular, indicando região osteotomizada de 6 mm, com

radiopacidade em borda e diminuição de definição do contorno, aos 60 dias pós-operatórios.

Biópsia óssea

Para realização das coletas, os animais foram submetidos ao mesmo protocolo anestésico utilizado na elaboração das osteotomias.

As biopsias foram efetuadas através de acesso cirúrgico na face medial do terço diafisário proximal da tíbia, guiados por exame radiográfico prévio, para identificação do sítio das lesões ósseas.

As ostectomias foram promovidas com miniperfuratriz sob irrigação de solução salina estéril, coletando-se um fragmento ósseo de aproximadamente 1,0 x 1,0 cm² e conservados em frascos individuais, contendo formol a 10%, por 24 horas e fixado posteriormente em solução de álcool 70%.

As amostras foram descalcificadas em solução aquosa de ácido nítrico 70%, trocada a cada três horas durante quatro dias. Após a descalcificação as amostras foram enxaguadas em água destilada, desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina, segundo técnicas de rotina.

Foram confeccionadas duas lâminas para cada amostra, totalizando 24 lâminas, com cortes longitudinais de cinco micrômetros de espessura, e 60 micrômetros entre si. Metade das amostras foram coradas por hematoxilina e eosina e a outra parte por tricrômico de Gomori.

Análise histológica

A análise histológica das amostras coletadas através de biópsia óssea aos 60 dias pós-operatório foi conduzida de forma descritiva por intermédio de verificação em microscópio Olympus BX 40^â. Foram coradas, a princípio, em hematoxilina eosina para verificação da presença de tecido ósseo neoformado. Posteriormente, utilizou-se as lâminas coradas com Tricrômio de Gomori, para melhor reconhecimento das estruturas celulares presentes na falha óssea.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo programa GraphPad Prism® versão 5.0. Os dados quantitativos (medidas ósseas) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), após a conferência de sua normalidade. O pós-teste de Tukey foi utilizado para interpretação entre os grupos experimentais, sendo o nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Animais - Avaliação clínica

Não se verificou complicações procedentes da laparotomia nos animais manejados no estudo. Ao longo da totalidade do experimento, os animais foram avaliados manifestando normoquesia, normofagia, normodipsia e comportamento dentro da normalidade.

Nos membros tratados, constatou-se aumento de volume com consistência firme e sensibilidade dolorosa sobre a região de osteotomia, no quinto dia pós-cirúrgico, em contraste com os membros controles que não manifestaram alterações inflamatórias.

Os ovinos não demonstraram claudicação e não se observou nenhuma conversão pós-cirúrgica com a cicatrização tegumentar aos dez dias de pós-operatório, em todos os membros.

Análise radiográfica

Foi possível interpretar e mensurar o preenchimento ósseo das áreas osteotomizadas a partir das imagens radiográficas obtidas nos dias zero, 15, 30, 45 e 60, com auxílio do software de imagens.

A partir da equiparação entre os membros tratado e controle, em mm diâmetro do maior eixo da área osteotomizada por momentos de avaliação

radiográfica, observou-se diferença estatística ($p < 0,0001$) nos membros tratados aos 60 dias, indicando a redução da área de injúria óssea tratada com enxerto omental em relação aos membros controle (Figura 4).

