



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

INFLUÊNCIA DO TIPO DE FRACTURA NOS NÍVEIS SÉRICOS DE CÁLCIO
IONIZADO EM CANÍDEOS

Gonçalo José Cabral Neto

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor António José de Almeida Ferreira
Doutora Graça Maria Leitão Ferreira Dias
Doutor Luís Miguel Alves Carreira

ORIENTADOR

Doutor Luís Miguel Alves Carreira

2014

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

INFLUÊNCIA DO TIPO DE FRACTURA NOS NÍVEIS SÉRICOS DE CÁLCIO
IONIZADO EM CANÍDEOS

Gonçalo José Cabral Neto

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor António José de Almeida Ferreira

Doutora Graça Maria Leitão Ferreira Dias

Doutor Luís Miguel Alves Carreira

ORIENTADOR

Doutor Luís Miguel Alves Carreira

2014

LISBOA

Agradecimentos

Ao Professor Miguel Carreira por ter aceite orientar-me, pela dedicação e tempo despendidos na transmissão de conhecimentos que me permitiram evoluir técnica e cientificamente, pela forma como encara a medicina veterinária que será sempre uma referência para mim, pelos conselhos, apoio e amizade demonstrados durante todo este percurso.

Aos elementos do CMVAA, em particular à Dra. Alexandra, à Dra. Eva e ao Dr. Pedro, pela forma como me receberam, pela disponibilidade demonstrada na minha aprendizagem, pela ajuda e pelos bons momentos partilhados durante a minha estadia.

A todos os elementos do HE-FMV pela simpatia, disponibilidade e pelos momentos de pausa partilhados no internamento e na farmácia.

Aos meus colegas estagiários com quem partilhei bons momentos de amizade, em particular à Rita e à Ana por todos os momentos que passámos juntos.

À minha mãe pelo apoio prestado, pelos conselhos durante todo o curso e por acreditar que eu era capaz de alcançar este objectivo.

INFLUÊNCIA DO TIPO DE FRACTURA NOS NÍVEIS SÉRICOS DE CÁLCIO IONIZADO EM CANÍDEOS

Resumo

A ortopedia representa, actualmente, cerca de 10% dos casos avaliados em clínica de animais de companhia, sendo os canídeos a espécie mais representativa na ocorrência de processos traumáticos. O esqueleto, composto pelos ossos que são um importante reservatório de minerais em particular de cálcio e de fósforo, é uma estrutura altamente dinâmica cuja actividade resultante da acção de factores intrínsecos e extrínsecos é regulada por vários mecanismos endócrinos ao longo de toda a vida do indivíduo. A grande maioria do ião cálcio (99%) encontra-se no esqueleto sob a forma de cristais de hidroxiapatite estáveis e de compostos lábeis rapidamente mobilizáveis, de modo a garantirem a manutenção dos seus valores séricos. O presente estudo realizado numa população de 20 canídeos (*canis familiaris*) (n=20), avaliados com fracturas simples ou cominutiva do esqueleto apendicular, teve como objectivos determinar: 1) a existência ou não de diferenças nos valores de cálcio sérico ionizado (CSI) entre indivíduos com e sem fracturas; e 2) se o tipo de fractura apresentado influencia ou não os valores de CSI. Os resultados obtidos permitiram concluir que todos os doentes com fractura apresentam hipercalcemia, resultante do processo de reparação óssea; e que, os indivíduos com fractura cominutiva possuem valores de CSI tendencialmente superiores aos indivíduos com fractura simples, devido à maior área dos topos ósseos da fractura, apesar da diferença neste caso não ser estatisticamente significativa. Com base nos resultados, deverão, os clínicos das áreas médica e cirúrgica, considerar que os doentes com fracturas apresentam-se sempre com uma condição de hipercalcemia de base, requerendo cuidados acrescidos na selecção dos fármacos utilizados no seu maneio e que se associam a um aumento dos níveis de CSI, assim como do quadro clínico a este associado.

Palavras-chave: Canídeos; Esqueleto; Fractura Simples; Fractura Cominutiva; Cálcio sérico ionizado.

INFLUENCE OF THE TYPE OF FRACTURE IN SERUM IONIZED CALCIUM IN DOGS

Abstract

The orthopedics currently represents about 10% of the small animal clinical cases, being the dog the most representative species in the occurrence of traumatic processes. The skeleton, composed by bones that are an essential mineral reservoir in particular of calcium and phosphorus, is a highly dynamic structure, whose activity arising from intrinsic and extrinsic factors, is regulated by multiple endocrine mechanisms, throughout life. The majority of calcium ion (99%) is present in the skeleton by the hydroxyapatite stable crystals form and by labile compounds rapidly deployable, to promote the maintenance of its serum levels. This study was conducted in a population of 20 dogs (*Canis familiaris*) (n=20) assessed with simple and comminuted fractures of the appendicular skeleton, and aimed to evaluate: 1) whether there are or not differences in ionized serum calcium (ISC) levels between individuals with or without fractures; and 2) to assess whether the type of fracture may or may not influence the ISC levels. The results showed that all patients with fracture present hypercalcemia resulting from bone healing; and patients with comminuted fractures had higher ISC levels than those with simple fractures, due to the larger area of the bone edges, despite in this case no significant statistical difference was registered. Based on the results, veterinary surgeons should consider that patients with fracture always show a hypercalcemia clinical condition, requiring increased care in the drugs selection to be used in this patient management and their potential to increase the ISC levels, as well as the clinical condition associated.

Key words: Dogs; skeleton; simple fracture; simple; comminuted fracture; ionized serum calcium.

Índice

Agradecimentos.....	i
Resumo	iii
Abstract.....	v
Índice de Figuras	ix
Índice de Quadros	xi
Índice de Abreviaturas e Siglas	xiii
Índice de Símbolos	xv
1 Introdução.....	1
2 Revisão Bibliográfica	3
2.1 Tecido Ósseo	3
2.1.1 Embriologia do Tecido Ósseo	3
2.1.2 Histologia do Tecido Ósseo	11
2.1.3 Fisiologia do Tecido Ósseo.....	16
2.2 Fracturas	23
2.2.1 Abordagem ao Canídeo com Fractura.....	23
2.2.2 Classificação de Fracturas.....	25
2.3 Cálcio no Organismo.....	29
2.3.1 Distribuição de Cálcio no Organismo.....	29
2.3.2 Controlo de Cálcio no Organismo	31
2.3.3 Função do Cálcio no Organismo.....	36
2.3.4 Alterações do Nível de Cálcio Sérico.....	37
3 Material e Métodos	43
3.1 Objectivo	43
3.2 Amostra	43
3.3 Classificação da Fractura.....	44
3.4 Recolha e Doseamento de Cálcio.....	44
3.5 Análise Estatística	45

4	Resultados.....	47
4.1	Caracterização da Amostra	47
4.1.1	Grupo Fractura	47
4.1.2	Grupo Fractura Cominutiva e Grupo Fractura Simples	50
4.2	Inferência Estatística	53
4.2.1	Grupo Fractura	53
4.2.2	Grupo Fractura Cominutiva e Grupo Fractura Simples	54
5	Discussão	55
6	Conclusão.....	61
	Bibliografia	63
	Anexo.....	69
	Relatório da casuística acompanhada durante o estágio curricular.....	69

Índice de Figuras

Figura 2.1 - Esquema do Esqueleto de Canídeo.(Adaptado de Budras, 2007)	11
Figura 2.2 - Representação da Reparação do Tecido Ósseo pelo Processo Indirecto: (A) Edema, (B) Tecido Ósseo Imaturo, (C) Tecido Ósseo Secundário, (D) Remodelação (Adaptado de Cummings, 2001).....	16
Figura 2.3 - Esquema Ósseo do Membro Tóracico (A) e Pélvico (B). (Adaptado de budras, 2007).....	22
Figura 2.4 - Imagem Radiográfica de Resolução de Fractura de Fémur.	25
Figura 2.5 - Representação da Classificação de Fracturas Diafisárias.(A) Incompleta, (B) Transversa, (C) Obliqua, (D) Espiral, (E) Cunha Redutível, (F) Cunha não Redutível, (G) Múltipla. (Adaptado de Piermattei, 2006)	28
Figura 2.6 - Representação da Classificação de Salter-Harris (Adaptado de Fossum, 2007)	29
Figura 2.7 - Transporte transcelular de cálcio. (Adaptado de Hoenderop, 2005).....	31
Figura 3.1 - Material para Recolha de Sangue em Anaerobiose.....	44
Figura 4.1 - <i>Boxplot</i> dos valores da variável $[iCa^{2+}]$ no grupo fractura.	47
Figura 4.2 - <i>Boxplots</i> dos valores dos restantes parâmetros no grupo fractura	49
Figura 4.3 - <i>Boxplot</i> dos valores da variável $[iCa^{2+}]$ nos grupos FC e FS.	50
Figura 4.4 - <i>Boxplots</i> dos valores dos restantes parâmetros nos grupos FC e FS	52

Índice de Quadros

Quadro 2.1 - Factores Hormonais e sua acção na remodelação óssea	21
Quadro 2.2 - Factores de Crescimento e Citoquinas e sua acção na remodelação óssea....	21
Quadro 2.3 - Idade para Encerramento da Placa Epifisária	23
Quadro 2.4 - Sistema Alfanumérico de Classificação de Fracturas.	26
Quadro 2.5 - Sinais Clínicos Associados à Hipercalcemia e à Hipocalcemia em Canídeos ..	41
Quadro 3.1 - Parâmetros Avaliados pelo CG8+	45
Quadro 4.1 - Características Amostrais da Variável $[iCa^{2+}]$ no grupo Fractura	47
Quadro 4.2 - Características Amostrais dos Restantes Parâmetros Obtidos pelo CG8+ no grupo Fractura.	48
Quadro 4.3 - Correlação entre $[iCa^{2+}]$ e os restantes parâmetros Obtidos pelo CG8+.	48
Quadro 4.4 - Características Amostrais da Variável $[iCa^{2+}]$ para os grupos FC e FS.	50
Quadro 4.5 - Características Amostrais dos Restantes Parâmetros Fornecidos pelo CG8+ no grupo FC.....	51
Quadro 4.6 - Características Amostrais dos Restantes Parâmetros Fornecidos pelo CG8+ no grupo FS.....	51
Quadro 4.7 - Estimativas dos intervalos de confiança a 95% para os parâmetros fornecidos pelo CG8+.	53
Quadro 4.8 - Estimativa dos intervalos de confiança a 95% para os restantes parâmetros fornecidos pelo CG8+.	54

Índice de Abreviaturas e Siglas

BMP	Proteína morfogénica óssea
BE _{EFC}	Excesso de base no fluido extracelular
CEA	Crista ectodérmica apical
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EGF	Factor de crescimento epidérmico
FGF	Factor de crescimento de fibroblastos
GM-CSF	Factor estimulador da colónia de macrófagos/granulócitos
Hb	Hemoglobina
Htc	Hematócrito
IFN	interferão
IGF	Factor de crescimento semelhante à insulina
IL	Interleucina
IP ₃	Inositol trifosfato
IP ₄	Inositol tetrafosfato
M-CSF	Factor estimulador da colónia de macrófagos
N-CAM	Molécula de adesão celular neuronal
OPG	Osteoprotegerina
PDGF	Factor de crescimento derivado das plaquetas
PGE	Prostaglandina E
PGH	Prostaglandina H
P _{CO2}	Pressão parcial de dióxido de carbono
P _{O2}	Pressão parcial de oxigénio
PTH	Paratormona
PTrH	Proteína relacionada à paratormona
Shh	<i>Sonic hedgehog</i>
S _{O2}	Hemoglobina saturada com oxigénio
T _{CO2}	Dióxido de carbono total

TGF	Factor de crescimento de transformação
TNF	Factor de necrose tumoral
ZPA	Zona de actividade de polarização

Índice de Símbolos

%	Porcentagem
$[iCa^{2+}]$	Concentração de cálcio ionizado
1,25(OH) ₂ D	Calcitriol
C	Carbono
$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	Hidroxiapatite
Ca^{2+}	Ião cálcio
g/dl	Gramas por decilitro
g/L	Gramas por litro
H ⁺	Ião hidrogénio
HCO ₃ ⁻	Ião bicarbonato
iCa ²⁺	Cálcio ionizado
M	Molar
mg/dl	Miligramas por decilitro
Mg ²⁺	Ião magnésio
mmHg	Milímetros de mercúrio
mmol/L	Milimoles por litro
NaCl	Cloreto de sódio
NH ₂	Grupo amina (amidogénio)
nm	Nanómetros

1 Introdução

O estudo do sistema músculo-esquelético (ossos, músculos e tendões) é assegurado pela especialidade ou área de acção da ortopedia e da traumatologia, a qual assume uma grande expressividade na clinica médica e cirúrgica de animais de companhia, representando cerca de 10% do total dos casos avaliados, sendo os canídeos a espécie mais representativa e as fracturas a entidade clinica mais trabalhada. Até 1940 quase todas as fracturas eram corrigidas, alinhadas ou reduzidas através de métodos fechados utilizando aparelhos estabilizadores externos como as talas e pensos. Os avanços na cirurgia e em todas as áreas associadas como a anestesiologia, a esterilização e a instrumentação, permitiram o aparecimento de um conjunto de técnicas com o objectivo de estabelecer a fixação interna dos fragmentos ósseos melhorando, em muito, os resultados obtidos e a qualidade dos doentes de ortopedia e traumatologia. O esqueleto é constituído por um número variável (de acordo com as espécies) de ossos de diferentes formas e tamanhos que funcionam como base da biomecânica permitindo o desenvolvimento do movimento através de fenómenos físicos, representados por alavancas, onde participam os músculos e os tendões. O osso é uma estrutura altamente dinâmica com processos de remodelação ao longo de toda a vida do indivíduo, adequando-se a um conjunto variado de factores intrínsecos e extrínsecos. Os ossos proporcionam protecção a alguns órgãos, contêm a medula óssea (relacionada com a hematopoiese), e são, também, uma importante fonte de minerais, em particular de cálcio e fósforo, sujeitos a uma dinâmica endócrina. A maioria do cálcio do organismo (99%) encontra-se no esqueleto sob a forma de cristais estáveis de hidroxapatite e apenas 1% está presente no líquido extracelular sob a forma de cálcio ionizado, que representa a forma biologicamente activa e a mais importante para o controlo das concentrações séricas deste ião. A sua importância expressa-se num elevado número de reacções intracelulares, incluindo a contracção muscular, a actividade celular nervosa, a libertação e activação de hormonas entre outras. O presente estudo desenvolvido numa amostra de 20 *canis familiaris* (n=20) teve como objectivos: 1) determinar se existem ou não diferenças nos valores de cálcio ionizado em indivíduos com fracturas relativamente aos indivíduos sem patologia de base; e 2) avaliar se o tipo de fractura presente no doente influencia ou não os valores de cálcio ionizado.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Tecido Ósseo

2.1.1 Embriologia do Tecido Ósseo

O tecido ósseo está presente na maioria das regiões do corpo sendo os seus elementos bastante diversos em morfologia e estrutura tecidual. Apesar desta variedade existem semelhanças embriológicas no desenvolvimento do esqueleto: o tecido ósseo origina-se a partir de células com morfologia mesenquimal, que se tornam polimórficas diferenciando-se posteriormente em fibroblastos, condroblastos ou osteoblastos, (Sadler, 2004). O esqueleto é gerado a partir de três camadas do embrião, 1) o MESODERMA PARAXIAL (forma uma série segmentada de camadas tecidulares localizadas de cada um dos lados do tubo neural, originando os somitômeros na região da cabeça e os somitos na região pós-occipital os quais se diferenciam numa região ventro-medial designada de esclerótomo, que por seu lado vai originar o segmento axial do organismo (coluna vertebral, costelas e esterno), e numa região dorso-lateral denominada de dermomiótomo); 2) o MESODERMA LATERAL ou placa lateral (através das células mesodérmicas vai dar origem às cinturas pélvica e escapular e ainda aos ossos longos dos membros) e 3) a CRISTA NEURAL (que vai estar na origem dos arcos branquiais, dos ossos do complexo craniofacial e das cartilagens através da diferenciação em mesênquima das suas células) (Sadler, 2004).

O tecido ósseo primário vai sofrer maturação e transformações de modo a se tornar progressivamente num tecido secundário ou lamelar sendo, por esta razão, fácil de identificar áreas contíguas de tecido primário, de zonas de reabsorção óssea e de tecido secundário, as quais traduzem a elevada dinâmica que o osso tem em termos de metabolismo, expressando os fenómenos de depósito, formação, remodelação e reabsorção óssea que são mais exuberantes na idade jovem, mas que em boa razão se perpetuam ao longo da vida do indivíduo, alterando apenas o ritmo através do qual ocorrem (Junqueira & Carneiro, 2008).

2.1.1.1 Formas de Ossificação

No que respeita ao fenómeno de ossificação, existem dois tipos de processos, sendo eles: 1) a ossificação intramembranosa e 2) a ossificação endocondral (Sinowatz, 2010).

A OSSIFICAÇÃO INTRAMEMBRANOSA consiste na diferenciação do mesênquima dérmico directamente em osso (Sadler, 2004). No crânio, as células mesenquimatosas derivadas da crista neural proliferam e condensam-se originando agregados compactos. Esta fase de condensação é regulada por diferentes elementos dos quais se destacam a N-caderina e a N-CAM, cujas funções são predominantemente mediar a adesão das células progenitoras de osso e promoverem o início da condensação pré-esquelética. Algumas células do mesênquima alteram a sua forma para se tornarem osteoblastos, os quais vão sintetizar uma matriz extracelular osteoide, formada na sua maioria por colagénio e proteoglicanos, que apresentam a capacidade em captar o cálcio. Este tipo de ossificação utiliza as chamadas proteínas morfogénicas ósseas, das quais se destacam a BMP-2, BMP-4 e BMP-7, que instruem as células mesenquimatosas, derivadas da crista neural, a transformarem-se em osteoblastos e a expressarem o factor de transcrição CBFA1 (também denominado de Runx2), o qual vai activar os genes para a osteocalcina, osteopoiatina e outras proteínas específicas da matriz extracelular óssea. Uma vez totalmente rodeados pela matriz osteoide, os osteoblastos passam a denominar-se osteócitos. À medida que a calcificação vai avançando, é interessante verificar que algumas pequenas espículas ósseas se destacam da região original de ossificação fundindo-se com outras espículas de regiões contíguas. Algumas camadas compactas de células mesenquimatosas que formam o perióstio acabam por rodear totalmente a região onde a ossificação intramembranosa está a ocorrer. As células da camada interna do perióstio apresentam a capacidade de se transformarem em osteoblastos os quais vão depositando matriz osteoide paralelamente às espículas já existentes (Sinowatz, 2010).

No que respeita à OSSIFICAÇÃO ENDOCONDRA, as células mesenquimais originam inicialmente moldes de cartilagem hialina os quais são posteriormente substituídos por tecido ósseo (Sadler, 2004). Trata-se do tipo predominantemente presente ao nível da coluna vertebral, costelas, pélvis e membros (Sinowatz, 2010), e que se desenvolve em duas etapas: 1º), a cartilagem hialina altera-se com hipertrofia dos condrócitos, redução da matriz cartilaginosa para formas de finos tabiques, mineralização e morte dos condrócitos por apoptose; e 2º) as cavidades previamente ocupadas pelos condrócitos são invadidas por capilares sanguíneos e por células osteogénicas, provenientes do tecido conjuntivo adjacente, diferenciando-se em osteoblastos os quais irão depositar matriz osteoide sobre

os tabiques de cartilagem calcificada que servem de apoio à ossificação. Por seu lado, a calcificação da matriz óssea é o resultado da deposição de sais de cálcio sobre as fibrilhas de colagénio, mediada por proteínas da matriz extracelular, como os proteoglicanos e as glicoproteínas, e influenciada pela concentração de cálcio presente em vesículas localizadas no citoplasma dos osteoblastos os quais, ao ficarem aprisionados, passam a sintetizar fosfatase alcalina transformando-se em osteócitos (Junqueira & Carneiro, 2008).

2.1.1.2 Desenvolvimento Embrionário do Esqueleto

De uma forma simplista pode dizer-se que arquitetonicamente o esqueleto é constituído por uma parte axial, que considera o crânio, as vertebbras e as costelas e que tem por função a protecção dos tecidos moles como o cérebro e a medula; e por uma parte apendicular formada pelos membros torácicos e pélvicos que se reúnem ao nível das cinturas (escapular e pélvica) conferindo suporte aos mesmos (Sinowatz, 2010).

O crânio pode ser dividido em duas partes: 1) o neurocrânio (que forma um involucro protector em redor do cérebro) e 2) o viscerocrânio (que forma o esqueleto facial da cavidade oral, faringe e vias respiratórias superiores) (Sadler, 2004). No que respeita à embriologia óssea do crânio, consideram-se três grupos, nomeadamente: um grupo que deriva dos arcos branquiais e das proeminências frontonasais derivadas do ectomesênquima da crista neural e que forma a maioria dos ossos da face; um segundo grupo que compreende os ossos planos da calote craniana; e um terceiro grupo que tem origem nas células do mesênquima occipital e que forma a base e as paredes ventrais do crânio. A regulação do arranjo ósseo do complexo craniofacial é determinada por factores de crescimento parácrinos e por factores de crescimento de fibroblastos (*Fibroblast Growth Factors* - FGFs) da endoderme faríngea (que atraem células da crista neural para os arcos faríngeos) e que, juntamente com as proteínas morfogénicas ósseas (BMPs) e *Sonic Hedgehog* (Shh), são responsáveis pelo padrão arquitectónico dos elementos nos arcos e ainda pela sua proliferação (Sinowatz, 2010).

No que respeita ao neurocrânio, ele pode ser dividido em 2 partes: 1) o condrocrânio (a parte cartilaginosa) e 2) o desmocrânio (a parte membranosa). O condrocrânio forma os ossos da base do crânio consistindo inicialmente em dois tipos de cartilagens separadas, as CORDAIS e as PARACORDAIS que acabam por se fundir e ossificarem através do fenómeno de ossificação endocondral (Sadler, 2004). As cordais podem derivar de células da crista neural e que se situam em frente ao limite rostral do notocórdio originando o

CONDROCRÂNIO PRÉ-CORDAL que ao se fundirem formam o corpo do esfenóide e do etmóide; e as do mesoderma paraxial que se situam posteriormente ao limite rostral do notocórdio originando o CONDROCRÂNIO CORDAL. As paracordais, são as que derivam dos esclerótomos occipitais e do mesênquima da zona rostral do notocórdio, formando a placa cartilaginosa da base do osso occipital. (Sinowatz, 2010). O desmocrânio é formado pelos ossos parietais, frontais e interparietais que derivam das células da crista neural e do mesoderma paraxial desenvolvendo-se por centros de ossificação intramembranosa que aparecem na pele do embrião e que revestem o encéfalo ocorrendo como planos com espículas do mesênquima, as quais foram induzidas por partes específicas do cérebro em desenvolvimento, e que irradiam progressivamente do centro de ossificação primário para a periferia. Com o crescimento os ossos membranosos aumentam por aposição de novas camadas de osso à superfície e de uma simultânea reabsorção osteoclástica da parte interna, permanecendo separados durante todo o desenvolvimento fetal e até ao nascimento, mantendo-se separados por faixas de tecido conjuntivo denominadas de suturas, as quais derivam de células da crista neural (sutura sagital) e do mesoderma paraxial (sutura coronal). O tempo de encerramento das várias suturas influencia a forma do complexo craniofacial (Sinowatz, 2010). Quanto ao viscerocrânio, ele é formado a partir dos dois primeiros arcos faríngeos. O primeiro arco faríngeo, possivelmente devido à acção do factor de crescimento de fibroblastos 8 (FGF-8) vai originar uma região dorsal que é o processo maxilar, o qual se estende rostralmente sob a região do olho dando origem ao maxilar, osso zigomático e parte do osso temporal (Sinowatz, 2010). A parte ventral, que vai originar o processo mandibular, contém a chamada cartilagem de Meckel, de onde se desenvolve a mandíbula. A extremidade dorsal do processo mandibular juntamente com a extremidade do segundo arco faríngeo (cartilagem de Reichert) dá origem à bigorna, ao martelo e ao estribo sendo estes os primeiros ossículos a tornarem-se totalmente ossificados. O mesênquima para a formação dos ossos da face deriva das células da crista neural (Sadler, 2004).

As vertebrae e as costelas são derivadas das células dos esclerótomos que constituem os mais de 40 somitos que, sob a acção da secreção de epimorfina assegurada pelas células do mesênquima que rodeiam o notocórdio, são atraídas para mudarem de posição e rodearem a medula espinhal e o notocórdio. Os primeiros 4 somitos denominam-se occipitais que, juntamente com o mesênquima do crânio formam a cartilagem do osso occipital, assumindo os restantes um papel na formação das vertebrae e das costelas. O desenvolvimento dos esclerótomos dá-se no sentido crânio-caudal tal como a ossificação das vertebrae, iniciando-se o processo por volta da sexta semana de gestação e com um centro de ossificação inicialmente localizado a meio de cada vertebra, e posteriormente ao

nível do arco neural, não se fundindo antes do nascimento. Por seu lado, os centros de ossificação secundária ocorrem no período pós-natal na periferia do corpo vertebral para formarem as epífises e a parte distal dos processos transversos (Sinowatz, 2010). Essa coluna mesenquimal conserva características da sua origem segmentar através das áreas menos densas que contêm as artérias segmentares e que separam os blocos dos esclerótomos. As células dos esclerótomos começam a condensar-se e a diferenciar-se em cartilagem e, ainda antes de formarem as vertebrae, sofrem uma divisão em duas populações as quais preenchem os segmentos cranial e caudal de cada futura vertebra, sendo a padronização das suas diferentes formas regulada por genes, denominados homeobox (HOX), com 4 agrupamentos diferentes (HOXa, HOXb, HOXc e HOXd), localizados na cadeia de DNA de cromossomas específicos e cuja leitura permite diferenciar a zona anterior, na extremidade 3', da zona posterior, na extremidade 5' (Sadler, 2004). Devido à sua elevada taxa de crescimento as células da região caudal de cada segmento do esclerótomo proliferam extensamente até ao tecido intersegmentar subjacente, tornando-o contíguo com as células da região cranial do esclerótomo seguinte. A parede caudal densa de um esclerótomo junta-se à parede cranial menos densa do esclerótomo seguinte, formando o corpo da vertebra que se torna intersegmentar devido à incorporação de tecido intersegmentar ao corpo vertebral pré-cartilaginoso (Sadler, 2004). Este processo de formação definitiva das vertebrae denomina-se de re-segmentação, e explica como os gânglios espinhais e o percurso dos nervos espinhais são posicionados próximos dos discos intervertebrais, assim como o modo de como saem da coluna vertebral pelos forâmens intervertebrais. Por este processo cada miótomo atravessa de uma vertebra para a adjacente e estabelece uma ligação com os discos intervertebrais conferindo-lhe a capacidade de mover a coluna (Sinowatz, 2010).

Os membros e as cinturas escapular e pélvica constituem o esqueleto apendicular e possuem diferenças marcadas na organização e desenvolvimento quando comparadas com o esqueleto axial. O controlo morfogénico destas estruturas é da responsabilidade da mesoderme, onde o epitélio desempenha um papel estimulador. Todos os componentes do esqueleto apendicular começam como moldes cartilagosos que se convertem em verdadeiro tecido ósseo através de uma ossificação endocondral durante a embriogénese (Sinowatz, 2010).

Os membros anteriores e posteriores desenvolvem-se em posições definidas na região cervico-torácica e lombo-sagrada respectivamente não existindo diferenças no desenvolvimento entre eles com excepção do atraso de um a dois dias na morfogénese dos posteriores comparativamente aos anteriores (Sinowatz, 2010). O desenvolvimento dos brotos na parede corporal ventrolateral começa no decorrer a partir da quarta semana de

gestação em canídeos, através da activação de um grupo de células do mesênquima da mesoderme somática lateral, que irão formar os ossos e os tecidos conjuntivos dos membros, coberta por uma camada de tecido ectodérmico cuboide o qual ao nível da margem distal do membro se expressa origina a crista ectodérmica apical (CEA). A CEA vai exercer uma influência indutiva sobre o mesênquima adjacente permanecendo este através da expressão dos factores de crescimento de fibroblastos 4 e 8 (FGF-4 e FGF-8), como uma população de células indiferenciadas e de rápida proliferação denominada de zona de desenvolvimento. As células que deixam a zona de desenvolvimento cessam a expressão do gene codificador para a proteína da família homeobox *Msx* (*Msx-1*), mediador da morfogénese, e assumem o seu destino morfogénico final que pode ser de dois tipos: 1) as precoces formam os ossos proximais (úmero e fémur) e 2) as tardias que formam os ossos mais distais (rádio, ulna, tíbia, fíbula, dígitos) (Sinowatz, 2010). Devido ao crescimento do membro, as células com uma localização mais distante da influência da CEA, começam a diferenciar-se em cartilagem e em músculo estriado, conferindo ao desenvolvimento uma direcção próximo-distal (Sadler, 2004). A estrutura axial emite sinais que levam à expressão do factor de crescimento de fibroblastos 10 (FGF-10) e ao ácido retinóico na mesoderme lateral dos pré-membros, expressando os factores T-box, *Tbx-4* e *Tbx-5*, que especificam se os membros em desenvolvimento são anteriores (*Tbx-5*) ou posteriores (*Tbx-4* e *PITX1*). São ainda responsáveis pela secreção do gene *HOXb-8*, o qual é necessário para estabelecer um aglomerado de células na extremidade posterior do membro denominada zona de actividade de polarização (ZPA), próximo ao flanco (Sinowatz, 2010). Esta zona (já estabelecida quando os brotos começam a crescer excentricamente da parede corporal) estimula através da secreção do ácido retinóico, a expressão da proteína *Sonic hedgehog* (*Shh*) cuja função é manter a estrutura e o funcionamento da CEA já que em caso de ausência da ZPA ou da *Shh* acaba por regredir (Sinowatz, 2010).

A expressão dos genes *HOX* que regulam o tipo, a forma e a posição dos ossos dos membros, é controlada pela expressão combinada em fases pelos factores: *Shh*, FGFs e *WNT7a*, uma proteína codificada pela família de genes *Wnt*; em locais que correspondem à região proximal, média e distal do membro. Os genes dos grupos *HOXa* e *HOXd* são os determinantes principais para a diferenciação entre o membro anterior e posterior (Sinowatz, 2010).

Os brotos dos membros desenvolvem-se segundo 3 eixos de simetria: 1) próximo-distal, 2) crânio-caudal e 3) dorso-ventral; que interagem entre si para posicionar e definir a expressão dos domínios dos sinais (Sinowatz, 2010). O crescimento dos membros ao longo do EIXO PRÓXIMO-DISTAL é o que ocorre em primeiro lugar, e é desencadeado pelo factor FGF-10 sintetizado pelas células do mesoderma da placa lateral e controlado pela crista

ectodérmica apical, induzida pela expressão de proteínas morfogénicas ósseas sinalizadas pelo gene homeobox *Msx-2*, que através da expressão de *FGF-4* e *FGF-8* mantêm a zona de desenvolvimento, permitindo o crescimento distal do membro (Sadler, 2004). Quanto à padronização do EIXO CRÂNIO-CAUDAL ela é regulada pela zona de actividade de polarização (ZPA) a qual produz ácido retinóico, que inicia a expressão na parte posterior do mesênquima do membro dos factores *Shh*, e membros da família de factores de transcrição *Gli* cujo *Gli-1*, expresso adjacente ao *Shh*, medeia o seu sinal e o *Gli-3*, expresso na zona cranial do membro, reprime-o (Sinowatz, 2010). O EIXO DORSO-VENTRAL é regulado pelas proteínas morfogénicas ósseas no ectoderma ventral que induzem a expressão do factor de transcrição *Engrailed-1* (*EN1*) que, por sua vez, reprime a expressão de *WNT7a* restringindo-o ao ectoderma dorsal do membro; o *WNT 7a* induz a expressão de um factor de transcrição, denominado *LMX1*, que contém um homeodomínio no mesênquima dorsal e que especifica que as células sejam dorsais, estabelecendo os componentes dorso-ventrais do membro (Sadler, 2004).

Com o alongamento dos brotos a parte distal torna-se achatada para formar as palmas e as plantas das mãos e dos pés respectivamente, e a parte proximal adquire uma forma cilíndrica. Posteriormente uma constrição divide a parte proximal em 2 segmentos: nos membros anteriores estes segmentos representam os primórdios do braço e do antebraço, e nos membros posteriores representam os primórdios da coxa e da perna. Os membros anteriores sofrem uma rotação lateral de 90° de modo a que os músculos extensores se situem na superfície lateral e posterior; enquanto que os membros posteriores descrevem uma rotação medial de 90° colocando os músculos extensores na superfície anterior (Sinowatz, 2010). Enquanto está a ser definida a posição dos segmentos, o mesênquima dos brotos começa a condensar-se e as suas células a diferenciarem-se em condrócitos, os quais, por volta da sexta semana de desenvolvimento, dão origem aos primeiros moldes de cartilagem hialina que irão estruturar os ossos dos membros (Sadler, 2004).

As articulações formam-se em condensações cartilaginosas quando a condrogénese cessa e é induzida uma inter-zona articular, onde as células aumentam em número e densidade e que depois, ao sofrerem apoptose, permitem o aparecimento de uma cavidade articular. As células mesenquimatosas que circundam esta zona diferenciam-se numa cápsula articular. Apesar de não estar ainda totalmente esclarecido, pensa-se que o mecanismo de determinação da posição da articulação tem como sinal indutor, a molécula *WNT 14* (Sinowatz, 2010).

Por sua vez os dígitos são formados devido à morte celular por apoptose das células presentes na crista ectodérmica apical, as quais sofrem influência das proteínas

morfogénicas ósseas BMP-2, BMP-4 e BMP-7, dos factores de transcrição Msx-1 e Msx-2 e ainda dos factores de crescimento dos fibroblastos secretados por esta região. À medida que a crista ectodérmica apical regride deixa intactos 5 segmentos de raios cartilaginosos cobertos com epitélio que darão origem aos dígitos, os quais se tornam evidentes como um agregado de células mesenquimatosas condensadas que começam a produzir uma matriz pré-cartilaginosa. Nos carnívoros os dígitos II, III, IV e V estão desenvolvidos enquanto o dedo I está em involução (Sinowatz, 2010).

A ossificação dos ossos das extremidades é do tipo endocondral, começando no final do período embrionário. O molde cartilaginoso possui uma parte média estreita (a diáfise) e duas extremidades dilatadas (as epífises) (Junqueira & Carneiro, 2008). O primeiro tecido ósseo a aparecer nos ossos longos é formado por ossificação intramembranosa do pericôndrio, o qual vai revestir a parte média da diáfise e formar um cilindro, denominado de colar ósseo. Enquanto este se forma, a matriz da cartilagem mineraliza-se devido à apoptose das células cartilaginosas. Vasos sanguíneos, provenientes do periósteo, atravessam o cilindro ósseo e penetram na cartilagem calcificada permitindo a chegada de células osteoprogenitoras que proliferam e se diferenciam em osteoblastos, os quais formam camadas contínuas nas superfícies dos tabiques cartilaginosos calcificados e iniciam a síntese de matriz óssea que se mineraliza (Junqueira & Carneiro, 2008). Este centro de ossificação, denominado de centro primário, está presente em todos os ossos longos dos membros e é a partir dele que a ossificação endocondral avança em direcção às extremidades do molde cartilaginoso. Os osteoclastos, responsáveis pela absorção do tecido ósseo formado no centro da cartilagem, surgem desde o início da formação do centro primário permitindo o aparecimento do canal medular, o qual cresce longitudinalmente à medida que a ossificação progride e aloja células hematogénicas pluripotenciais que originam a medula óssea (Junqueira & Carneiro, 2008).

Ao nascimento a diáfise óssea já se encontra totalmente ossificada mas as duas extremidades ainda são cartilaginosas, possuindo centros de ossificação secundários que têm um crescimento radial. Uma placa cartilaginosa, denominada de placa epifisária, permanece temporariamente entre os centros de ossificação da diáfise e da epífise, apresentando um importante papel no crescimento em comprimento dos ossos (Sadler, 2004). Ela possui 5 zonas que no sentido da diáfise são: a zona de repouso; a zona de cartilagem de proliferação; a zona de cartilagem hipertrófica; a zona de cartilagem calcificada e a zona de ossificação (Junqueira & Carneiro, 2008). Quando o osso atinge o seu comprimento total, as placas epifisárias desaparecem por encerramento devido à ossificação endocondral sofrida de ambos os lados da mesma, permitindo que a epífise se una à diáfise. Nos ossos longos encontra-se uma placa epifisária em cada extremidade; nos

ossos curtos como as falanges a placa epifisária encontra-se apenas numa extremidade. Em ossos irregulares como as vertebrae por exemplo, está presente um ou mais centros de ossificação primários e em geral, diversos centros de ossificação secundários (Sadler, 2004).

Figura 2.1 - Esquema do Esqueleto de Canídeo. (Adaptado de Budras, 2007)



2.1.2 Histologia do Tecido Ósseo

Os osteócitos, os osteoblastos e os osteoclastos assim como a matriz osteoide constituem a histologia do tecido ósseo, o qual é revestido por membranas conjuntivas nas superfícies interna (endóstio) e externa (perióstio) que possuem células osteogénicas. Apresenta uma vasta rede de vasos sanguíneos e de nervos, de modo a poder responder, com remodelações, às constantes exigências corporais (Aughey & Frye, 2001).

2.1.2.1 Constituintes do Tecido Ósseo

A matriz óssea é constituída 60% por uma parte inorgânica, 20% por uma parte orgânica e 10% por água. A parte orgânica é constituída por fibras de colagénio (maioritariamente de tipo I) e, em menor quantidade, por proteoglicanos e glicoproteínas, apresentando as últimas alguma participação na mineralização da matriz osteoide através da acção de moléculas como a osteocalcina, as proteínas Gla da matriz, as sialoproteínas ósseas, as

fosfoproteínas, as proteínas morfogénicas ósseas e ainda pelos lípidos (Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993). Por seu lado, a parte inorgânica da matriz é formada, na sua maioria, por cálcio e fosfato, e, em menores quantidades, por bicarbonato, magnésio, potássio, sódio e citrato. O cálcio e o fósforo formam cristais com uma estrutura de hidroxiapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) com vários níveis e diferentes eixos de rotação entre si, sendo que os iões da superfície do cristal são hidratados facilitando a assim a troca de iões entre o cristal e o líquido intersticial. A associação dos cristais de hidroxiapatite com as fibras de colagénio é responsável pela dureza e resistência apresentada pelo tecido ósseo (Junqueira & Carneiro, 2008).

Os osteócitos têm como localização o interior das lacunas situadas entre as lamelas no interior da matriz óssea, das quais partem os canalículos que possibilitam as trocas com os capilares sanguíneos, assegurando assim a sua nutrição uma vez que não existe difusão de substâncias através da matriz calcificada do osso. A comunicação entre si faz-se através de junções denominadas comunicantes (*Gap-junction*) e firmes (*tight-junctions*) por onde podem passar pequenas moléculas e iões. A sua morte é seguida por reabsorção da matriz (Junqueira & Carneiro, 2008).

Quanto aos osteoblastos, eles são responsáveis pela síntese da parte orgânica da matriz óssea e são capazes de concentrar fosfato de cálcio para que o processo de mineralização da matriz ocorra. Contêm uma elevada concentração da enzima fosfatase alcalina, capaz de catalisar a hidrólise de componentes orgânicos fosforilados (Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993). A sua localização é sempre na periferia das superfícies ósseas, em paralelo e uma vez aprisionados pela matriz (que se vai depositando em redor do corpo da célula e dos seus prolongamentos), adquirem o nome de osteócitos formando-se de seguida as lacunas e os canalículos. A matriz recém-formada ainda não calcificada adjacente aos osteoblastos activos denomina-se osteoide (Junqueira & Carneiro, 2008).

Por fim, os osteoclastos são células gigantes, multinucleadas, muito ramificadas, móveis e que não se dividem, sendo responsáveis pelo processo de reabsorção do tecido ósseo, expresso pelo aparecimento das chamadas lacunas de Howship (depressões na matriz óssea) (Aughey & Frye, 2001). A superfície activa destas células encontra-se voltada para a matriz e os seus prolongamentos irregulares que são circundados por uma zona citoplasmática com muitos filamentos de actina, denominada de zona clara, que serve de local de adesão do osteoclasto com a matriz óssea, permitem criar um microambiente fechado onde ocorre a reabsorção óssea. No processo de digestão da matriz orgânica e de dissolução dos cristais de sais de cálcio, os osteoclastos, coordenados por citoquinas,

calcitonina e paratormona, secretam hidrogénio (H^+), collagenase e outras hidrólases (como a fosfatase ácida), para o interior do microambiente (Junqueira & Carneiro, 2008).