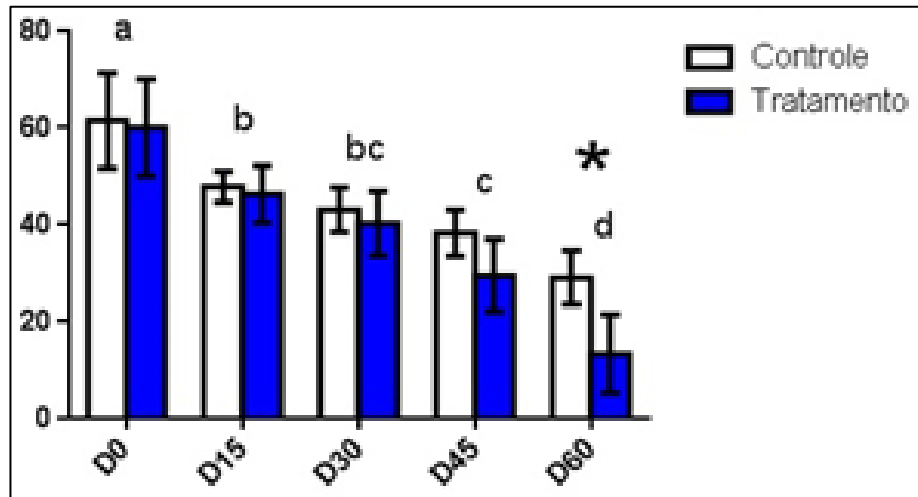


Figura 4. Diferença significativa na mensuração radiográfica das áreas osteotomizadas entre membros tratados e controle, nos distintos tempos pós-operatórios.

Análise histológica

A análise histológica da região submetida a osteotomia do membro controle destacou a presença de tecido conjuntivo compondo toda a lesão em 100% (6/6) das amostras, acompanhado por osso neoformado na zona limítrofe da lesão óssea. As lâminas referentes ao membro controle não evidenciaram preenchimento integro da falha por tecido ósseo recém-formado.

O fragmento biopsiado do membro tratado revelou preenchimento da área osteotomizada por tecido conjuntivo em cerca de 83,33% (5/6) de sua extensão e ausência deste em 16,66% (1/6). Visualizou-se osso neoformado nas periferias em 66,66% (4/6), com preenchimento total da área por osso neoformado em 33,33% (2/6) dos membros deste grupo. Foi possível identificar a presença de tecido adiposo aderido ao periósteo em um membro tratado 16,66% (1/6).

Tendo esta análise como referência foi possível verificar a ocorrência de ossificação intramembranosa nos membros tratado e controle, visualizada através da substituição do tecido conjuntivo por osso neoformado, caracterizado

pela presença de osteócitos, detectados nas lâminas coradas com Tricrômico de Gomori (Figura 5).