Quanto às duas membranas que revestem o osso, o endóstio é constituído por uma camada de células osteogénicas achatadas que revestem as cavidades do osso esponjoso, o canal medular, os canais de Havers e os canais de Volkmann; enquanto que o perióstio é constituído por camadas de fibras de colagénio denominadas fibras de Sharpey e por fibroblastos (Aughey & Frye, 2001). A porção mais profunda do perióstio apresenta células osteoprogenitoras, com morfologia semelhante aos fibroblastos, que se multiplicam e diferenciam-se em osteoblastos desempenhando um papel importante no crescimento e reparação óssea (Junqueira & Carneiro, 2008).

2.1.2.2 Tipos de Tecido Ósseo

Embora com a mesma estrutura histológica básica, macroscopicamente é possível distinguir simultaneamente em todos os ossos, duas formas diferentes: 1) o osso compacto (cortical ou denso, que forma uma massa contínua em que os espaços só são visíveis microscopicamente) e 2) o osso esponjoso (medular, que consiste de lacunas intercomunicantes irregulares denominadas de trabéculas, que formam uma rede tridimensional de cavidades preenchidas por medula óssea) (Aughey & Frye, 2001). Nos ossos longos, as epífises são formadas por osso esponjoso com uma fina camada compacta na superfície; e a diáfise é muito compacta e com pouca quantidade de osso esponjoso. Nos ossos curtos existe um centro esponjoso e uma camada compacta na sua periferia. Nos ossos chatos existem duas camadas de osso compacto (as tábuas interna e externa) separadas por osso esponjoso (o diploe) (Junqueira & Carneiro, 2008).

O tecido ósseo pode dividir-se em: 1) imaturo ou primário, e 2) maduro, secundário ou lamelar (Junqueira & Carneiro, 2008).

- 1) O TECIDO ÓSSEO PRIMÁRIO é o primeiro a surgir, tanto na fase embrionária como na reparação de fracturas, sendo substituído progressivamente pelo tecido ósseo secundário. No indivíduo adulto ele persiste apenas nas suturas dos ossos do crânio, nos alvéolos dentários e em alguns pontos de inserção de tendões, caracterizando-se por apresentar fibras de colagénio dispostas em várias direcções e sem uma organização definida; por ter uma menor quantidade de minerais (pelo que é mais radio-lucente) e por possuir uma maior proporção de osteócitos do que o tecido ósseo secundário (Junqueira & Carneiro, 2008).

- 2) O TECIDO ÓSSEO SECUNDÁRIO caracteriza-se por possuir fibras de colagénio organizadas em lamelas de 3 a 7 μm de espessura dispostas em paralelo ou em camadas concêntricas, em redor de canais com vasos formando os chamados sistemas de Havers característicos dos ossos longos, muito embora também se encontrem no tecido ósseo compacto dos ossos curtos e chatos. Os grupos de lamelas são separados por uma acumulação de substância cimentante que consiste numa matriz mineralizada e com pouco colagénio. Na diáfise dos ossos, os sistemas de Havers podem ser circunferenciais interno, circunferenciais externo e os intermédios (que se situam entre os anteriores, e que são provenientes de restos de sistemas de Havers destruídos durante o crescimento do osso). Cada sistema de Havers é formado por 20 lamelas ósseas concêntricas com um formato cilíndrico longo por vezes bifurcado, paralelo à diáfise. No centro deste existe um canal denominado de Havers, revestido de endóstio, contendo vasos e nervos que comunicam entre si, com a cavidade medular e ainda com a superfície externa do osso através de canais transversais ou oblíquos que não apresentam lamelas ósseas concêntricas e que, por isso, são denominados canais de Volkmann. Por causa da constante remodelação, o diâmetro dos canais de Havers é variável devido à sucessiva deposição de lamelas ósseas da periferia para o centro, tornando-o mais estreito com a idade e contendo lamelas internas mais recentes (Junqueira & Carneiro, 2008).

2.1.2.3 Crescimento, Remodelação e Reparação do Tecido Ósseo

O crescimento ósseo depende do equilíbrio, em simultâneo, da formação de novo tecido associado à reabsorção parcial de tecido já formado mantendo, assim, a sua forma (Junqueira & Carneiro, 2008). O tecido ósseo é capaz de crescer em comprimento e espessura e, apesar da sua resistência e dureza, o osso continua a sua remodelação durante a vida adulta, num processo mais lento e independente do crescimento, como resposta a modificações nas forças a que está permanentemente sujeito (Aughey & Frye, 2001).

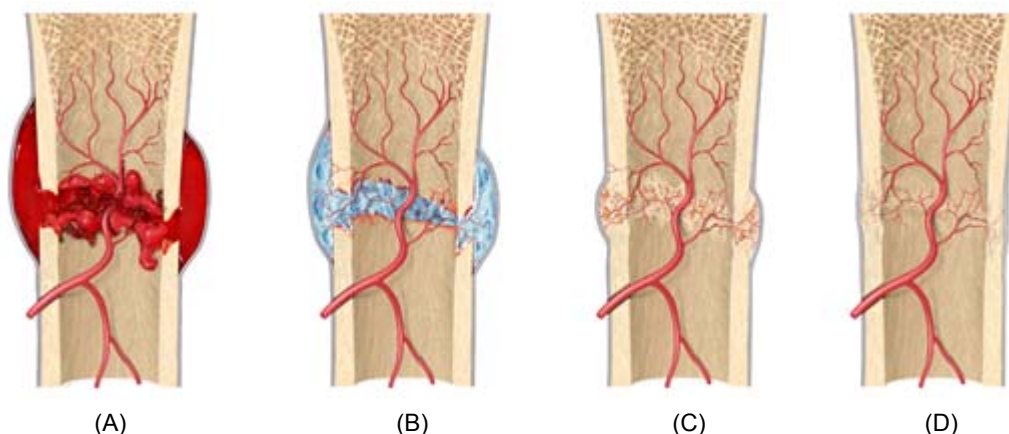
Nos ossos longos a diáfise cresce em comprimento, devido à actividade das placas epifisárias, resultando no aumento do diâmetro do canal medular (Aughey & Frye, 2001). As placas de crescimento podem ser classificadas com base na sua localização em: 1) placas de crescimento de pressão (localizadas nas terminações dos ossos longos e responsáveis pelo seu crescimento longitudinal) e 2) placas de crescimento de tracção (localizadas nas

inserções musculares e com pouca contribuição para o crescimento ósseo em comprimento) (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006). As epífises aumentam de tamanho pelo crescimento radial da cartilagem acompanhado por ossificação endocondral (Aughey & Frye, 2001). Nos ossos chatos o crescimento ocorre por formação de tecido ósseo a partir do perióstio situado entre as suturas e na face externa do osso, ocorrendo reabsorção na face interna (Junqueira & Carneiro, 2008).

Na reparação do tecido ósseo existem dois tipos de processos: 1) o indirecto e 2) o directo.

- 1) O PROCESSO INDIRECTO inicia-se com uma reacção inflamatória aguda e a remoção (por acção dos macrófagos) do coágulo sanguíneo, dos restos celulares e da matriz destruídos. Alguns dos vasos sanguíneos rupturados são, por exemplo, os que entram nos canais de Havers na linha de fractura e que, por isso, irrigam o perióstio e o endóstio. Todos os fenómenos associados à reacção inflamatória provocam, em maior ou menor grau, défices de oxigénio e de nutrientes, conduzindo à morte de osteócitos e necrose do perióstio e da medula óssea na região (Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993). Como parte do processo de reparação, os fragmentos ósseos e as superfícies da fractura são reabsorvidos por osteoclastos para aumentar a sua distância (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006). Com a multiplicação de vasos sanguíneos há a formação de um tecido muito rico em células osteoprogenitoras as quais formam um anel em redor do foco de lesão (como a fractura) penetrando assim nas extremidades lesadas do osso. Na zona do anel e entre as extremidades surge, por ossificação intramembranosa e endocondral dos fragmentos de cartilagem, o tecido ósseo primário ou imaturo. Com a evolução deste processo aparece um calo ósseo constituído por tecido imaturo, que envolve as extremidades do osso lesado unindo estas provisoriamente. A remodelação do calo ósseo, e a sua completa substituição por tecido ósseo secundário, é um processo lento e que ocorre devido às tracções e pressões exercidas sobre o osso durante a reparação da fractura e que, se forem idênticas às exercidas anteriormente, permitem o aparecimento de uma estrutura semelhante à original e sem a formação de cicatriz (Junqueira & Carneiro, 2008). O processo de reparação está dependente da secreção de um vasto conjunto de mediadores de crescimento e mitogénicos como é o caso das proteínas morfogénicas ósseas e dos factores angiogénicos (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006).

Figura 2.2 - Representação da Reparação do Tecido Ósseo pelo Processo Indirecto: (A) Edema, (B) Tecido Ósseo Imaturo, (C) Tecido Ósseo Secundário, (D) Remodelação (Adaptado de Cummings, 2001)



- 2) Quanto ao PROCESSO DIRECTO ele ocorre quando os fragmentos ósseos lesados estão estáveis, a sua distância é inferior a 0,1mm e existem áreas de contacto e forças compressivas. Trata-se de um fenómeno que dispensa a maioria dos passos da reparação indirecta e que avança directamente para a remodelação cortical, onde a união dos topos ósseos se realiza por meio de uma remodelação do osso cortical através dos sistemas de Havers, conseguindo atravessar o espaço de fractura sem processos endocondrais e sem a reabsorção das superfícies da zona fracturada (Coughlan & Miller, 1998).

2.1.3 Fisiologia do Tecido Ósseo

O osso é um tecido altamente dinâmico que modifica a sua estrutura como resposta a diversas pressões internas e externas, activando as suas células para processos de formação, remodelação e de reabsorção, influenciadas por várias hormonas, factores de crescimento, vitaminas e ainda pela componente mineral da dieta. A sua composição é de aproximadamente 25% água, 45% cinza e 30% matéria orgânica, sendo o cálcio o elemento mais representativo da parte inorgânica, com um valor aproximadamente de 37% desta fracção (Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993). As principais funções do tecido ósseo são funcionar como (Kini & Nandeesh, 2012):

1. um reservatório mineral para manutenção do equilíbrio iónico no organismo através de regulação homeostática,
2. um armazém de factores de crescimento e citocinas na matriz óssea, libertadas após reabsorção,

3. um repositório de gordura através da medula óssea amarela,

e:

4. participar no equilíbrio ácido-base através da libertação ou absorção de sais alcalinos,
5. assegurar auxílio na função endócrina por controlo do metabolismo do fosfato,
6. promover a captação e armazenagem de agentes tóxicos,
7. garantir protecção e suporte dos tecidos moles e órgãos,
8. permitir o movimento em conjunto com os músculos e tendões.

2.1.3.1 Mineralização do Tecido Ósseo

A mineralização do tecido ósseo, que ocorre na zona de ossificação, é influenciada por factores como a concentração de cálcio e fósforo na corrente sanguínea e no fluido extracelular adjacente à superfície do osso, o colagénio e os constituintes proteicos não colagénicos da fracção orgânica da matriz. Esta depende de dois processos: 1) a formação de cristais de hidroxiapatite, e 2) a sua deposição na matriz orgânica. (Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993). Os cristais de hidroxiapatite, que compõem a maioria da fracção inorgânica do osso, têm a forma de placa com uma dimensão de 20-50 nm de comprimento e 12-20 nm de largura, dispondo-se paralelamente às fibras de colagénio (Boskey, 2007).

Actualmente existem duas teorias igualmente aceites para explicar o processo da mineralização: 1) A teoria das vesículas da matriz (baseia-se nos eventos celulares e enzimáticos para descrever o processo) e 2) a teoria da nucleação que tem como base os processos físico-químicos (Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993).

- 1) A TEORIA DAS VESÍCULAS DA MATRIZ defende que na zona de ossificação, os capilares sanguíneos e as células osteoprogenitoras originárias do perióstio, invadem as cavidades resultantes da morte dos condrócitos. Ocorre a diferenciação celular das células osteoprogenitoras em osteoblastos os quais formam uma camada contínua sobre os restos da matriz cartilaginosa, e iniciam a deposição de sais de cálcio contidos em vesículas do seu citoplasma que são expelidas para a matriz (Junqueira & Carneiro, 2008). Estas vesículas, resultantes da acumulação de cálcio e fósforo nas mitocôndrias das células na sequência do aumento do metabolismo oxidativo pós-hipóxia, são ricas em fosfolípidos, particularmente em fosfatidilserina e fosfatidilinositol os quais apresentam uma grande afinidade para o cálcio, calbindina

D9K, fosfatase alcalina e anexinas que formam os canais de cálcio, facilitando a entrada deste mineral nas vesículas para a formação de cristais de hidroxiapatite (Wuthier, 2011).

A fosfatase alcalina é uma ectoenzima ligada covalentemente à membrana plasmática das vesículas e que, por isso, apresenta uma grande afinidade para estabelecer ligações com o colagénio tipo II e X, surgindo precocemente no processo de mineralização onde assume uma importância crítica na sua mediação e propagação, já que para além de ter capacidade de fixar o cálcio, promove ainda o aumento da sua concentração juntamente com o fosfato no interior da vesícula e remove os inibidores da calcificação, que incluem o pirofosfato e a adenosina trifosfato através de hidrólise promovendo assim a calcificação da matriz óssea (Golub & Battaglia-Boesze, 2007).

As anexinas representam uma família de proteínas fosfolipídicas fixadoras de cálcio, predominantes nas vesículas da matriz. A anexina A5 é a que tem maior representatividade de todas, assumindo como função acelerar o início do processo de mineralização das vesículas através do seu efeito inibidor do ião magnésio (Mg^{2+}) e dos lípidos não fixadores de cálcio presentes nas vesículas da matriz (Wuthier, 2011).

Os complexos fosfolípidos-fosfatos cálcicos acídicos têm a capacidade de iniciar a precipitação de cristais de hidroxiapatite quando o cálcio e o fósforo excedem o seu ponto de solubilidade depositando-se inicialmente sobre os espaços entre as fibras de colagénio e, posteriormente recobrando toda a rede de colagénio que funciona assim como um molde para a calcificação (Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993).

- 2) Segundo a TEORIA DA NUCLEAÇÃO, a deposição de cristais de hidroxiapatite pode ser induzida pela presença de cristais já formados (nucleação homogénea), ou de moléculas orgânicas com grupos complementares à hidroxiapatite orientados para receber os cristais (nucleação heterogénea). Esta teoria requer que a concentração dos iões cálcio e fósforo esteja no líquido extracelular adjacente à matriz orgânica supersaturada. O colagénio funcionará como um molde e centro da deposição ou precipitação dos sais de cálcio e fósforo nos espaços entre as suas fibras na matriz orgânica que criam também um microambiente apropriado para a transição dos sais de uma fase de soluto para uma fase sólida. Proteínas não colagénicas da matriz orgânica como a osteocalcina, as sialoproteínas e as fosfoproteínas estão implicadas neste processo como potenciais centros de nucleação, devido à sua capacidade de fixação de cálcio, de controlarem o tamanho e crescimento dos cristais e de funcionarem como inibidores da mineralização heterotópica (Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993).

Os constituintes proteicos não colagénicos encontrados na matriz e com influência no processo de mineralização são os seguintes (Bonucci, 2013):

1. Fosfoglicoproteínas da matriz extracelular
2. Fosfolípidos
3. Glicoproteínas (Fosfoproteínas)
4. Glicoproteína-75 ácida
5. Osteocalcina
6. Osteogenina
7. Osteonectina
8. Osteopoetina
9. Proteína GLA óssea
10. Proteína GLA da matriz
11. Pequenos proteoglicanos ricos em leucina
12. Proteoglicanos
13. Proteoglicanos modulares
14. Sialoproteína óssea
15. α -2 HS glicoproteína (Fetuina)

2.1.3.2 Reabsorção do Tecido Ósseo

A reabsorção é um fenómeno de grande importância na manutenção da homeostasia mineral do organismo, sendo fortemente influenciada por factores hormonais sistémicos e pela acção em particular dos osteoclastos. Este processo consiste na dissolução da matriz óssea (inorgânica e orgânica) pela acção das células ósseas e a sua solubilização, sendo os produtos resultantes transferidos para a circulação sistémica (Bruzzaniti & Baron, 2007).

Os osteoclastos aderem à superfície mineralizada do osso através das suas vilosidades, criando um espaço fechado e iniciam a reabsorção através da secreção de iões H^+ , para a degradação da hidroxiapatite da matriz. Asseguram a diminuição do pH, e a activação de enzimas proteolíticas dos lisossomas em particular a catepsina K, que apresenta a capacidade de degradar a matriz orgânica incluindo o colagénio a um pH baixo (Kini & Nandeesh, 2012).

Este processo é completado por macrófagos e permite a libertação de factores de crescimento contidos na matriz, principalmente factor de crescimento de transformação β (TGF- β), factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e IGF I e II (Kini &

Nandeesh, 2012). A reabsorção óssea mediada por osteoclastos demora, aproximadamente, 2 a 3 semanas em cada ciclo (Kini & Nandeesh, 2012).

2.1.3.3 Remodelação do Tecido Ósseo

A remodelação do tecido ósseo é um processo contínuo ao longo da vida, essencial na manutenção da integridade do tecido e da homeostasia mineral do cálcio e fósforo (Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993). Este processo, responsivo às exigências funcionais e mecânicas, está presente na aquisição da forma do osso, na ossificação durante o crescimento, no processo de resolução de fracturas e ainda na prevenção da acumulação de microfissuras decorrentes da normal actividade. O ciclo de remodelação requer um processo de reabsorção e de formação óssea o qual depende da acção coordenada e do desenvolvimento de osteoclastos e osteoblastos, respectivamente. O balanço entre formação e reabsorção torna-se, com o passar do tempo, desequilibrado, predominando a reabsorção numa fase avançada da idade (Kini & Nandeesh, 2012). De um modo simplista, o processo de remodelação óssea pode ser dividido em 6 fases (Kini & Nandeesh, 2012):

1. FASE DE QUIESCÊNCIA - não existe actividade nesta fase.
2. FASE DE ACTIVAÇÃO - ocorre a activação da superfície óssea, antes da reabsorção, através da retração dos osteoblastos maduros existentes na superfície do endóstio e da digestão da membrana endotelial por acção da colagenase; osteoclastos aderem à superfície óssea mineralizada e iniciam a reabsorção.
3. FASE DE REABSORÇÃO.
4. FASE DE REVERSÃO - durante esta fase, a reabsorção óssea diminui e inicia-se a formação de novo tecido ósseo. O término da reabsorção e o início da formação parece ser controlado por factores derivados da matriz óssea como TGF- β , IGF-1, IGF-2, BMP, factores de crescimento derivados das plaquetas (PDGF), FGF.
5. FASE DE FORMAÇÃO - aqui os osteoblastos substituem os osteoclastos na superfície óssea e iniciam a formação de tecido ósseo; os osteoblastos são atraídos e agrupam-se devido à libertação de factores de crescimento da matriz que funcionam como quimiotácticos e que estimulam a sua proliferação; os pré-osteoblastos produzem uma substância cimentante onde o novo tecido irá aderir e expressam as BMP responsáveis pela diferenciação.
6. FASE DE MINERALIZAÇÃO - o processo de mineralização em humanos inicia-se trinta dias após a deposição de osteoide demorando cerca de 90 dias no osso trabecular e de cento e trinta dias no osso cortical.

No Quadro 2.1 apresentam-se os factores hormonais que influenciam este processo e a forma como o influenciam (Kini & Nandeesh, 2012).

Quadro 2.1 - Factores Hormonais e sua acção na remodelação óssea

Reabsorção		Formação	
Aumento	Diminuição	Aumento	Diminuição
PTH/PTHrP	Calcitonina	Hormona do Crescimento	Glucocorticóides
Glucocorticóides	Estrogénios	Metabolitos da Vit. D	
Hormonas da Tireoide		Androgénios	
Vit. D em doses altas		Insulina	
		PTH/PTHrP em doses baixas	
		Progesterona	

No Quadro 2.2 apresentam-se os factores de crescimentos e citocinas que influenciam este processo e a forma como o influenciam (Kini & Nandeesh, 2012).