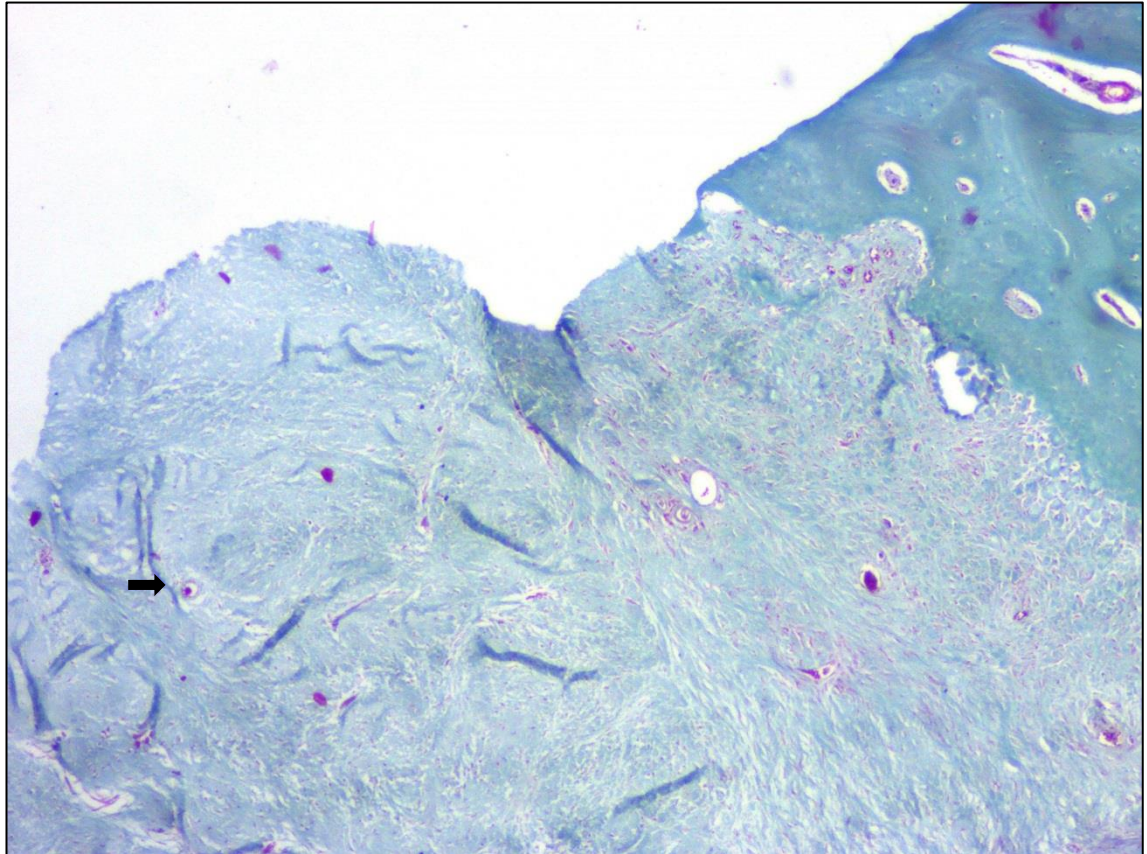


Figura 5. Imagem histológica da biópsia óssea. Área de transição da ossificação intramembranosa e região osteotomizada, corada por Tricrômico de Gomori em aumento 4X. Detectou-se centro de ossificação, reconhecido a partir da presença de osteócitos, demonstrado na imagem por seta.

DISCUSSÃO

No presente estudo de pesquisa, apesar da utilização de injúria óssea de 6mm, superior à de 5mm utilizada por Paretsis et al. (2016), pode-se observar que em dois membros tratados houve a completa ossificação, sendo este, mais um estudo utilizando modelos animais, avaliando tamanho do defeito ósseo e substâncias indutoras com fatores de crescimento (EINHORN, 1999) em ovinos.

O tempo de 60 dias pós-operatórios para confecção da biópsia óssea, neste estudo, foi descrito previamente por Paretsis et al. (2016), sendo satisfatório para se obter imagens com aumento da densidade óssea após realização de osteotomia na tíbia de ovinos, peculiar de cicatrização óssea,

expondo diferença significativa entre os grupos aos 60 dias. Também se observou que em cães, a neoformação óssea já pode ser observada aos 56 dias de acordo com Bigham-Sadegh et al. (2012).

Para Kos et al. (2006), o uso do omento tem desvantagens pelo fato de ser um procedimento cirúrgico que requer laparotomia. Apesar disso, não foram identificadas complicações relacionadas a técnica cirúrgica empregada neste estudo.

Na avaliação clínica, constatou-se aumento de volume local e sensibilidade dolorosa em região cirúrgica nos membros tratados, podendo associar à ativação do omento por contato com o tecido lesionado, levando à expansão da sua área, assim como a produção e liberação dos fatores de crescimento, angiogênese, fatores quimiotáticos e células progenitoras favorecendo a cicatrização do tecido lesionado (BALTZER et al., 2015; LITBARG et al., 2007). Apesar da ocorrência desse processo inflamatório, não houve reconhecimento de necrose constatado a partir da avaliação histológica dos membros tratados com enxerto, mostrando maior correlação com o emprego do enxerto na forma livre sem anastomose (DOURADO, 2005).

Neste estudo, as imagens radiográficas foram realizadas visando a obtenção, mediante acompanhamento periódico, mensurações quinzenais das áreas osteotomizadas, investigando alterações sugestivas de neoformação óssea. Tendo em vista que, a análise radiográfica constitui o método padrão para verificação da densidade óssea (ARHIV, 2010), sendo esta técnica empregada no presente estudo, demonstrando ser eficaz e de simples execução.

Por meio da análise histológica aos 60 dias, apenas uma das amostras apresentou omento afixado ao osso cortical, adjacente a região submetida à osteotomia, de modo distinto ao descrito na literatura. Estudos anteriores relataram que coelhos submetidos a falha óssea e tratados com enxerto de omento em um dos membros revelaram, após 14 dias, formação de novos vasos sanguíneos e calo mole de grande volume, em comparação ao membro não tratado, sendo o omento modificado em tecido denso aderido à cortical óssea (OLOUMI et al., 2006). Além disso, o uso de omento livre autógeno inserido sobre a lesão óssea não resultou em necrose e ainda potencializou a cicatrização óssea, conforme observado em cães (SAIFZADEH et al., 2009).