Quadro 2.2 - Factores de Crescimento e Citoquinas e sua acção na remodelação óssea

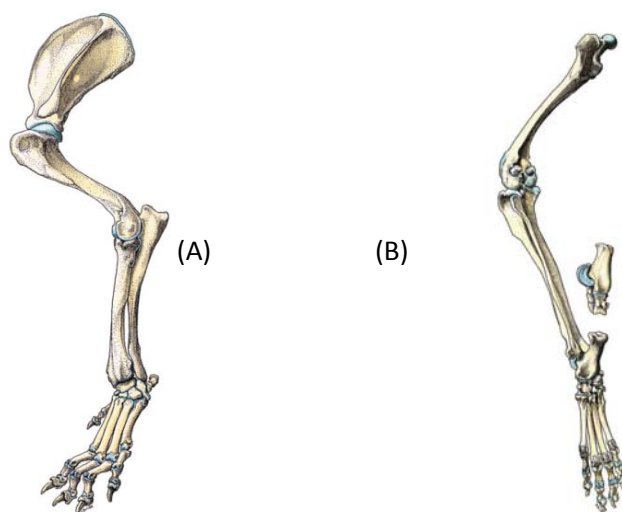
	Reabsorção		Formação
	Estimula	Inibe	Estimula
Factores de crescimento	TNF, EGF, PDGF, FGF, M-CSF, GM-CSF	-	BMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7, IGF-I, IGF-II, TGF- β , FGF, PDGF
Citoquinas	IL-1, IL-6, IL-8, IL-11, PGE, PGE1, PGI2, PGH2	IFN- ϕ , IL-4	IL-4, IL-13, IFN, OPG

2.1.3.4 Regulação do Metabolismo do Tecido Ósseo

Os factores hormonais desempenham um importante papel nos fenómenos de desenvolvimento do tecido ósseo, devido à regulação da homeostasia dos níveis de cálcio plasmático através do seu efeito no osso e noutros órgãos como os rins e intestino (Kini & Nandeesh, 2012; Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993).

Os factores de crescimento locais são maioritariamente sintetizados pelas células do tecido ósseo ou células com ele relacionadas, e sempre como uma resposta à acção dos factores sistémicos como os factores quimiotáticos e osteoinductivos que ficam aprisionados na matrix óssea e que se activam quando se libertam durante o processo de reabsorção (Wasserman, Kallfelz, & Lust, 1993). Os factores de crescimento sistémicos, locais e mitogénicos encontram-se representados no Quadro 2.2 onde se indica a sua acção no tecido ósseo. O metabolismo ósseo pode ser avaliado através de marcadores bioquímicos que fornecem informação dinâmica acerca do processo decorrente. Os marcadores de formação de tecido ósseo são a fosfatase alcalina, a osteocalcina e os péptidos procologénicos. Por seu lado, os marcadores de reabsorção óssea são os péptidos como a hidroxiprolina, a hidroxilisina glicosada e a fosfatase ácida. Estes factores apresentam valores mais elevados durante o processo de reabsorção óssea e a sua avaliação é efectuada com base na análise urinária (Kini & Nandeesh, 2012).

Figura 2.3 - Esquema Ósseo do Membro Tóraco (A) e Pélvico (B). (Adaptado de brusdas, 2007)



No Quadro 2.3 apresenta-se a idade de encerramento das placas epifisárias em canídeos.

Quadro 2.3 - Idade para Encerramento da Placa Epifisária

Osso		Idade (meses)
Escápula		6 a 8
Úmero	Próximal	18
	Distal	6 a 8
Rádio	Próximal	6 a 8
	Distal	16 a 18
Ulna	Próximal	15
	Distal	15
Ílio, ísquio, púbis		6
Fémur	Próximal	18
	Distal	18
Tíbia	Próximal	18
	Distal	14 a 15
Fíbula	Próximal	15 a 16
	Distal	15
Calcâneo		14 a 15
Metacarpianos/	Próximal	Antes do nascimento
Metatarsianos	Distal	5 a 6
Falange proximal	Próximal	5 a 6
	Distal	Antes do nascimento
Falange média	Próximal	5 a 6
	Distal	Antes do nascimento
Falange distal		-

2.2 Fracturas

2.2.1 Abordagem ao Canídeo com Fractura

O exame do doente traumatizado deve começar com uma boa anamnese e um exame físico geral que permitam identificar ou excluir outros problemas fora do âmbito da ortopedia (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006). A prioridade deve ser dada ao tratamento das lesões que devido às suas particularidades põem em risco a vida do doente e que, após controladas, permitem prosseguir com o exame detalhado das regiões ou sistemas

afectados, diminuindo a probabilidade de ocorrer falhas na avaliação total do doente. Uma sequência crânio-caudal e próximo-distal pode ser adoptada (Coughlan & Miller, 1998). Toda a observação é influenciada pela complexidade do caso apresentado, história de trauma recente, função do paciente e a condição económica dos proprietários (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006).

A história clínica deve ser suficientemente detalhada de modo a identificar todos os problemas e clarificar a diferença entre factos e opiniões (Houlton, 2006). A informação recolhida deve conter a raça, a idade, o género, a ocorrência de trauma, a identificação do membro afectado por parte do proprietário, a progressão cronológica do problema, a eficácia de tratamentos efectuados e a variação na severidade do problema com o exercício, as variações climatéricas e o estado pós decúbito (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006).

Frequentemente outros tecidos para além do ósseo, e muitas vezes não relacionados com o sistema músculo-esquelético, estão concomitantemente afectados (Coughlan & Miller, 1998).

O exame ortopédico deve iniciar-se com a observação da forma como o paciente se desloca para o local de consulta e a dificuldade e/ou relutância em se levantar e movimentar. Deve ser observado se o paciente se desloca com o apoio dos quatro membros, ou se furta o apoio de algum deles de forma parcial ou total. Vários aspectos podem ser observados enquanto decorre a anamnese, tais como a postura dos membros, a presença de atrofia muscular, a forma como apoia os membros quando se senta ou levanta (Houlton, 2006). A palpação do esqueleto apendicular não deve agravar a condição do paciente com movimentos desnecessários e tem como finalidade identificar os sinais clínicos associados à fractura que são: dor ou fragilidade local, deformação ou alteração na angulação, alteração da mobilidade, edema local, perda de função e crepitação (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006). Quando os sinais clínicos não são conclusivos e as lesões permitem, o paciente deve ser examinado em marcha para que a fractura se torne evidente (Coughlan & Miller, 1998).

O exame radiográfico é o meio complementar de diagnóstico mais frequentemente utilizado e indicado, fornecendo ao clínico informação necessária para estabelecer um diagnóstico definitivo, classificar a fractura e seleccionar o melhor procedimento para corrigir a condição (Butterworth, 2006). A imagem radiográfica deve ser realizada em pelo menos dois planos ortogonais, de modo a fornecer informação mais precisa sobre a ocorrência e a extensão da fractura, auxiliando, assim, no estabelecimento de um prognóstico (Coughlan & Miller, 1998).

Figura 2.4 - Imagem Radiográfica de Resolução de Fractura de Fémur.

2.2.2 Classificação de Fracturas

Na classificação de fracturas é necessário um método expedito de modo a tornar o processo de diagnóstico, tratamento e prognóstico mais acessível e comparável (Coughlan & Miller, 1998). As fracturas podem ser classificadas com base em múltiplos factores como: causa, presença ou ausência de comunicação com o exterior, localização, morfologia e gravidade da fractura, estabilidade após redução axial dos fragmentos (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006).

A causa da fractura permite determinar se foi um impacto directo ou não. No primeiro caso, que representa a grande maioria dos processos, é o resultado de acidentes com veículos motorizados. Outras causas são transmissão indirecta de forças, fractura patológica e ainda por agressão repetida (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006).

A comunicação da fractura com o exterior permite classificá-la em 1) fechada (quando não existe comunicação com o exterior) e 2) aberta (quando o local fracturado comunica com o ambiente exterior). A existência de comunicação com o exterior implica uma contaminação da lesão o que provocará um atraso no processo de cicatrização (Coughlan & Miller, 1998). As fracturas abertas são classificadas de grau I a III de acordo com o mecanismo de perfuração e com a gravidade da lesão dos tecidos moles. Assim, O GRAU I representa uma fractura com um pequeno orifício de perfuração na pele, próximo ao local fracturado, provocado pelo fragmento ósseo podendo este não ser visível; O GRAU II representa uma ferida de tamanho variável resultado de trauma externo, associada à fractura cominutiva e com maiores danos nos tecidos moles que o grau I; NO GRAU III ocorre fragmentação óssea, resultante de fracturas cominutivas de alta energia, associada à lesão dos tecidos moles com possível perda de pele (Johnson, 2007).

Na descrição dos parâmetros localização, morfologia e gravidade da fractura foi adoptado o sistema morfológico alfanumérico de fracturas (SIMAF) criado pelo grupo *Arbeitsgemeinschaft fur Osteosynthese and Association for the Study of Internal Fixation* (AO/ASIF), para a classificação de fracturas em humanos. Este sistema permite classificar a complexidade da fractura e a estabilidade da mesma após a redução, fornecendo informação útil e universal para o tratamento e prognóstico (Coughlan & Miller, 1998). No sistema SIMAF a localização da fractura é classificada de 1 a 4 de acordo com o osso longo a que corresponde. O segmento fracturado é indicado pela numeração de 1 a 3 consoante a zona do osso afectada. A gravidade da fractura é representada pelas letras A, B e C em função do número de focos e da forma da fractura. A complexidade é descrita pela numeração de 1 a 3 sendo a complexidade classificada como irreductível quando a zona fracturada apresenta perda de massa óssea. A esta classificação pode ser adicionada nomenclatura específica para fornecer mais informação (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006).

No Quadro 2.4 apresenta-se o esquema de correspondência dos parâmetros com a classificação SIMAF.

Quadro 2.4 - Sistema Alfanumérico de Classificação de Fracturas.

Parâmetro	Classificação SIMAF
Localização	
Úmero	1
Rádio	2
Fémur	3
Tíbia	4
Segmento	
Epífise Proximal	1
Diáfise	2
Epífise Distal	3
Tipo	
Simples	A
Cunha	B
Cominutiva	C
Complexidade	
Média	1
Difícil	2
Irreductível	3

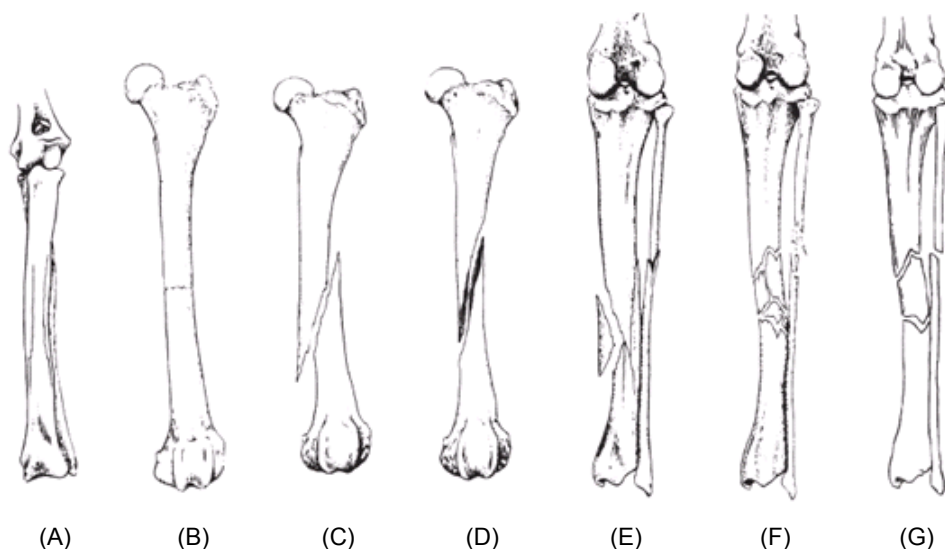
A orientação relativa da linha de fractura em relação ao eixo longitudinal do osso possibilita as seguintes classificações (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006):

1. FRACTURA TRANSVERSA - fractura atravessa o osso num ângulo não superior a 30° com o eixo longo do osso.
2. FRACTURA OBLÍQUA - fractura atravessa o osso formando um ângulo superior a 30° com o eixo longo do osso.
3. FRACTURA EM ESPIRAL - fractura semelhante à oblíqua que contorna o eixo longitudinal do osso.

A extensão da fractura pode ser descrita como (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006):

1. FRACTURA INCOMPLETA - somente um cortéx é afectado pela linha de fractura.
2. FRACTURA COMPLETA - a linha de fractura descreve uma separação circunferencial simples dos fragmentos; a fragmentação resultante no local fracturado tem de ser inferior a um terço do diâmetro do osso após a redução da fractura.
3. FRACTURA COMINUTIVA - fractura que apresenta mais um ou mais fragmentos separados de tamanho intermédio. Estas fracturas podem ser divididas em 4 tipos:
 - ✓ Fractura em cunha - os fragmentos principais apresentam contacto após redução.
 - ✓ Fractura em cunha redutível - os fragmentos apresentam uma largura e comprimento superiores a um terço do diâmetro do osso e, quando reduzidos a um fragmento, o resultado é uma fractura simples.
 - ✓ Fractura em cunha não redutível - os fragmentos apresentam uma largura e comprimento inferiores a um terço do diâmetro do osso resultando numa perda de tecido ósseo entre fragmentos, após a redução, superior a um terço do diâmetro ósseo.
 - ✓ Fractura múltipla - a fractura apresenta três ou mais fragmentos e as suas linhas não convergem para um ponto comum.

Figura 2.5 - Representação da Classificação de Fracturas Diafisárias. (A) Incompleta, (B) Transversa, (C) Obliqua, (D) Espiral, (E) Cunha Redutível, (F) Cunha não Redutível, (G) Múltipla. (Adaptado de Piermattei, 2006)



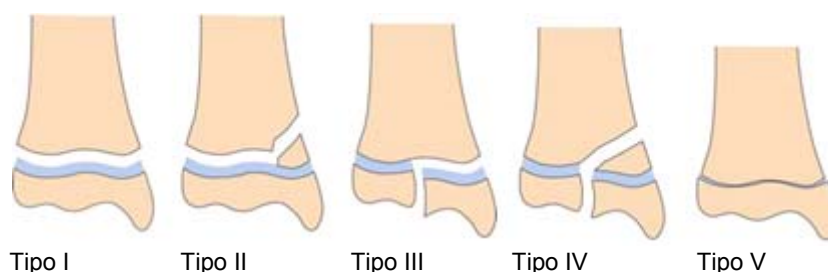
As fracturas intra-articulares e extra-articulares que ocorrem na zona da metáfise proximal e distal são classificadas em 3 tipos (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006):

1. FRACTURA EXTRA-ARTICULAR - a superfície articular não está fracturada mas está separada da diáfise. São normalmente denominadas fracturas metafisárias.
2. FRACTURA ARTICULAR PARCIAL - só parte da articulação está separada da diáfise.
3. FRACTURA ARTICULAR COMPLETA - a superfície articular está completamente separada da diáfise. Nesta classificação existe a descrição adicional:
 - ✓ Fractura impactada - os fragmentos permanecem unidos
 - ✓ Fractura por avulsão - um fragmento ósseo, que corresponde ao local de inserção de um músculo, tendão ou ligamento, apresenta-se destacado como resultado de uma força de tracção.

No caso de indivíduos jovens e em crescimento as fracturas articulares, para além de poderem afectar a zona da epífise e da metáfise proximal e distal, podem também afectar a placa de crescimento ou fise antes do seu encerramento. A fractura fisária é bastante hemorrágica, com a rápida formação de um calo ósseo exuberante o que implica a necessidade de uma intervenção o mais cedo possível. A maioria das fracturas fisárias ocorrem na zona proliferativa devido a ser a zona mais fraca da placa de crescimento (Piermattei, Flo, & DeCamp, 2006). As fracturas fisárias são classificadas pelo esquema de Salter-Harris de acordo com a localização da linha de fractura (Johnson, 2007):

1. Salter-Harris tipo I - linha de fractura ocorre ao longo da fise com separação entre a epífise e a metáfise na placa de crescimento.
2. Salter-Harris tipo II - fractura ocorre numa porção da metáfise e ao longo da fise com separação entre a epífise e a metáfise na placa de crescimento.
3. Salter-Harris tipo III - fractura articular em que linha de fractura percorre a epífise e parte da placa de crescimento mas não afecta a metáfise.
4. Salter-Harris tipo IV - fracturas articulares cuja linha de fractura percorre a epífise, a placa de crescimento e a metáfise; pode ocorrer várias linhas de fractura.
5. Salter-Harris tipo V - fracturas compressíveis da fise, não visíveis em imagem radiográfica que se tornam evidentes quando o alongamento ósseo cessa.

Figura 2.6 - Representação da Classificação de Salter-Harris (Adaptado de Fossum, 2007)



2.3 Cálcio no Organismo

2.3.1 Distribuição de Cálcio no Organismo

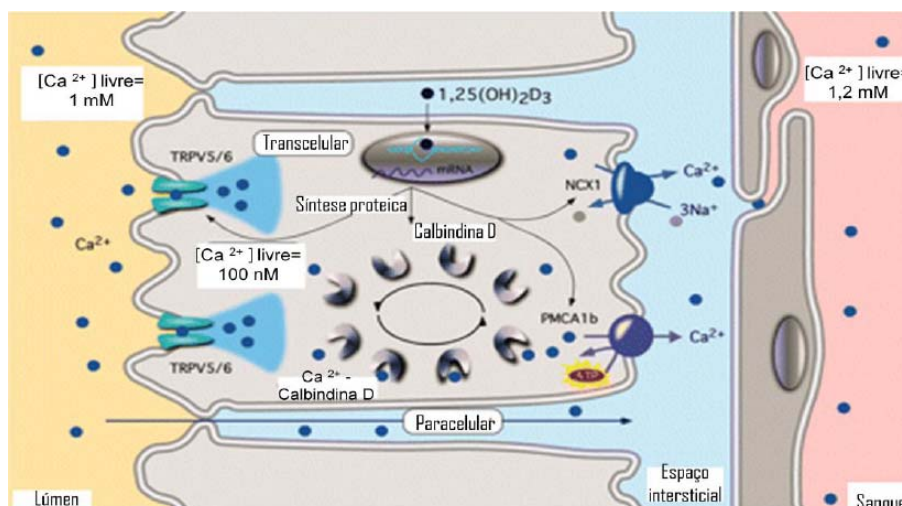
O cálcio (Ca^{2+}) é um metal alcalino-terroso, reactivo e o mais importante e abundante elemento biológico do esqueleto (Hazewinkel H. , 2012). Este mineral tem um papel fundamental na contracção muscular, coagulação sanguínea, tónus da musculatura lisa vascular, transmissão neuromuscular, actividade celular nervosa, estabilidade e transporte membranar, libertação de hormonas, processos enzimáticos, formação e reabsorção óssea, controlo hepático do glicogénio e crescimento e divisão celular (Cunningham, 2007). De acordo com o previamente indicado, cerca de 99% do Ca^{2+} do organismo está armazenado no tecido ósseo, sob a forma de cristais estáveis de hidroxiapatite que constituem 98% do total do Ca^{2+} , sob a forma amorfa e solúvel de compostos lábeis facilmente mobilizáveis, como o fosfato de cálcio e o cálcio ligado à albumina (presente na porção trabecular óssea entre os osteoblastos contíguos aos canais vasculares e os osteócitos, e nos fluidos

extracelulares do tecido ósseo) que representa 1% do total e proporciona uma reserva dinâmica para a manutenção das fracções intra e extracelulares (Cunningham, 2007). O restante 1%, representa o depósito mais importante para o controlo das concentrações fisiológicas de cálcio sérico, encontrando-se metade no espaço intracelular, em circulação e no líquido intersticial, complexado com elementos inorgânicos não ionizados dependentes das variações do equilíbrio ácido-base sanguíneo e a outra metade na forma biologicamente activa de cálcio ionizado no fluido extracelular (Hazewinkel H. , 2012).

O cálcio intersticial e o sérico formam a fracção extracelular de cálcio que representa o depósito mais importante no controlo fisiológico dos seus próprios níveis séricos com uma concentração de aproximadamente 10^{-3}M (Randall, Burggren, & French, 2002). O cálcio extracelular encontra-se 55% sob a forma ionizada biologicamente activa, 35% ligado à albumina e a outras proteínas como a globulina sanguínea e 10% quelado em compostos não iónicos de baixo peso molecular com aniões como o fosfato, o citrato, o bicarbonato, o sulfato e o lactato. A sua distribuição no plasma sanguíneo é influenciada pela concentração de albumina, alterações nos níveis proteicos e ainda pelo equilíbrio ácido-base o qual determina o pH sanguíneo e, consequentemente, a carga dos elementos de ligação do cálcio com influência na sua força de ligação (Schenck, Chew, Nagode, & Rosol, 2012).

Por seu lado, o cálcio intracelular encontra-se sequestrado ao nível do retículo endoplasmático e mitocôndrias, tamponado ou ligado às proteínas plasmáticas do tipo calmodulina, calbindina, e troponina C (Neiger, 2011). A sua concentração celular ($<10^{-7}\text{M}$) é mantida em níveis muito inferiores aos do cálcio sérico sendo, por vezes, transportado para fora da célula (Randall, Burggren, & French, 2002). Estas baixas concentrações permitem que o cálcio se difunda rapidamente do líquido extracelular ou dos organelas para o citosol da célula (Barber, 2004). O cálcio constitui assim um segundo mensageiro que regula a resposta celular aos estímulos bioquímicos externos, principalmente hormonais, e que deriva do fluido extracelular, das mitocôndrias, do retículo endoplasmático e da membrana plasmática. As acções biológicas do cálcio intracelular são mediadas por proteínas plasmáticas como a calmodulina que activam enzimas metabólicas, afectam a adenil-ciclase, a guanil-ciclase e a fosfodiesterase e participam no controlo da permeabilidade da membrana celular onde o cálcio assegura a ligação entre o sinal eléctrico e o químico (Dickson, 1993). Níveis elevados de cálcio intracelular indicam actividade celular contudo, o aumento prolongado deste elemento pode levar à disfunção ou à morte da mesma (Barber, 2004).

Figura 2.7 - Transporte transcelular de cálcio. (Adaptado de Hoenderop, 2005)



2.3.2 Controlo de Cálcio no Organismo

A homeostasia do cálcio é um processo complexo, que se consegue sob influência hormonal envolvendo o controlo do movimento deste ião entre o fluido extracelular e o osso, o tracto gastrointestinal e os rins. A troca de iões de cálcio entre os fluidos intra e extracelulares ocorre em conjugação com o metabolismo intracelular apresentando pouco efeito sobre os seus níveis plasmáticos (Cunningham, 2007).

2.3.2.1 Absorção Intestinal de Cálcio

A absorção intestinal de cálcio é feita por difusão passiva ou por transporte activo, maioritariamente ao nível da bordadura em escova dos enterócitos nas regiões do jejuno e do ileo, sendo contudo o duodeno que apresenta a maior capacidade de absorção (Tryfonidou, van den Broek, van den Brom, & Hazewinkel, 2002). A absorção do cálcio é influenciada pelo tipo de fonte de cálcio, pela relação cálcio-fósforo existente (entre 1:1,2 a 2:1), pelo pH intestinal, pela ingestão de lactose e ainda pelos níveis de cálcio, fósforo, vitamina D, ferro, alumínio, manganésio e gordura da dieta. Em níveis de pH baixos está facilitada; é o que acontece por exemplo com: 1) a presença de lactose que promove o aumento de solubilidade do cálcio estimulando a absorção transcelular devido à hiperpolarização que induz ao nível da bordadura em escova através da redução dos níveis de sódio da mucosa; 2) pela presença de triglicéridos de cadeia longa que conduzem a um aumento do trânsito intestinal e que prolongam assim o tempo de contacto do cálcio com a

mucosa entre outros. Os compostos insolúveis de cálcio formados são eliminados pelas fezes (Hays & Swenson, 1993).

O transporte activo do cálcio é um processo transcelular, saturado regulado pelo 1,25-dihydroxycholecalciferol [1,25(OH)₂D], ou calcitriol, que é um dos metabolitos da vitamina D que estimula o movimento de cálcio para o interior do enterócito de acordo com o gradiente de concentração, que é facilitado por proteínas transportadoras localizadas no lado luminal da mucosa celular (Tryfonidou, van den Broek, van den Brom, & Hazewinkel, 2002). Este sistema de transporte torna-se mais activo quando a quantidade de cálcio na dieta é mais baixa (Cunningham, 2007). Os enterócitos possuem receptores proteicos facilitadores da entrada do calcitriol, estimulando a síntese de várias proteínas com afinidade para o cálcio e que são necessárias para a sua absorção assim como para a sua transferência para a corrente sanguínea e posteriormente para o espaço extracelular (Hays & Swenson, 1993).

Quanto à difusão passiva, trata-se de um processo paracelular e insaturado que ocorre na presença de altas concentrações de cálcio. Aqui o cálcio é absorvido ao nível do espaço intercelular através das junções firmes (*tight-junctions*), existentes entre os enterócitos. Com o avançar da idade o processo passivo aumenta em detrimento do processo activo (Tryfonidou, van den Broek, van den Brom, & Hazewinkel, 2002).

2.3.2.2 Excreção Renal de Cálcio

Maioritariamente eliminado na urina, o cálcio é reabsorvido em 98% ao longo da sua passagem por via renal, sendo eliminado apenas 2%. O glomérulo só possui capacidade para filtrar o cálcio que não se encontra ligado a proteínas sendo reabsorvido de forma passiva ao nível do túbulo proximal, e na porção medular da ansa de Henle ascendente, seguindo o gradiente estabelecido pela reabsorção de NaCl e a água sem gasto energético (Cunningham, 2007).

Quanto à sua regulação activa ela é realizada ao nível dos segmentos que estão sob influência hormonal, ou seja, do túbulo contornado distal e do túbulo colector. A acção da paratormona e do calcitriol nestes segmentos estimula a reabsorção do cálcio através de um processo mediado por uma proteína de ligação ao cálcio, a calbindina D_{28K}, produzida pela acção do calcitriol facilitando assim a entrada do cálcio luminal para o interior da célula. O cálcio intracelular por seu turno, é repostado no fluido peritubular através da acção da bomba Ca²⁺-ATPase localizada na membrana basolateral (Reece, 1993).

2.3.2.3 Hormonas Reguladoras

A regulação hormonal é essencial para garantir os níveis de cálcio extracelular em valores constantes e necessários às necessidades fisiológicas, compensando os défices existentes. Esta regulação, que influencia directamente o metabolismo ósseo, está adaptada às influências ambientais e às diferentes necessidades reveladas ao longo da vida. São 3 as hormonas que desempenham um papel fundamental na sua homeostasia: 1) a paratormona, 2) a calcitonina e 3) o calcitriol (Hazewinkel H. , 2012).

2.3.2.3.1 Paratormona

A paratormona (PTH) é um péptido de cadeia simples com 84 aminoácidos secretado pelas células principais dos 2 pares de glândulas paratiroides, localizados nos pólos craniolaterais (craniais ou externos) e dentro da superfície medial (caudais ou internos) dos dois lobos da glândula tiroide (Barber, 2004).

A sua síntese inicia-se no reticulo endoplasmático rugoso sob a forma inactiva de um pré-pró-PTH de 115 aminoácidos, que passa a pró-PTH por clivagem proteolítica de 25 aminoácidos. No complexo de Golgi a pró-PTH, vinda do reticulo endoplasmático rugoso, sofre uma degradação enzimática com remoção de mais 6 aminoácidos terminais, dando origem à forma activa da PTH com 84 aminoácidos (Dickson, 1993). A PTH possui um fragmento terminal inactivo carboxílico que garante a eficiência do processamento e transporte da hormona através do aparelho de secreção da glândula paratiroide, e que é removido por meio da filtração glomerular (Barber, 2004). Pode ser armazenada em grânulos secretores, ou secretada directamente por exocitose, e é rapidamente metabolizada pelo fígado e pelos rins apresentando um tempo de semi-vida de apenas 5 a 10 minutos (Cunningham, 2007).

A paratiroide tem à superfície da membrana das suas células um receptor sensor do ião cálcio, para os quais é agonista, detectando a concentração extracelular deste e controlando a secreção da PTH com base nos registos dos níveis séricos deste ião (Kini & Nandeesh, 2012). Baixas concentrações de cálcio ionizado, estimulam a secreção de PTH; enquanto que altas concentrações de cálcio ionizado inibem-na, estabelecendo deste modo uma relação inversa sigmoidal entre a concentração do cálcio e a secreção da hormona (Barber, 2004).

Com a finalidade de aumentar os níveis de cálcio sérico a paratormona actua, directamente sobre o metabolismo do cálcio no osso e nos rins; e indirectamente, sobre a absorção

intestinal do cálcio através da relação com o calcitriol (Cunningham, 2007). No osso a acção da PTH pode ser dividida em duas fases mediadas pelo efeito no metabolismo do AMPc: 1) uma acção osteolítica e osteocítica com estimulação da actividade reabsortiva dos osteócitos, que ocorre no sistema de Harvers e que está directamente ligada à homeostasia do mineral através da libertação do cálcio para a microcirculação óssea e desta para a superfície do endóstio, onde o ião irá ser transferido para o fluido extracelular e para a circulação; e 2) uma acção de reabsorção osteoclástica do tecido ósseo, que ocorre no osso estável com a estimulação da formação e da acção dos osteoclastos, em detrimento da formação e da actividade osteoblástica para a libertação de cálcio e também de fosfato (Dickson, 1993). Nos rins a acção da PTH é feita ao nível dos tubos contornados distais e túbulo colector para aumentar a reabsorção de cálcio, estimulando adicionalmente a enzima 1α -hidroxilase dos túbulos proximais a converter o 25-hidroxicholecalciferol em 1,25-dihidroxicholecalciferol (calcitriol) (Barber, 2004). Outro efeito da PTH é aumentar a diurese de fosfato através da diminuição da sua reabsorção nos túbulos proximais, permitindo assim uma diminuição na concentração de fosfato sérico; as concentrações de cálcio são influenciadas inversamente pelas de fosfato uma vez que existe uma relação entre eles que permanece constante. Assim, os níveis de fosfato podem influenciar, directa ou indirectamente, a secreção de paratormona (Kini & Nandeesh, 2012).

2.3.2.3.2 Calcitonina

A calcitonina é uma hormona poli-péptidica com 32 aminoácidos sintetizada e secretada pelas células parafoliculares, ou células C, localizadas no tecido intersticial entre os folículos da glândula tiróide (Dickson, 1993).

A sua síntese inicia-se sob a forma de uma pré-pró-hormona de 32 aminoácidos com uma estrutura em anel no terminal NH_2 que contém uma ponte de dissulfeto a ligar os aminoácidos 1 e 7. Encontra-se no interior da pró-hormona e requer a acção de uma enzima que irá clivar a pró-calcitonina para libertar a molécula activa. A sua secreção é feita por exocitose dos grânulos (Cunningham, 2007).

As concentrações de cálcio ionizado sérico são o principal estímulo para o controlo de calcitonina. Concentrações aumentadas de cálcio provocam o aumento da secreção de calcitonina; enquanto que os níveis diminuídos inibem-na. A calcitonina é, por isso, considerada uma hormona indutora da hipocalcémia actuando por isso de modo antagónico à PTH, ou seja, inibindo a reabsorção realizada pelos osteoclastos e a sua formação e a acção osteolítica dos osteócitos (Kini & Nandeesh, 2012). Pelo facto de possuírem

receptores para esta hormona, os osteoclastos são directamente afectados pela sua acção sofrendo retração da membrana celular, e tornando as suas vilosidades menos proeminentes, diminuindo a sua mobilidade, promovendo a separação da superfície óssea e ainda a inibição da formação enzimática lisossomal (Dickson, 1993). Assim, a calcitonina diminui o movimento de cálcio do depósito ósseo lábil para o fluido extracelular e aumenta a excreção de cálcio a nível renal inibindo a enzima 1α -hidroxilase dos túbulos proximais na conversão do 25-hidroxicholecalciferol em 1,25-dihidroxicholecalciferol (calcitriol). O efeito prolongado desta hormona devido a situações de hipercalcémia é a diminuição da linha osteoclástica a nível medular acompanhada pela diminuição dos osteoblastos e, consequentemente, a diminuição da remodelação óssea (Dickson, 1993).

2.3.2.3.3 Calcitriol

O calcitriol, ou 1,25-dihidroxicolecalciferol, é o único metabolito activo da vitamina D com capacidade biológica para regular a concentração de cálcio. Dois componentes, o ergosterol (de origem vegetal) e o 7-dihidrocolesterol (de origem animal), podem ser convertidos através da exposição solar, nas formas da vitamina D nomeadamente em: ergocalciferol (vitamina D₂) e colecalciferol (vitamina D₃). A exposição à luz ultravioleta (UV) resulta na clivagem do anel B do esteroide nas ligações C₉ e C₁₀ do 7-dihidrocolesterol, sintetizado pelas células epiteliais, originando o colecalciferol, que é uma forma biologicamente inactiva e que nos animais é insuficiente para suprir as suas necessidades (Ewan, 1993). Para ser activada, a molécula de colecalciferol sofre uma hidroxilação hepática na posição C₂₅ para formar o metabolito pouco activo denominado de calcidiol, o qual é posteriormente hidroxilado pela enzima 1α -hidroxilase na posição C₁ ou C₂₄, nas células dos túbulos proximais dos rins, e sob o controlo da PTH, para se tornar no 1,25-dihidroxicolecalciferol (Barber, 2004).

Devido à sua natureza lipídica o calcitriol é transportado no plasma ligado a uma α -globulina específica sintetizada pelo fígado denominada de transcalciferina (Cunningham, 2007). Os níveis de cálcio ionizado regulam indirectamente a síntese de calcitriol, ou seja, os níveis baixos de cálcio estimulam a secreção de PTH que por sua vez estimula a síntese renal do calcitriol, através do aumento da hidroxilação da posição C₁, para aumentar as concentrações de cálcio ionizado sérico (Barber, 2004).

O calcitriol actua a nível intestinal elevando a absorção de cálcio pela bordadura em escova, principalmente no jejuno e no íleo, através do aumento das proteínas ligadoras do cálcio e do cálcio-ATPase nos enterócitos (Dickson, 1993). Ao nível ósseo o calcitriol regula a

expressão de várias proteínas, principalmente de osteocalcina, promovendo a mineralização da matriz osteoide ao fornecer cálcio, causando de forma indirecta, a reabsorção por osteoclastos maduros através da expressão dos receptores de 1,25-dihidroxicolecalciferol nos pré-osteoclastos. A nível renal o calcitriol diminui a expressão de cálcio (Kini & Nandeesh, 2012). Nas glândulas paratiroides, ele diminui a produção de PTH através do aumento da sensibilidade da glândula à concentração de cálcio ionizado pelos receptores sensores de cálcio (Tryfonidou, et al., 2003).

2.3.3 Função do Cálcio no Organismo

Múltiplas são as funções do cálcio no organismo ao nível intracelular, como agente regulador, e extracelular, como mensageiro de ligação de sinais para a resposta celular, com principal relevância nos sistemas orgânicos vitais.

Ao nível enzimático o ião cálcio funciona como um co-factor na activação de certas enzimas pela regulação celular dos seus níveis no citosol. A baixa concentração intracelular deste ião (1000 vezes inferior à extracelular) pode ser alterada significativamente, quando a concentração extracelular aumenta. Duas características das células permitem ao cálcio actuar na regulação e na sinalização celular: 1) a capacidade da célula para aumentar ou diminuir a concentração de cálcio intracelular; 2) a presença nas células de numerosas proteínas cuja actividade é modulada pela ligação ao cálcio (Randall, Burggren, & French, 2002).

Ao nível do sistema nervoso o cálcio ionizado é responsável pela mediação de reacções pré e pós-sinápticas, como a adesão de vesículas à superfície interna da membrana plasmática, onde ocorre a exocitose de neurotransmissores como a acetilcolina, a norepinefrina e a dopamina na fenda sináptica (Iggo & Klemm, 1993). O aumento do nível intracelular do ião cálcio, controlado pela permeabilidade da membrana celular, permite aumentar a taxa de exocitose (Randall, Burggren, & French, 2002).

Ao nível dos músculos esqueléticos, o ião liga-se à troponina C, altera a molécula de tropomiosina e liberta os locais activos da actina para reagir com a miosina permitindo a contracção muscular. Uma vez que estas células não possuem canais de cálcio à sua superfície, a contracção muscular é totalmente conseguida à custa do cálcio de origem intracelular que se encontra armazenado no retículo sarcoplasmático quando a célula está em repouso, sendo posteriormente libertado para o fluido que banha o sarcómero, a favor do seu gradiente de concentração por um potencial de acção desencadeando a contracção.

Após a passagem do potencial de acção o cálcio é bombeado novamente para o interior do retículo sarcoplasmático por meio de fenómenos de transporte activo ocorrendo o relaxamento (Cunningham, 2007).

Ao nível cardíaco o ião cálcio influencia a força de contracção do miocárdio, aumentando-a, e prolonga o potencial de acção através da sua entrada nas células, devido ao aumento de permeabilidade membranar ao cálcio extracelular provocada pela acção das catecolaminas, da activação da fosforilase e da existência de canais lentos de cálcio presentes na membrana das células musculares cardíacas (Cunningham, 2007).

2.3.4 Alterações do Nível de Cálcio Sérico

A quantificação e avaliação do nível de cálcio são baseadas na titulação da concentração de cálcio total sérico que inclui as fracções ionizada, ligada a proteínas e complexada e é dependente do pH sanguíneo, do nível proteico entre outros. Com esta avaliação assume-se que a concentração de cálcio total é directamente proporcional à concentração de cálcio ionizado, o que pode conduzir a interpretações erradas na avaliação dos níveis de cálcio em condições clinicas específicas, como é exemplo, a doença renal (Schenck, Chew, Nagode, & Rosol, 2012). Por isso, a medição da concentração de cálcio ionizado é sempre a ideal quando se pretende a avaliação dos níveis do ião cálcio (Barber, 2004).

No caso de animais jovens, as concentrações de cálcio tendem a ser mais elevadas devido ao crescimento e à intensa remodelação óssea que neles ocorre (Barber, 2004). Um ligeiro aumento nas concentrações de cálcio total (<13 mg/dl), de cálcio ionizado (<1,55 mmol/L) e de fosforo (<10 mg/dl) sem manifestações clinicas, acompanhado por um aumento da fosfatase alcalina e com os níveis de ureia e creatinina normais é considerado normal (Nelson, Delaney, & Elliott, 2009).

As alterações do nível de cálcio podem reflectir um aumento ou uma diminuição em relação aos valores de referência do cálcio ionizado (1,00 - 1,45 mmol/L) ou de cálcio total (9 - 12 mg/dl), induzindo condições clinicas denominadas de hipercalcemia e hipocalcemia, respectivamente. Os valores variam de acordo com o laboratório (Shane & Irani, 2006).

Alterações nos níveis séricos de albumina ou na concentração de proteínas, podem também influenciar consideravelmente a concentração do cálcio total de acordo com uma relação linear positiva existente entre estes parâmetros, permanecendo a concentração de cálcio ionizado normal (Nelson, Delaney, & Elliott, 2009). Investigações sobre esta relação

permitiram a criação de fórmulas para ajustar os valores de cálcio total de acordo com as alterações nos níveis de albumina e proteínas totais, como as abaixo apresentadas (Barber, 2004):

- $Ca_{total} \text{ ajustado (mmol/L)} = Ca_{total} \text{ (mmol/L)} - (0,025 \times albumina \text{ (g/L)}) + 0,875$
- $Ca_{total} \text{ ajustado (mmol/L)} = Ca_{total} \text{ (mmol/L)} - (0,01 \times prot. \text{ totais (g/L)}) + 0,825$

Contudo, evidências recentes sugerem que em situações em que existe outra causa concomitante de alteração dos níveis de albumina ou proteínas totais, estas equações não corrigem correctamente os valores de cálcio total. É sugerido que, sempre que possível a avaliação de cálcio seja efectuada pela fracção ionizada, já que esta não é influenciada pelos níveis de albumina ou de proteínas totais (Barber, 2004).