CONCLUSÃO

Conclui-se, com base neste estudo, que o enxerto de omento autógeno livre aplicado em tecido ósseo, após osteotomia em ovinos, exerceu ação adjuvante na regeneração óssea, estimulando e acelerando o processo fisiológico de reparo. Essa conclusão é sustentada pelas análises radiográficas e histológicas realizadas aos 60 dias pós-operatórios, indicando que se trata de um modelo promissor, passível de investigação em estudos futuros.

REFERÊNCIAS

ARHIV, Veterinarski. Densitometry of calus mineralization in a critical size defect of a rabbit radius. n. April 2016, 2010.

ASTUR, Diego Costa *et al.* Fraturas por estresse: Definição, diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 51, n. 1, p. 3–10, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.rbo.2015.02.002>

AZUMA, H. *et al.* Treatment of chronic osteomyelitis by transplantation of autogenous omentum with microvascular anastomosis. A preliminary report. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 47, n. 3, p. 271–275, 1976. <https://doi.org/10.3109/17453677608991990>

BALTZER, W. I. *et al.* Augmentation of diaphyseal fractures of the radius and ulna in toy breed dogs using a free autogenous omental graft and bone plating. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 28, n. 2, p. 131–139, 2015. <https://doi.org/10.3415/VCOT-14-02-0020>

BIGHAM-SADEGH, Amin *et al.* Effects of Adipose Tissue Stem Cell Concurrent with Greater Omentum on Experimental Long-Bone Healing in Dog. **Connective Tissue Research**, v. 53, n. 4, p. 334–342, 2012. <https://doi.org/10.3109/03008207.2012.660585>

CLARO JÚNIOR, FRANCISCO *et al.* The autologous greater omental flap as a structure for extraperitoneal surgical repair: A comparative, paired, and controlled experimental study of its adaptive properties. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica (RBCP) – Brazilian Journal of Plastic Sugery**, v. 29, n. 1, p. 128–135, 2014. <https://doi.org/10.5935/2177-1235.2014RBCP0021>

DOURADO, DAIANE SENA. **Aplicabilidades cirúrgicas do omento**. Orientador: Prof. Dr. João Moreira da Costa Neto. 2005. Monografia – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.

EINHORN, Thomas A. Clinically applied models of bone regeneration in tissue engineering research. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 367 SUPPL., p. 59–67, 1999. <https://doi.org/10.1097/00003086-199910001-00007>

FINKEMEIER, Christopher G. Bone-grafting and bone-graft substitutes. **The Journal of bone and joint surgery**, v. 84-A, n. 3, p. 454–64, 2002. <https://doi.org/10.2106/00004623-200203000-00020>

FOSTER, Timothy E. *et al.* Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications. **American Journal of Sports Medicine**, 2009. <https://doi.org/10.1177/0363546509349921>

FRANDSON, Rowen D.; WILKE, W. Lee; DEE, Fails; Anna. The skeletal system. *In: Anatomy and Physiology of farm animals*. 7. ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2009, p. 59–71 a.

FRANDSON, Rowen D.; WILKE, W. Lee; DEE, Fails; Anna. Microscopic Anatomy and Growth and Development of Bone. *In: Anatomy and Physiology of farm animals*. 7. ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2009, p. 77–85 b.

FRIEDLAENDER, Gary E. Current Concepts Review Bone Grafts. **The Journal of bone and joint surgery**, v. 69, n. 5, p. 786–790, 1987. <https://doi.org/10.2106/00004623-198769050-00026>

GETTY, Robert. Osteologia. *In: Anatomia dos animais domésticos*. 5. ed. Rio de Janeiro: Gen, 2008, p. 19–23.

HANKENSON, KURT D. *et al.* Angiogenesis in bone regeneration. **Injury**, v. 42, n. 6, p. 556–561, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.03.035>

JUNIOR, William J. Barcha; BARCHA, Linda M. Osso. *In: Atlas colorido de Histologia Veterinária*. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003, p. 31–40.