As variações na concentração de cálcio pode levar a célula a modular os seus níveis intracelulares. A concentração do ião cálcio no citosol pode ser aumentada por 2 processos: 1) pela libertação de cálcio dos depósitos intracelulares, como o reticulo endoplasmático, pela acção do inositol trifosfato (*Inositol Triphosphate* - IP_3); e 2) através do influxo de cálcio ionizado, proveniente do espaço extracelular, por meio de canais de cálcio presentes na membrana celular estimulados pelo inositol tetrafosfato (*Inositol Tetraphosphate* - IP_4), fosforilados pela proteína kinase A, estimulados electricamente ou por activação do receptor. A maioria dos iões cálcio que entram na célula são rapidamente ligados, no citosol, a locais carregados negativamente nas proteínas permanecendo uma pequena porção sob a forma ionizada. Uma vez que a concentração extracelular de cálcio é, geralmente, 10^4 vezes maior que a intracelular, o gradiente electroquímico favorece a entrada de cálcio na célula. Esta pode remover o excesso de cálcio do citosol através de 2 processos: 1) transporte activo primário e secundário de iões cálcio, através da membrana plasmática, para o exterior; e 2) incorporação de iões cálcio no interior do retículo endoplasmático através da bomba de cálcio da membrana desses organelos. Existem 2 mecanismos adicionais que impedem, de forma transitória, a subida da concentração de cálcio intracelular: 1) várias proteínas citosólicas ligam-se ao cálcio impedindo-o de estar na forma activa, libertando-o quando os seus níveis descem; e 2) a mitocôndria importa cálcio para o seu interior por troca com iões H^+ (Randall, Burggren, & French, 2002).

2.3.4.1 Hipercalcemia

A hipercalcemia está presente se as concentrações de cálcio ionizado forem superiores a 1,45 mmol/L, ou as de cálcio total superiores a 12 mg/dl (Nelson, Delaney, & Elliott, 2009). Usualmente, os sinais clínicos só são visíveis quando os valores de cálcio ionizado são superiores a 1,8 mmol/L (ou 15 mg/dl de cálcio total) sendo considerado o estado do paciente crítico com valores superiores a 2,2 mmol/L (ou 18 mg/dl de cálcio total) (Schenck P. , 2010). A gravidade dos sinais clínicos depende não só da magnitude, mas também do grau de desenvolvimento e da duração da hipercalcemia. Uma alteração persistente resulta geralmente do aumento da reabsorção do cálcio ósseo a nível renal, ou do aumento da absorção intestinal do cálcio da dieta (Nelson, Delaney, & Elliott, 2009). A presença de acidose amplia os efeitos da hipercalcemia através do aumento da proporção de cálcio na fracção ionizada (Barber, 2004).

De todos os sistemas afectados, o neuromuscular, o gastrointestinal, o renal e o cardíaco são os clinicamente mais importantes. No sistema nervoso (central e periférico) pode ocorrer a redução da excitabilidade em conjugação com a redução de excitabilidade dos músculos lisos gastrointestinais o que causa letargia, anorexia, vômito, obstipação, fraqueza muscular e convulsões. A nível cardíaco pode provocar arritmias, e se for apenas aumento moderado, provoca alterações electrocardiográficas com o prolongamento do intervalo PR e o encurtamento do intervalo QT. A nível renal pode ocorrer mineralização metastática dos rins, com perda do gradiente de concentração renal e o aparecimento de *diabetes insipidus nefrogénicos* secundários com manifestações de poliúria e polidipsia (Nelson, Delaney, & Elliott, 2009).

Em casos de aumento moderado dos níveis de cálcio sérico, os sinais clínicos estão ausentes. Nos canídeos com sinais clínicos evidentes e em estado crítico a hipercalcemia, geralmente é o resultado de outra condição patológica subjacente (Schenck P. , 2010). A causa mais comum é a hipercalcemia humoral maligna, que resulta da produção tumoral de substâncias hormonais e de citocinas que promovem a actividade osteoclástica e a reabsorção renal de cálcio (Nelson, Delaney, & Elliott, 2009). Hipoadrenocorticism, hiperparatireoidismo primário, e insuficiência renal são outras causas que podem provocar aumento dos níveis de cálcio sérico (Schenck P. , 2010).

2.3.4.2 Hipocalcémia

A hipocalcemia é definida pela redução da concentração sérica de cálcio ionizado para valores inferiores a 1,0 mmol/L, ou de cálcio total para valores menores que 9 mg/dl. A gravidade dos sinais clínicos é proporcional à magnitude da condição e à variação do valor de cálcio ionizado, sendo apenas visíveis com valores de cálcio ionizado inferiores a 0,8 mmol/L (ou <6 mg/dl de cálcio total), registrando-se que os valores de cálcio total inferiores a 4,5 mg/dl são incompatíveis com a vida (Nelson, Delaney, & Elliott, 2009). Anomalias electrolíticas e no equilíbrio ácido-base, alteram a gravidade dos sinais e sintomas, os quais são exacerbados pela hipercalcémia e pela alcalose (Barber, 2004).

Os sinais mais comuns de hipocalcemia relacionam-se com o sistema neuromuscular, devido ao aumento da excitabilidade nervosa (periférica e central) que conduz a convulsões, espasmos (geralmente mais frequentes na face) e tremores musculares (os quais podem conduzir em casos crónicos, a alterações de comportamento com agressividade devido à dor resultante) (McElravy & Brunner, 2007). As convulsões por hipocalcemia, têm usualmente resolução espontânea, são iniciadas por mecanismos centrais e ocorrem em associação com o exercício ou excitação; ao contrário das verificadas na doença epileptiforme, onde o doente tende a manter a consciência. No sistema cardíaco a hipocalcemia provoca taquiarritmias, bradicardia e, no electrocardiograma, pode verificar-se prolongamento do segmento ST e do intervalo QT (Barber, 2004).

A hipocalcemia desenvolve-se após a diminuição da reabsorção de cálcio a nível ósseo ou renal; diminuição da absorção a nível gastrointestinal; aumento da formação de complexos e aumento da perda via leite materno. As causas mais comuns de hipocalcemia incluem eclampsia e hipoparatiroidismo, geralmente com sintomatologia, insuficiência renal aguda ou crónica, baixa absorção intestinal, rabdomiólise e hipovitaminose D, usualmente sem manifestações clínicas (Schenck, Chew, Nagode, & Rosol, 2012).

No Quadro 2.5 apresentam-se os sinais clínicos associados à hipercalcemia e à hipocalcemia em canídeos (Nelson, Delaney, & Elliott, 2009).

Quadro 2.5 - Sinais Clínicos Associados à Hipercalcemia e à Hipocalcemia em Canídeos

Hipercalcemia	Hipocalcemia
Poliúria/Polidipsia	Espasmos musculares localizados
Urolitíase	Tremores musculares generalizados
Fraqueza/Depressão	Ataxia
Tremores Musculares	Fraqueza/depressão/letargia
Letargia	Inapetência
Anorexia	Alterações comportamentais/excitação
Vômito	Taquiarritmias
Obstipação	Pulso fraco/Sons cardíacos abafados
Arritmias cardíacas	Abdômen tenso
Calcificação de tecidos moles	Convulsões
Convulsões	Pirexia
Pancreatite	Taquipneia
	Cataratas

3 Material e Métodos

3.1 Objectivo

O presente estudo foi realizado no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL) e no Centro de Medicina Veterinária Anjos de Assis (CMVAA) no Barreiro durante o período de Setembro de 2013 a Fevereiro de 2014 e teve como objectivo:

- 1) Verificar as diferenças nas concentrações de cálcio ionizado sérico entre canídeos que apresentem fracturas e os valores de referência.
- 2) Avaliar as variações de cálcio ionizado sérico entre canídeos que apresentem fracturas simples e canídeos que apresentem fracturas cominutivas.

3.2 Amostra

A amostra utilizada para a realização deste estudo foi constituída por 20 indivíduos ($n = 20$) da espécie *Canis familiaris* que apresentassem condições ortotraumáticas de fractura completa de membros, independente da raça e sexo.

Os critérios de inclusão foram:

- Presença de fractura completa de membro confirmada por exame radiográfico.
- Ao exame físico não apresentar sinais de outro processo patológico concomitante.
- Não haver história de processos patológicos de origem renal, endócrina ou neoplásico.
- Idade superior a nove meses.
- No caso de fêmeas inteiras não apresentaram sinais de estar em cio.
- O trauma ter ocorrido há menos de 48h

Foram excluídos do estudo os animais que não preenchiam pelo menos um dos critérios de inclusão.

Neste estudo não foi possível garantir o jejum dos animais uma vez que estes se apresentaram em situação de emergência.

3.3 Classificação da Fractura

Após a realização de exame físico objectivo, a classificação da fractura em simples ou cominutiva foi efectuada através de imagem radiográfica em 2 planos ortogonais com a utilização de estação de RX Practix 300 da PHILIPS e digitalizador Regius Model 110 S da Konica Minolta.

3.4 Recolha e Doseamento de Cálcio

A recolha de sangue para determinação da concentração de cálcio ionizado foi realizada através de uma colheita em cada indivíduo, na veia safena ou na veia cefálica assessória, em ambiente anaeróbico, utilizando um sistema de vácuo, com agulha de 22 Gauge acoplada por adaptador, para tubos com heparina de lítio (BD Vacutainer®) de 4 ml de capacidade. A heparina de lítio utilizada não excedia as 15 UI/ml de sangue. As amostras foram identificadas e armazenadas a 4°C por um período inferior a 9 horas.

Figura 3.1 - Material para Recolha de Sangue em Anaerobiose



Em seguida procedeu-se à análise do sangue total heparinizado através do aparelho i-STAT® da Abbott com o perfil analítico CG8+. Neste sistema a quantificação de cálcio ionizado é efectuada através do método do eléctrodo ião selectivo, com base na equação de Nernst, que avalia o potencial electroquímico do ião cálcio. O resultado de cálcio obtido já se encontra ajustado a pH 7,4 sendo o intervalo de referência considerado para este parâmetro entre 1,12 e 1,32 mmol/L.

No Quadro 3.1 indicam-se os parâmetros avaliados pelo cartucho CG8+ e os respectivos valores de referência.

Quadro 3.1 - Parâmetros Avaliados pelo CG8+

Parâmetros	Valores Referência	Unidades
pH	7,31 - 7,41	-
P _{CO2}	41 - 51	mm Hg
P _{O2}	35 - 50	mm Hg
BE _{ECF}	-2 - 3	mmol/l
HCO ₃ ⁻	23 - 28	mmol/l
T _{CO2}	24 - 29	mmol/l
S _{O2}	80 - 90	%
Na ⁺	138 - 146	mmol/l
K ⁺	3,5 - 4,9	mmol/l
iCa	1,12 - 1,32	mmol/l
Glucose	70 - 105	mg/dl
Htc	38 - 51	%
Hb	12 - 17	g/dl

3.5 Análise Estatística

A análise estatística dos dados recolhidos em 20 *Canis familiaris* ($n = 20$) iniciou-se pelo cálculo das características amostrais: média, desvio padrão, máximo, mínimo e mediana da variável em estudo, concentração de cálcio ionizado, assim como das restantes variáveis avaliadas pelo cartucho CG8+ para os grupos fractura (independente do tipo), fractura simples e fractura cominutiva e representação gráfica dos mesmos através de *boxplot*. O teste Shapiro-Wilk foi o utilizado para testar a normalidade dos dados para cada variável e em cada um dos 3 grupos. Sempre que a normalidade dos dados não foi rejeitada, o teste t para 1 amostra foi o usado para testar se a diferença entre o valor da concentração de cálcio ionizado no grupo fractura e os valores de referência é estatisticamente significativa. A comparação entre os valores da concentração de cálcio ionizado nos grupos fractura simples e fractura cominutiva foi feita utilizando a solução de Welsh para o teste t para 2 amostras.

Para as restantes variáveis, em cada um dos 3 grupos considerados, foi calculada a estimativa do intervalo de confiança para o parâmetro em estudo. Quando a hipótese de normalidade foi verificada a construção do intervalo foi feita com base na distribuição t; no

caso em que essa hipótese foi rejeitada a estimativa do intervalo foi obtida a partir do método não paramétrico *Sign test* (1 amostra) que não exige que os dados tenham uma distribuição simétrica.

O coeficiente de correlação de Spearman foi o utilizado para calcular o grau de associação entre a variável concentração de cálcio ionizado e as restantes variáveis.

O nível de significância 5% foi o considerado nesta análise (valores $p < 0,05$ foram considerados significativos). O valor de 95% foi o utilizado nas estimativas dos intervalos de confiança.

O Microsoft Office Excel foi utilizado para o registo e organização dos dados e todas as análises estatísticas foram realizadas com o *software* R na versão 3.0.1.

4 Resultados

4.1 Caracterização da Amostra

4.1.1 Grupo Fractura

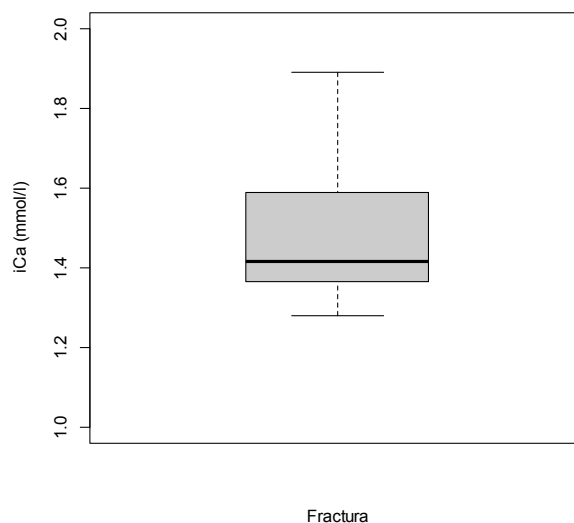
A amostra em estudo é constituída por 20 indivíduos que apresentavam fractura (simples ou cominutiva) e cujas características amostrais relativas à variável em estudo, concentração de cálcio ionizado ($[iCa^{2+}]$), se encontram descritas no Quadro 4.1.

Quadro 4.1 - Características Amostrais da Variável $[iCa^{2+}]$ no grupo Fractura
 $[iCa^{2+}]$ (mmol/L)

Grupo	Média	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo	Mediana
Fractura	1,481	0,189	1,890	1,280	1,415

Na figura 4.1 está representado o respectivo *boxplot*.

Figura 4.1 - *Boxplot* dos valores da variável $[iCa^{2+}]$ no grupo fractura.



No Quadro 4.2 estão representadas as características amostrais para os restantes parâmetros obtidos através da leitura do perfil analítico em estudo (CG8+).

Quadro 4.2 - Características Amostrais dos Restantes Parâmetros Obtidos pelo CG8+ no grupo Fractura.

Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo	Mediana
pH	7,32	0,06	7,40	7,17	7,35
P _{CO2} (mmHg)	38,64	5,93	54,80	30,40	38,00
P _{O2} (mmHg)	72,04	67,08	263,00	32,00	45,00
BE _{ECF} (mmol/L)	-3,92	2,43	-1,00	-8,00	-4,00
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	19,86	2,32	24,70	16,85	19,90
T _{CO2} (mmol/L)	21,36	2,05	26,00	17,98	21,50
S _{O2} (%)	88,68	13,16	100,00	56,00	95,20
Na ⁺ (mmol/L)	144,42	2,91	150,00	139,00	144,00
K ⁺ (mmol/L)	4,02	0,29	4,50	3,70	3,90
Glucose (mg/dl)	120,75	23,18	185,00	97,00	117,50
Htc (%)	38,65	7,81	47,00	24,00	41,50
Hb (g/dl)	13,12	2,59	16,00	8,20	13,95

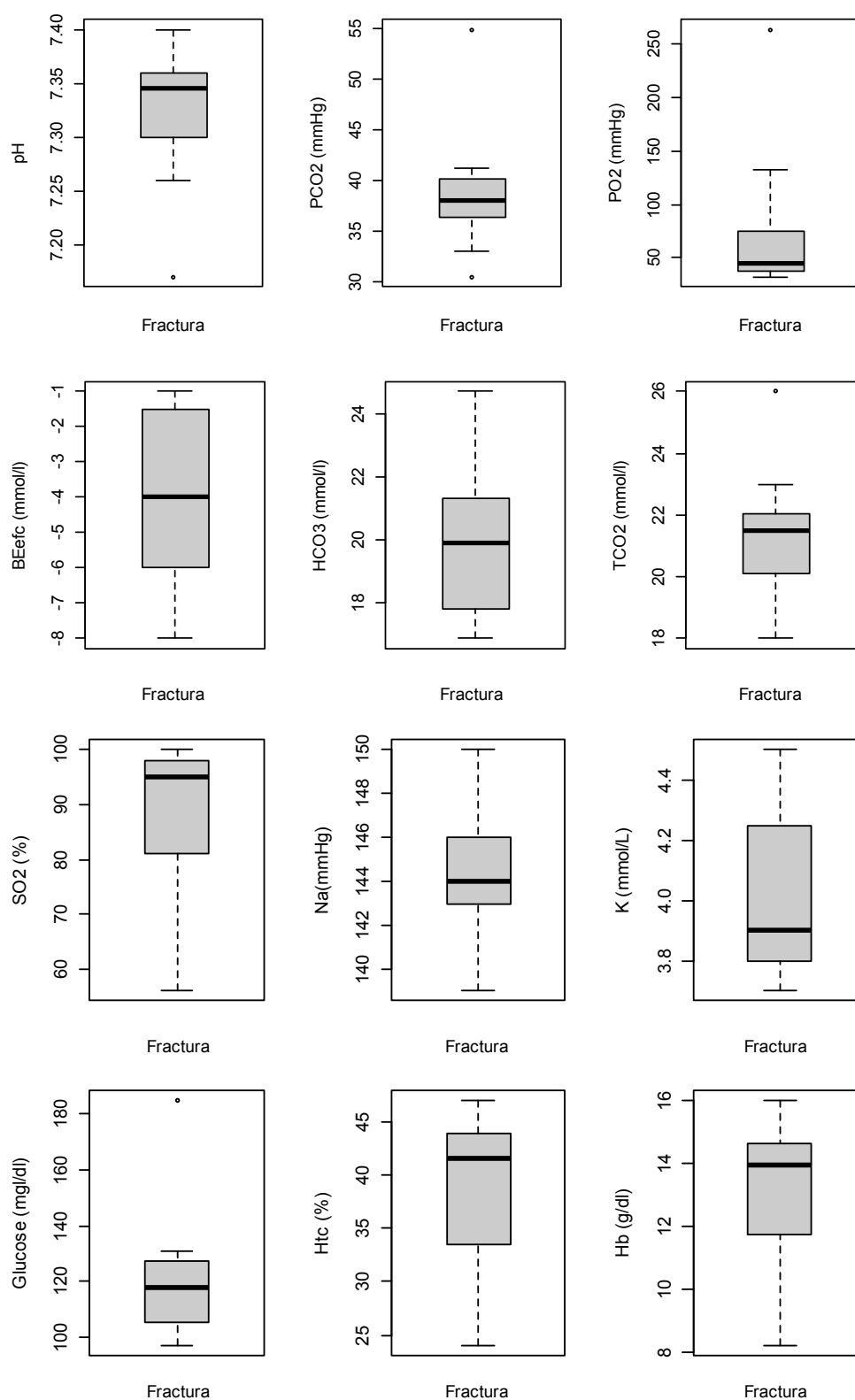
O grau de associação entre a concentração de cálcio ionizado e os restantes parâmetros obtidos foi calculado através do coeficiente de correlação de Spearman e está representado no Quadro 4.3.

Quadro 4.3 - Correlação entre [iCa²⁺] e os restantes parâmetros Obtidos pelo CG8+.

Parâmetro	iCa	p-value
pH	- 0,0866	0,7891
P _{CO2} (mmHg)	0,0404	0,9009
P _{O2} (mmHg)	- 0,5614	0,0575
BE _{ECF} (mmol/L)	0,6264	0,0293
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	- 0,3902	0,2099
T _{CO2} (mmol/L)	0,0724	0,8230
S _{O2} (%)	0,2386	0,4552
Na ⁺ (mmol/L)	0,3717	0,2342
K ⁺ (mmol/L)	0,3351	0,2869
Glucose (mg/dl)	0,0947	0,7696
Htc (%)	- 0,3746	0,2303
Hb (g/dl)	- 0,4035	0,1933

Na Figura 4.2 estão representados os *boxplots* dos valores dos restantes parâmetros obtidos pela leitura do cartucho CG8+.

Figura 4.2 - Boxplots dos valores dos restantes parâmetros no grupo fractura



4.1.2 Grupo Fractura Cominutiva e Grupo Fractura Simples

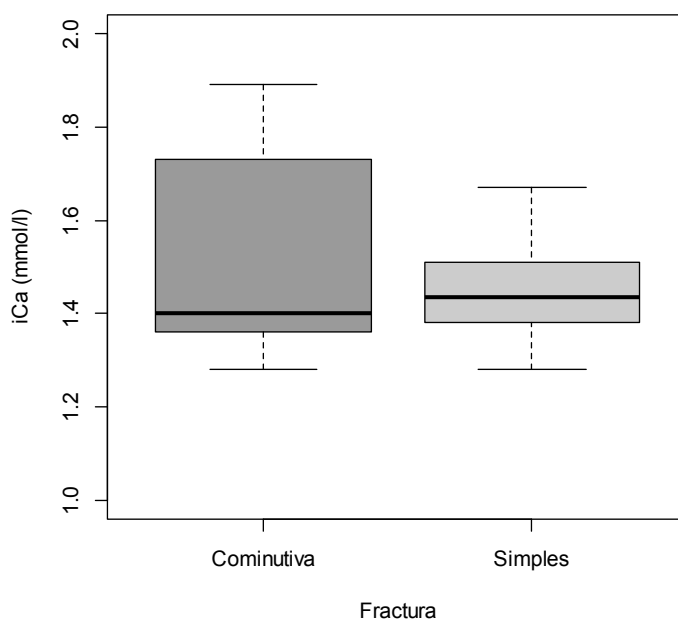
Para cada um dos grupos: Fractura Cominutiva (FC) e Fractura Simples (FS), a amostra é constituída por 10 indivíduos. As características amostrais da concentração de cálcio ionizado dos grupos FC e FS encontram-se descritas no Quadro 4.3.

Quadro 4.4 - Características Amostrais da Variável $[iCa^{2+}]$ para os grupos FC e FS.

Grupo	$[iCa^{2+}]$ (mmol/L)				
	Média	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo	Mediana
FC	1,510	0,2425696	1,890	1,280	1,400
FS	1,452	0,1331791	1,670	1,280	1,435

Na Figura 4.1 está representado o *boxplot* relativo aos dados de concentração de cálcio ionizado em cada um dos grupos.

Figura 4.3 - *Boxplot* dos valores da variável $[iCa^{2+}]$ nos grupos FC e FS.



Nos Quadros 4.4 e 4.5 estão representadas as características amostrais para os restantes parâmetros, obtidos através da leitura do perfil analítico CG8+, para o grupo FC e FS, respectivamente.

Quadro 4.5 - Características Amostrais dos Restantes Parâmetros Fornecidos pelo CG8+ no grupo FC

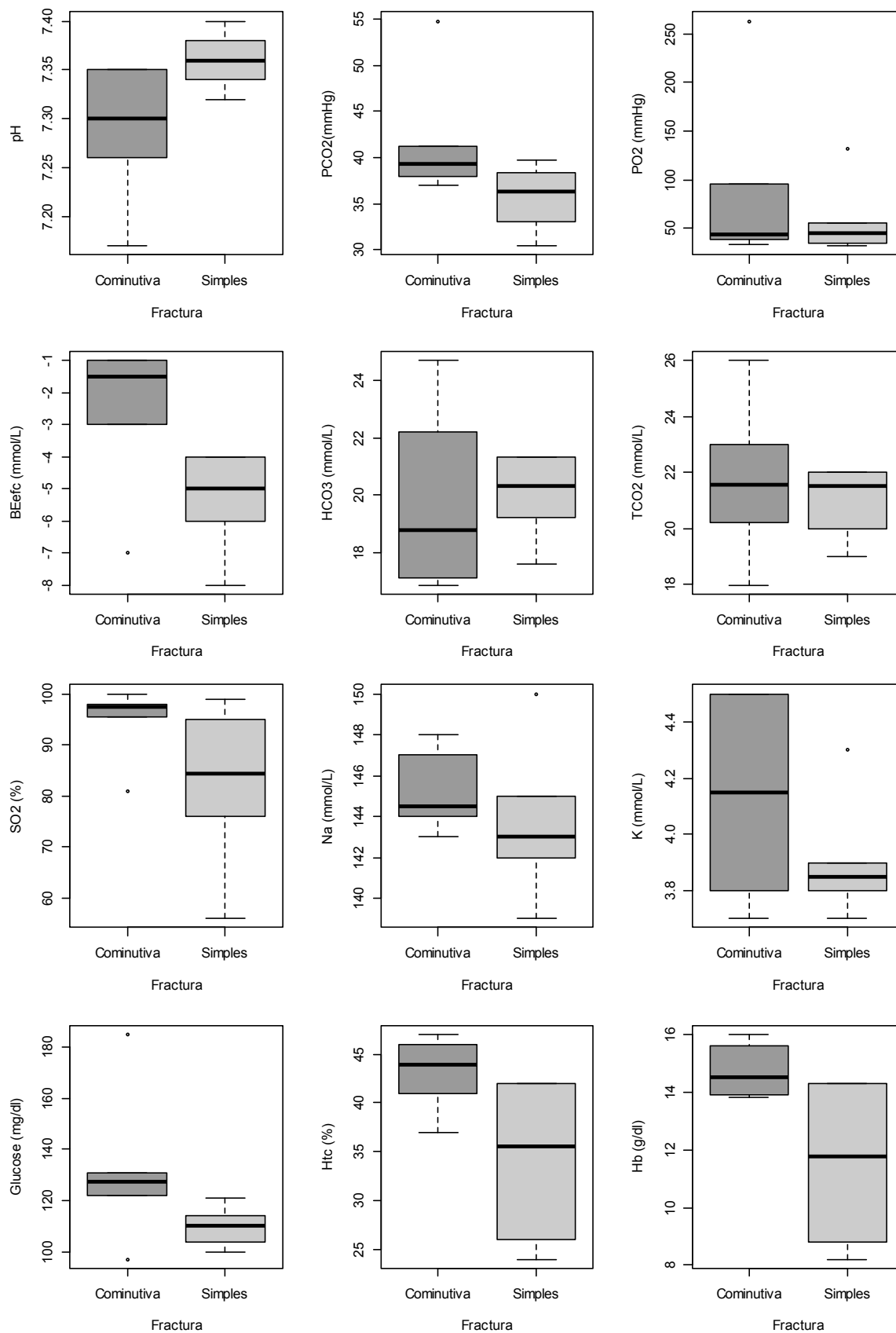
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo	Mediana
pH	7,29	0,07	7,35	7,17	7,30
P _{CO2} (mmHg)	41,58	6,67	54,80	37,00	39,25
P _{O2} (mmHg)	86,75	89,29	263,00	33,20	44,50
BE _{ECF} (mmol/L)	-2,50	2,35	-1,00	-7,00	-1,50
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	19,73	3,13	24,70	16,85	18,75
T _{CO2} (mmol/L)	21,71	2,72	26,00	17,98	21,55
S _{O2} (%)	94,87	6,96	100,00	81,00	97,40
Na ⁺ (mmol/L)	145,17	1,94	148,00	143,00	144,50
K ⁺ (mmol/L)	4,13	0,34	4,50	3,70	4,15
Glucose (mg/dl)	131,67	28,90	185,00	97,00	127,50
Htc (%)	43,13	3,84	47,00	37,00	43,90
Hb (g/dl)	14,72	0,95	16,00	13,80	14,50

Quadro 4.6 - Características Amostrais dos Restantes Parâmetros Fornecidos pelo CG8+ no grupo FS

Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo	Mediana
pH	7,36	0,03	7,40	7,32	7,36
P _{CO2} (mmHg)	35,70	3,46	39,70	30,40	36,35
P _{O2} (mmHg)	57,33	37,53	132,00	32,00	45,00
BE _{ECF} (mmol/L)	-5,33	1,63	-4,00	-8,00	-5,00
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	20,00	1,41	21,30	17,60	20,30
T _{CO2} (mmol/L)	21,00	1,26	22,00	19,00	21,50
S _{O2} (%)	82,50	15,53	99,00	56,00	84,50
Na ⁺ (mmol/L)	143,67	3,67	150,00	139,00	143,00
K ⁺ (mmol/L)	3,90	0,21	4,30	3,70	3,85
Glucose (mg/dl)	109,83	7,81	121,00	100,00	110,00
Htc (%)	34,17	8,45	42,00	24,00	35,50
Hb (g/dl)	11,52	2,79	14,30	8,20	11,75

Na Figura 4.4 estão representados os respectivos *boxplots*.

Figura 4.4 - Boxplots dos valores dos restantes parâmetros nos grupos FC e FS



4.2 Inferência Estatística

4.2.1 Grupo Fractura

Com base no teste de Shapiro-Wilk o pressuposto de normalidade da variável cálcio ionizado ($[iCa^{2+}]$) para o grupo fractura não foi rejeitado ($p=0,085$), pelo que se utilizou o teste t para uma amostra para testar se o valor da concentração de cálcio ionizado no grupo fractura difere do valor máximo de referência (1,32 mmol/L). O valor- p obtido foi de 0,001 o que permite concluir que a diferença é estatisticamente significativa. No grupo fractura, a estimativa do intervalo de confiança a 95% para o valor da concentração de cálcio ionizado é de (1,39; 1,57).

No Quadro 4.7 estão representadas as estimativas dos intervalos de confiança a 95% para os restantes parâmetros obtidos. As estimativas obtidas dos intervalos têm por base a distribuição t para uma amostra sempre que a hipótese de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) não seja rejeitada ($p>0.05$). No caso em que esta foi rejeitada ($p<0.05$) foi obtido a partir do método não paramétrico *Sign test* (uma amostra).

Quadro 4.7 - Estimativas dos intervalos de confiança a 95% para os parâmetros fornecidos pelo CG8+.

Parâmetros	Valores Referência	IC 95%	
		Inf.	Sup.
pH	7,31 - 7,41	7,30	7,35
P _{CO2} (mmHg)	41 - 51	36,08	40,42 ⁽¹⁾
P _{O2} (mmHg)	35 - 50	35,46	91,64 ⁽¹⁾
BE _{ECF} (mmol/L)	-2 - 3	-5,05	-2,78
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	23 - 28	18,78	20,95
T _{CO2} (mmol/L)	24 - 29	20,40	22,32
S _{O2} (%)	80 - 90	81,00	97,98 ⁽¹⁾
Na ⁺ (mmol/L)	138 - 146	143,06	145,78
K ⁺ (mmol/L)	3,5 - 4,9	3,88	4,16
Glucose (mg/dl)	70 - 105	104,21	127,89 ⁽¹⁾
Htc (%)	38 - 51	30,75	45,40 ⁽¹⁾
Hb (g/dl)	12 - 17	10,53	14,93 ⁽¹⁾

(1) - intervalo não paramétrico

Sempre que a estimativa do intervalo contenha valores do intervalo de referência considerado não há diferença significativa entre o valor do parâmetro no grupo fractura e o valor de referência ao nível de significância 5%.

4.2.2 Grupo Fractura Cominutiva e Grupo Fractura Simples

Com base no teste de Shapiro-Wilk o pressuposto de normalidade da variável concentração de cálcio ionizado não foi rejeitado quer para o grupo FC ($p=0,171$) quer para o grupo FS ($p=0,898$).

A comparação entre os valores de cálcio ionizado em ambos os grupos foi realizada com base na solução de Welsh do teste t para duas amostras tendo-se concluído que a diferença entre os valores nos 2 grupos não é estatisticamente significativa ($p=0,516$).

No Quadro 4.8 estão representadas as estimativas dos intervalos de confiança a 95% para os restantes parâmetros obtidos para ambos os grupos. De acordo com o anteriormente referido, a obtenção das referidas estimativas dos intervalos foi feita com base na distribuição t para uma amostra sempre que a hipótese de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) não foi rejeitada. No caso em que esta foi rejeitada foi obtido a partir do método não paramétrico *Sign test* (uma amostra).

Quadro 4.8 - Estimativa dos intervalos de confiança a 95% para os restantes parâmetros fornecidos pelo CG8+.

Parâmetros	Valores Referência	IC 95%			
		FC		FS	
		Inf.	Sup.	Inf.	Sup.
pH	7,31 - 7,41	7,24	7,34	7,34	7,38
P _{CO2} (mmHg)	41 - 51	37,10	53,44 ⁽¹⁾	33,23	38,17
P _{O2} (mmHg)	35 - 50	33,81	246,30 ⁽¹⁾	32,30	124,30 ⁽¹⁾
BE _{ECF} (mmol/L)	-2 - 3	-6,60	-1,00 ⁽¹⁾	-6,50	-4,17
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	23 - 28	17,48	21,97	18,99	21,01
T _{CO2} (mmol/L)	24 - 29	19,77	23,66	20,10	21,91
S _{O2} (%)	80 - 90	82,44	99,80 ⁽¹⁾	71,39	93,61
Na ⁺ (mmol/L)	138 - 146	143,78	146,56	141,04	146,29
K ⁺ (mmol/L)	3,5 - 4,9	3,89	4,38	3,75	4,05
Glucose (mg/dl)	70 - 105	110,99	152,34	104,25	115,42
Htc (%)	38 - 51	40,39	45,88	28,12	40,21
Hb (g/dl)	12 - 17	14,036	15,40	9,52	13,51

(1) - intervalo não paramétrico

Para cada um dos grupos, quando a estimativa do intervalo contenha valores do intervalo de referência considerado não há diferença significativa entre o valor do parâmetro e o valor de referência ao nível de significância 5%.

5 Discussão

No presente estudo foi possível quantificar a concentração de cálcio ionizado ($[iCa^{2+}]$), em indivíduos com fracturas simples e cominutivas, através da análise sanguínea realizada com aparelho iStat® utilizando o perfil analítico CG8+ que, ao fazer a leitura do pH permite obter o valor de cálcio ionizado ajustado a pH 7,4. Devido às potenciais alterações na concentração de cálcio ionizado, provocadas por variações pré-analíticas, foi essencial utilizar um método de recolha uniforme e proceder à sua análise imediata. A escolha da recolha sanguínea em tubo de vácuo permitiu reduzir as alterações no pH sanguíneo provocadas pela perda de dióxido de carbono que, a existir por exposição ao ar, eleva o pH e aumenta a afinidade das proteínas que se ligam ao ião cálcio, pelo aumento da sua carga negativa, e, consequentemente, diminuem a concentração de cálcio ionizado em circulação (Barber, 2004). A heparina de lítio numa concentração inferior a 15 U/ml foi o anticoagulante utilizado pois é o único aceite para esta medição por não se ligar ao ião cálcio interferindo na sua concentração (Stockham & Scott, 2002).

Na análise estatística deve-se ter em conta que o valor-*p* é significativamente afectado pela dimensão da amostra o que requer uma interpretação cautelosa dos resultados e, por isso, deve-se ter em atenção primeiro o significado clínico e depois o significado estatístico do resultado obtido na análise (Chan y. H., 2003).

Na caracterização da amostra do grupo fractura verifica-se que os indivíduos apresentam uma média de valores de $[iCa^{2+}]$ igual a 1,481 mmol/L que é superior ao valor máximo de referência (1,32 mmol/L) do método utilizado. Neste grupo o valor mínimo observado é de 1,28 mmol/L e o valor máximo de 1,89 mmol/L. O valor médio registado mostra que os indivíduos traumatizados apresentam em média uma condição de ligeira hipercalcemia, a qual usualmente não está associado à manifestação de sinais clínicos. O valor máximo observado no grupo fractura é superior a 1,8 mmol/L, o que de acordo com Schenck (2010), é o valor a partir do qual é esperada a ocorrência de sinais clínicos. O valor médio do parâmetro pH (7,2) encontra-se dentro dos valores de referência (7,31-7,41) e o intervalo de confiança estimado (7,30-7,35) para o grupo abrange parte do intervalo de referência. O valor médio do parâmetro bicarbonato (HCO_3^-) (19,86 mmol/L) e o valor médio do parâmetro excesso de base no fluido extracelular (BE_{ECF}) (-3,92 mmol/L) encontram-se abaixo dos valores de referência (23 mmol/L e -2 mmol/L), e o limite superior dos intervalos de confiança estimados para estes, 20,95 mmol/L e -2,78 mmol/L respectivamente, revela, com

95% de confiança, que é menor do que o mínimo de referência, indicando que existe uma situação significativa de acidose metabólica que pode ser resultante da produção em anaerobiose de ácido láctico pelas células dos tecidos afectados devido ao seu défice de perfusão e oxigenação (Kerl, 2010). No parâmetro pressão parcial de dióxido de carbono (P_{CO_2}), o intervalo de confiança estimado (36,08-40,42 mmHg) não contém os valores de referência (41-51 mmHg) revelando uma tendência para apresentar níveis menores e observando-se um valor médio de 38,64 mmHg, inferior ao mínimo de referência (41 mmHg), o que pode ser resultante de uma hiperventilação como consequência da taquipneia provocada pela sensação de dor e/ou como compensação da acidose metabólica, o que resulta numa situação de alcalose respiratória com a consequente diminuição do valor médio de dióxido de carbono total (T_{CO_2}) (21,36 mmol/L). O seu limite superior do intervalo de confiança estimado (22,32 mmol/L) é inferior ao mínimo de referência (24 mmol/L). O aumento do valor médio de pressão parcial de oxigénio (P_{O_2}) (72,04 mmHg) para níveis fora do intervalo de referência (35-50 mmHg) é resultado da hiperventilação anteriormente descrita, apesar do intervalo de confiança para este parâmetro (35,46-91,64 mmHg) conter esses valores e, por isso, a variação não ser significativa (Stockham & Scott, 2002). Apesar do intervalo de confiança (104,21-127,89 mg/dl) mostrar que não existe diferença estatisticamente significativa, o valor médio observado de glucose (120,75 mg/dl) está acima do normal (105 mg/dl) sendo, possivelmente, o resultado do aumento da secreção de catecolaminas e glucocorticoides, e da produção hepática de glucose como consequência do stress e da resposta da fase aguda, como resposta sistémica da inflamação provocado pelo trauma (Reusch, 2010). Todos os valores médios dos restantes parâmetros avaliados (percentagem de hemoglobina saturada com oxigénio (S_{O_2}), sódio (Na^+), potássio (K^+), Hematócrito (Htc) e Hemoglobina (Hb)) para os indivíduos do grupo fractura estão dentro dos valores de referência utilizados pelo método de análise aplicado e estatisticamente os intervalos de confiança estimados contêm esses valores o que indica que não existe diferença estatisticamente significativa entre os valores observados e os de referência.

No estudo da correlação entre a $[iCa^{2+}]$ e os restantes parâmetros obtidos, verifica-se que o excesso de base no fluido extracelular é o único que apresenta uma correlação estatisticamente significativa ($p=0,029$). O excesso de base no fluido extracelular é definido como a quantidade de ácido forte (mmol/L) necessária para titular o fluido extracelular a um pH de 7,4 se a pressão parcial de dióxido de carbono for de 40 mmHg a 37°C. Verifica-se que a correlação entre as variáveis referidas é positiva, o que implica que uma elevação dos valores de excesso de base provoca uma elevação dos valores da concentração de cálcio ionizado e vice-versa. Um aumento do excesso de base implica um aumento no pH devido à

presença no plasma de maior quantidade de tampão, e assim, uma maior capacidade de ligação das proteínas ao ião cálcio. Por outro lado, o ião cálcio por se dissociar completamente nos fluidos fisiológicos, tem um comportamento de catião forte e é considerado uma base porque, quando adicionado ao fluido extracelular e caso não exista uma mudança de equilíbrio de um ião forte; então o H^+ sai do fluido extracelular tornando-o mais alcalino e contribuindo assim para o parâmetro excesso de base (Stockham & Scott, 2002). A correlação dos parâmetros pH e pressão parcial de dióxido de carbono com o cálcio ionizado, apesar de não ser significativa é a esperada, ou seja, existe uma relação inversa do cálcio com o pH e uma relação directa com a pressão parcial de dióxido de carbono. No caso concreto da correlação com o pH, o valor não é significativo devido ao ajuste no valor da concentração de cálcio ionizado para pH 7,4.