KONIG, Horst Erich; LIEBICH, Hans Georg. Introdução e Anatomia Geral. *In: Anatomia dos Animais Domésticos*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016, p. 10–17.

KOS, Josip *et al.* Healing of bone defect by application of free transplant of greater omentum. **VETERINARSKI ARHIV**, v. 76, n. 5, p. 367–379, 2006.

LITBARG, Natalia O. *et al.* Activated omentum becomes rich in factors that promote healing and tissue regeneration. **Cell and Tissue Research**, v. 328, n. 3, p. 487–497, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00441-006-0356-4>

MARTINEZ, S. A.; WALKER, T. Bone grafts. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 29, n. 5, p. 1207–1219, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(99\)50110-1](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(99)50110-1)

MORAN, W. J.; PANJE, W. R. The free greater omental flap for treatment of mandibular osteoradionecrosis. **Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery**, v. 113, n. 4, p. 425–427, 1987. <https://doi.org/10.1001/archotol.1987.01860040087025>

NNAJI, T.; NWAKUCHE, E. Evaluation of the effect of free omental transplant on experimentally induced bone defects of west african dwarf. **International Journal of advanced research**, v. 3, n. 9, p. 1062–1068, 2015.

OLOUMI, M. M. *et al.* The angiogenic potential of autogenous free omental graft in experimental tibial defects in rabbit: Short-term preliminary histopathological study. **Journal of Experimental Animal Science**, v. 43, n. 3, p. 179–187, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jeas.2006.02.002>

PANJE, William R.; PITCOCK, James K.; VARGISH, Thomas. Free omental flap reconstruction of complicated head and neck wounds. **Laryngol Head Neck Surgery**, v. 100, p. 588–593, 1989. <https://doi.org/10.1177/019459988910000612>

PARETSIS, N. F. *et al.* Osteotomia de tíbia em modelo experimental ovino para estudo de regeneração óssea. **Ars Veterinária**, v. 32, p. 1–8, 2016. <https://doi.org/10.15361/2175-0106.2016v32n1p01-08>

PIERIE, J. P. E. N. *et al.* Improved Healing of Extraperitoneal Intestinal Anastomoses in the Early Phase when Surrounded by Omentum. **Digestive Surgery**, v. 17, p. 487–492, 2000. <https://doi.org/10.1159/000051945>

PLATELL, Cameron *et al.* The omentum. **World journal of gastroenterology : WJG**, v. 6, n. 2, p. 169–176, 2000.

PUMA, F. ;. *et al.* Laparoscopic omental flap for the treatment of major sternal wound infection after cardiac surgery. **Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 126, n. 6, p. 1998–2002, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(03\)00709-8](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(03)00709-8)

SAIFZADEH, Siamak *et al.* Autogenous greater omentum, as a free nonvascularized graft, enhances bone healing: An experimental nonunion model. **Journal of Investigative Surgery**, v. 22, n. 2, p. 129–137, 2009. <https://doi.org/10.1080/08941930802566730>

SCHMAEDECKE, Alexandre *et al.* Tratamento cirúrgico de união retardada e não-união de fraturas em cães: revisão de literatura. **Revista de Educação Continuada CRMV-SP**, v. 6, n. 1/3, p. 74–82, 2003. <https://doi.org/10.36440/recmvz.v6i1/3.3260>

SILVA, R. F. *et al.* Biology of Bone Tissue : Structure , Function , and Factors That Influence Bone Cells. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 17, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/421746>

SOTOUDEH, Amir *et al.* Combination of poly L-lactic acid nanofiber scaffold with omentum graft for bone healing in experimental defect in tibia of rabbits. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 27, n. 10, p. 694–701, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502012001000005>

STREET, John *et al.* Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. **Proceedings of the National Academy of sciences of the United States of America**, v. 99, n. 15, 2002.
<https://doi.org/10.1073/pnas.152324099>

ZHANG, Qing-Xue *et al.* Vascular Endothelial Growth Factor Is the Major Angiogenic Factor in Omentum: Mechanism of the Omentum-Mediated Angiogenesis. **Journal of Surgical Research**, v. 67, n. 2, p. 147–154, 1997.
<https://doi.org/10.1006/jsre.1996.4983>