Na caracterização da amostra do grupo fractura cominutiva verifica-se que os indivíduos apresentam um valor médio de concentração de cálcio ionizado de 1,510 mmol/L que é superior ao valor máximo de referência (1,32 mmol/L) do método utilizado. Neste grupo o valor mínimo observado é de 1,28 mmol/L e o valor máximo de 1,89 mmol/L. Tal como no grupo fractura, o valor médio registado mostra que os indivíduos traumatizados apresentam em média uma condição de ligeira hipercalcemia à qual usualmente não está associada a manifestação de sinais clínicos. O valor máximo observado no grupo de fractura cominutiva é superior a 1,8 mmol/L, o que de acordo com Schenck (2010) pode implicar a ocorrência de sinais clínicos. O valor médio de pH (7,29) é inferior ao valor mínimo de referência (7,31), o que juntamente com a diminuição dos valores médios de bicarbonato (19,73 mmol/L), cujo limite superior do intervalo de confiança estimado (17,48-21,27 mmol/L) é inferior ao mínimo de referência, e de excesso de base no fluido extracelular (-2,5 mmol/L) para níveis abaixo do limite mínimo de referência, 23 mmol/L e -2 mmol/L respectivamente, indica a presença de acidose metabólica. Esta pode ser resultante da produção de ácido láctico pelas células dos tecidos afectados, as quais possivelmente devido a maiores forças aplicadas das quais resultaram nas fracturas cominutivas, sofreram um maior grau de lesão com compromisso na sua oxigenação e nutrição passando a apresentar um metabolismo anaeróbico. Ao contrário do grupo fractura, aqui verifica-se que o valor médio do parâmetro pressão parcial de dióxido de carbono (41,58 mmHg) encontra-se ligeiramente acima do valor mínimo de referência (41 mmHg) e o intervalo de confiança estimado (37,10-53,44 mmHg) contém os valores de referência (41-51 mmHg), o que implica que não está presente uma situação de alcalose metabólica compensatória apesar do aumento do valor médio da pressão parcial de oxigénio (86,75 mmHg) acima do limite máximo de referência (50 mmHg), mas cujo intervalo de confiança (33,81-246,30 mmHg) contém os valores de referência (35-50 mmHg), e do limite superior do intervalo de confiança (23,66 mmol/L) do parâmetro dióxido de carbono

total ser inferior ao mínimo de referência (24 mmHg), além de serem sugestivos da ocorrência de hiperventilação e da taquipneia consequente como manifestações de dor. Apesar do intervalo de confiança estimado (82,44-99,80%) conter os valores de referência (80-90%), verifica-se que a percentagem de hemoglobina saturada com oxigénio nestes indivíduos apresenta uma média de 94,87%, superior ao valor máximo de referência (90%) que pode ser resultante do grande aumento do valor da pressão parcial de oxigénio, do qual é primariamente dependente, uma vez que está ajustado a pH 7,4 (Hawkins, 2009). Tal como no grupo fractura, a glucose apresenta nos indivíduos com fractura cominutiva, um limite inferior do intervalo de confiança estimado (110,99 mg/dl) superior ao máximo de referência (15 mg/dl) e um valor médio (131,67 mg/dl) acima do normal. Todos os valores médios dos restantes parâmetros (sódio, potássio, hematócrito e hemoglobina), avaliados para os indivíduos deste grupo, estão dentro dos valores de referência sugeridos pelo método de análise aplicado e os seus intervalos de confiança estimados, ao conterem os valores de referência, mostram não haver diferenças estatisticamente significativas entre os eles.

Na caracterização da amostra do grupo fractura simples verifica-se que os indivíduos apresentam um valor médio de concentração de cálcio ionizado de 1,452 mmol/L que é superior ao valor máximo de referência (1,32 mmol/L) do método utilizado. Neste grupo o valor mínimo observado é de 1,28 mmol/L e o valor máximo de 1,67 mmol/L. Tal como observado nos outros grupos, o valor médio de cálcio ionizado mostra uma condição de ligeira hipercalcemia cujo valor não está associado com a manifestação de sinais clínicos. Ao contrário do grupo fractura cominutiva, nenhum indivíduo com fractura simples apresenta um valor de cálcio ionizado acima de 1,8 mmol/L pelo que não será esperado a ocorrência de sinais clínicos associados a hipercalcemia, revelando assim que o valor máximo de cálcio ionizado no grupo fractura é da responsabilidade do grupo fractura cominutiva. O valor médio do parâmetro pH (7,36) e o intervalo de confiança estimado (7,34-7,38) encontram-se dentro dos valores de referência (7,31-7,41). O valor médio do parâmetro bicarbonato (20,00 mmol/L) e o valor médio do parâmetro excesso de base no fluido extracelular (-5,33 mmol/L) encontram-se abaixo dos níveis de referência, 23 mmol/L e -2 mmol/L respectivamente; tal como os limites máximos dos intervalos de confiança estimados (21,01 mmol/L e -4,17 mmol/L) o que indica que existe uma situação de acidose metabólica que tal como nos outros grupos, pode ser resultante da produção em condições de anaerobiose, de ácido láctico pelas células devido ao seu défice de perfusão sanguínea como consequência da lesão dos tecidos no trauma (Kerl, 2010). Tal como nos anteriores grupos, no parâmetro pressão parcial de dióxido de carbono observa-se um valor médio de 35,70 mmHg, inferior ao valor de referência (41 mmHg) e um intervalo de confiança estimado com um limite

máximo (38,17 mmHg) inferior ao mínimo de referência, resultante de uma hiperventilação como consequência da taquipneia o que resulta numa situação de alcalose respiratória com a consequente diminuição do valor médio de dióxido de carbono total (21,00 mmol/L), para níveis inferiores ao mínimo de referência (24 mmol/L) e cujo intervalo de confiança estimado (20,10-21,91 mmol/L) não contém esses valores, e aumento do valor médio de pressão parcial de oxigénio (57,33 mmHg) acima do máximo de referência (50 mmHg) observados neste grupo mas com um intervalo de confiança (32,30-124,30 mmHg) que contém os valores de referência (35-50 mmHg) (Stockham & Scott, 2002). À semelhança dos outros grupos, a média dos valores de glucose (109,83 mg/dl) está ligeiramente acima do normal (105 mg/dl) não havendo diferença para os valores de referência. Este grupo apresentou um valor médio de hematócrito (34,17%) e de hemoglobina (11,52 g/dl) inferiores ao mínimo de referência, 38% e 12 g/dl respectivamente, o que pode ser resultado de hemorragia provocada pelo trauma, mas cujos intervalos de confiança (28,12-40,21% e 9,52-13,51 g/dl), por conterem os valores de referência, 38-51% e 12-17 g/dl respectivamente, mostram não haver diferença significativa para os valores normais. Todos os valores médios dos restantes parâmetros, avaliados (percentagem de hemoglobina saturada com oxigénio, sódio e potássio) para os indivíduos do grupo fractura simples, estão dentro dos valores de referência utilizados pelo método de análise aplicado e os seus intervalos de confiança estimados contêm os valores de referência o que indica que não há diferença estatisticamente significativa entre o intervalo de referência e os valores obtidos para os parâmetros avaliados.

Na análise da comparação do grupo fractura com o valor máximo de referência verifica-se que a diferença entre eles é significativa ($p=0,001$) o que indica que a ocorrência de fractura eleva a concentração de cálcio ionizado para níveis superiores aos do intervalo de referência. A análise comparativa foi efectuada somente com o valor máximo de referência (1,32 mmol/L) devido a constatar-se que a média dos valores de cálcio apresentados pelos indivíduos deste grupo revela uma hipercalcemia. Com a estimativa do intervalo de confiança pode-se afirmar que os indivíduos com fractura possuem a concentração de cálcio ionizado num intervalo de valores entre 1,39 e 1,57 mmol/L em que se verifica que o máximo de referência é inferior ao mínimo estimado para este grupo.

Este resultado é importante porque revela que independentemente do tipo de fractura apresentada, o paciente deve ser sempre considerado pelo clínico como tendo uma condição de hipercalcemia. Esta condição resulta da libertação de cálcio da fracção óssea, através da degradação de hidroxapatite e da mobilização da porção solúvel, como consequência da actividade dos osteoclastos na reabsorção dos fragmentos e dos topos da fractura para aumentar a sua distância, potenciada directamente por mediadores

inflamatórios, tais como a IL-1 e o TNF- α , que advêm da inflamação aguda, completamente estabelecida nas primeiras 24 horas e responsável pelo início do processo indirecto de reparação (Ackermann, 2007).

Na comparação entre o grupo fractura cominutiva e o grupo fractura simples verifica-se que os valores da concentração de cálcio ionizado não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p=0,516$) o que indica que o tipo de fractura não tem influência nos níveis de cálcio ionizado. Ao relacionar este resultado com as características amostrais dos grupos, verifica-se que existe uma sobreposição de valores da concentração de cálcio ionizado entre ambos os grupos indicando que a elevação dos níveis séricos de cálcio em canídeos com fractura é directamente influenciada pela área dos topos expostos da fractura e possivelmente, pela magnitude da resposta inflamatória que promove a actividade osteoclástica. Apesar da diferença da variável em estudo entre estes grupos não ser estatisticamente significativa, o grupo fractura cominutiva mostra uma tendência para apresentar valores da concentração de cálcio ionizado superior ao grupo fractura simples, o que é expectável devido à possibilidade de apresentar maior área de fractura conferida pelos mais de 2 topos ósseos presentes.

6 Conclusão

Com o estudo conclui-se que os indivíduos que apresentam fracturas resultantes de situações traumáticas e sem outra patologia de base possuem valores de concentração de cálcio ionizado significativamente mais elevados do que o normal. De acordo com os resultados obtidos, o tipo de fractura (cominutiva ou simples) não contribui de forma relevante para a existência de diferenças na concentração de cálcio ionizado entre indivíduos; porém, é necessário ter em consideração o reduzido número de casos da amostra e a possibilidade de ambos os tipos de fractura apresentarem uma grande variedade de área da zona fracturada. Com base na comparação dos resultados obtidos nos grupos fractura cominutiva e fractura simples, conclui-se que a concentração de cálcio ionizado é directamente dependente da área apresentada pelos topos ósseos da fractura, existindo uma tendência para os indivíduos que apresentam fracturas cominutivas possuírem níveis de cálcio ionizado superiores aos que apresentam fracturas simples.

Estes resultados revelam que os indivíduos que apresentam na sua condição clínica fracturas ósseas, independente do tipo de fractura, devem ser sempre considerados como apresentando uma situação de hipercalcemia, a qual será o resultado da actividade osteoclástica sobre os fragmentos e topos ósseos, e que esta condição será tanto mais relevante quanto maior for a área desses fragmentos e topos. O recurso a exames complementares de diagnóstico, nomeadamente imagiológicos, permite caracterizar o tipo de fractura determinando aproximadamente a sua extensão. Os sinais clínicos associados à hipercalcemia podem não estar presentes pelo facto da concentração de cálcio ionizado não atingir um nível suficientemente alto para a sua manifestação clínica, pelo que a abordagem maioritariamente cirúrgica, requer uma especial atenção de modo a se evitar a potenciação dos riscos associados ao excesso de cálcio presente nos sistemas orgânicos, em particular no cardiovascular. De acordo com isto, deverá ser evitada a utilização de fármacos do tipo inibidores da fosfodiesterase como a amrinona e a milrinona; e de agonistas β -adrenérgicos como a adrenalina, a dopamina e a dobutamina, já que estes aumentam a entrada de cálcio extracelular na célula cardíaca durante o potencial de acção, encurtando-o e acelerando a repolarização, promovendo assim o aumento da frequência e da força de contracção cardíaca, diminuindo a pressão arterial sistémica, e provocando taquicardia e fibrilhação já que diminui o relaxamento cardíaco predispondo assim o doente para arritmias ventriculares e morte súbita.

Fármacos com propriedades hipercalcemiantes estão também contra-indicados; como é o caso dos: 1) diuréticos tiazídicos (pois, ao actuarem principalmente no túbulo contornado distal promovem hipernatúria e secundariamente, depleção de volume que promove a reabsorção de sódio e de cálcio ao nível do túbulo contornado proximal); 2) da vitamina A (pois promove a actividade de reabsorção dos osteoclastos); 3) da vitamina D (por promover a absorção intestinal de cálcio e diminuir a sua excreção renal).

Em algumas situações de hipercalcemia é possível concomitantemente a ocorrência de hipomagnesiemia, a qual surge como consequência dos níveis alterados de cálcio, e consequentemente, o aparecimento de uma hipocalémia secundária ao aumento da perda renal de potássio promovida pelos baixos níveis de magnésio. esta situação pode ser potenciada pela administração de fluidos durante o maneio da hipovolémia em que deve ser evitada a utilização de soluções que contenham cálcio, como é o caso do lactato de Ringer.

A abordagem cirúrgica destes pacientes permite na maioria dos casos, a estabilização e a aproximação dos topos e fragmentos ósseos, promovendo a reparação directa através da ocorrência de áreas de contacto e de forças compressivas, assegurando assim uma diminuição na resposta inflamatória com uma consequente diminuição da actividade osteoclástica. Uma vez que o processo inflamatório é potenciador da reabsorção, a utilização de fármacos do tipo anti-inflamatórios está também indicada na redução da acção dos factores que o promovem. A promoção da eliminação do excesso de cálcio pelo tracto urinário através do aumento da diurese pode ser efectuada pela administração de fluidos, de preferência NaCl 0,9% por não possuir cálcio, e pela administração de um diurético de ansa, a furosemida, tendo sempre em consideração a acção destes na diminuição dos níveis de outros componentes sanguíneos.

Concluindo, a ocorrência nestes pacientes de uma ligeira a moderada hipercalcemia, em função da área óssea afectada, deve ser sempre considerada mesmo na ausência de sinais clínicos, de modo a se conseguir evitar a potenciação dos factores de risco inerentes ao excesso de cálcio ionizado sérico.

Bibliografia

- Ackermann, M. R. (2007). Chronic Inflammation and Wound Healing. In M. D. McGavin, & J. F. Zachary, *Pathology Basis of Veterinary Disease 4th Edition* (pp. 153-192). Missouri, USA: Mosby Elsevier.
- Aughey, E., & Frye, F. (2001). *Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates, 1st Edition*. London, UK: Manson Publishing, Ltd.
- Barber, J. P. (2004). Investigation of Hypercalcaemia and Hypocalcaemia. In C. P. Mooney, & M. E. Peterson, *Bsava Manual of Canine and Feline Endocrinology 3rd Edition* (pp. 26-42). Gloucester, UK: BSAVA.
- Bell, N. H. (1979). Hypercalcemic and hypocalcemic disorders: Diagnosis and treatment. *Nephron* , 147.
- Bonucci, E. (2013). The Mineralization of Bone and Its Analogies with Other Hard Tissue. In S. Ferreira, *Advanced Topics on Crystal Growth* (pp. 145-184). Rijeka, Croatia: Intech.
- Boskey, A. (2007). Mineralization of Bones and Teeth. *Elements vol. 3* , 387-393.
- Bruzzaniti, A., & Baron, R. (2007). Molecular Regulation of osteoclast Activity. *Endocrinology Metabolic Disorder 7* , 123-139.
- Budras, K., & McCarthy, P. (2007). *Anatomy of the Dog 5th Edition*. Hannover, Germany: Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG.
- Butterworth, S. (2006). Long Bones - Fracture. In F. Barr, & R. Kirberger, *BSAVA Manual of Canine and Feline Musculoskeletal Imaging* (pp. 49-70). Gloucester, UK: BSAVA.
- Chan, Y. H. (2003). Biostatistics 101: Data Presentation. *Singapore Med. Journal* , 280-285.
- Chan, y. H. (2003). Biostatistics 102: Quantitative Data - Parametric and Non-parametric Tests. *Singapore med. Journal* , 391-396.
- Coughlan, A., & Miller, A. (1998). *BSAVA Manual of Small Animal Fracture Repair and Management*. Gloucester, UK: BSAVA.
- Cunningham, J. (2007). *Textbook of Veterinary Physiology 4th Edition*. St Louis, USA: Saunders Elsivier.
- Detweiler, D. K. (1993). Regulation of the Heart. In M. J. Swenson, & R. W. O., *Dukes' Physiology of Domestic Animals 11th Edition* (pp. 170-183). Cornell, USA: Cornell University Press.

- Dickson, W. M. (1993). Endocrinology, Reproduction and Lactation. In M. J. Swenson, & W. O. Reece, *Dukes' Physiology of Domestic Animals 11th Edition* (pp. 629-664). Cornell, USA: Cornell University Press.
- Ewan, R. C. (1993). Vitamins. In M. Swenson, & W. O. Reece, *Dukes' Physiology of Domestic Animals 11th Edition* (pp. 503-516). Cornell, USA: Cornell University Press.
- Feldman, E. C. (2010). Disorders of the Parathyroid Glands. In S. J. Ettinger, & E. C. Feldman, *Textbook of Veterinary Medicine 7th Edition* (pp. 1722-1750). Missouri, USA: Saunders Elsevier.
- Flo, G. L. (2002). Exame Clínico do Sistema Musculoesquelético. In O. M. Radostits, I. G. Mayhew, & D. M. Houston, *Exame Clínico e Diagnóstico em Veterinária* (pp. 448-518). Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan.
- Fossum, T. W. (2007). *Small Animal Surgery 3th Edition*. Missouri, USA: Mosby Elsevier.
- Getty, R. (1986). Osteologia Geral. In R. Getty, *Sisson e Grossman Anatomia dos Animais Domésticos 5ª edição* (pp. 19-32). Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan.
- Glimcher, M. (2006). Bone: Nature of the calcium phosphate crystals and cellular structural and physical chemical mechanisms in their formation. In N. Sahai, & M. A. Schoonen, *Medical Mineralogy and Geochemistry, Reviews in Mineralogy & Geochemistry 64* (pp. 223-282).
- Golub, E. E., & Battaglia-Boesze, K. (2007). The Role of Alkaline Phosphatase in Mineralization. *Current Opinion in Orthopaedics* , 444-448.
- Gough, A. (2007). *Differential Diagnosis in Small Animal Medicine*. Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Hawkins, E. C. (2009). Respiratory System Disorders. In R. W. Nelson, & C. G. Couto, *Small Animal Internal Medicine 4th Edition* (pp. 207-350). Missouri, USA: Mosby Elsevier.
- Hays, V., & Swenson, M. (1993). Minerals. In M. J. Swenson, & W. O. Reece, *Dukes' Physiology of Domestic Animals 11th Edition* (pp. 517-533). Cornell, USA: Cornell University Press.
- Hazewinkel, H. A., & Tryfonidou, M. A. (2002). Vitamin D3 metabolism in Dogs. *Mol. Cell Endocrinology* , 23-33.
- Hazewinkel, H. (2012). Nutritional Management of Orthopedic Diseases. In A. Fascetti, & S. Delaney, *Applied Veterinary Clinical Nutrition* (pp. 125-156). West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.
- Hoenderop, J., Nilius, B., & Bindels, R. (2005). Calcium Absorption Across Epithelia. *Physiological Reviews* 85 , 373-422.
- Houlton, J. (2006). An approach to the lame dog or cat. In J. Houlton, J. Cook, J. Innes, & S. Langley-Hobbs, *BSAVA Manual of Canine and Feline Musculoskeletal Disorders* (pp. 1-7). Gloucester, UK: BSAVA.

- Iggo, A., & Klemm, W. R. (1993). Nerves, Junctions and Reflexes. In M. J. Swenson, & W. O. Reece, *Dukes' Physiology of Domestic Animals 11th Edition* (pp. 771-786). Cornell, USA: Cornell University Press.
- Johnson, A. L. (2007). Fundamentals of Orthopedic Surgery and Fracture Management. In T. W. Fossum, *Small Animal Surgery 3th ed.* (pp. 930-1014). Missouri, USA: Mosby Elsevier.
- Junqueira, L., & Carneiro, J. (2008). *Histologia Básica, 11ª Edição*. Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan.
- Kerl, M. E. (2010). Acid-Base, Oxymetry, and Blood Gas Emergencies. In S. J. Ettinger, & E. C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine 7th Edition* (pp. 467-471). Missouri, USA: Sauders Elsevier.
- Kini, U., & Nandeesh, B. N. (2012). Physiology of Bone Formation, Remodeling and Metabolism. In I. Fogelman, G. Gnanasegaran, & H. Wall, *Radionuclide and Hybrid Bone Imaging* (pp. 29-57): Springer.
- Kirberger, R. (2006). Bones - General. In F. Barr, & R. Kirberger, *BSAVA Manual of canine and Feline Musculoskeletal Imaging* (pp. 9-18). Gloucester, UK: BSAVA.
- Lauten, S., Cox, N., Brawner, W., Goodman, S., Hathcock, J., Montgomery, R., et al. (2002). Influence of dietary calcium and phosphorus content in a fixed ratio on growth and development in Great Danes. *Animal Journal of Veterinary Research* , 1036-1047.
- Lustoza, M. D., Kogika, M. M., Lazaretti, P., & Mirandola, R. (2005). Avaliação dos valores séricos de cálcio ionizado pelo método electrodo ion seletivo em cães hígidos. *Arq. Bras. Medicina Veterinária e Zootecnia* , 177-180.
- McElravy, B. L., & Brunner, J. D. (2007). Diagnosing and Treating Primary Hypoparathyroidism in Dogs and cats. *Journal of Veterinary Medicine* , 99-108.
- Neiger, R. (2011). Calcium haemostasis - assesment and therapy. *Proceedings of the European Veterinary Conference Voorjaarsdagen*, (pp. 107-109). Amsterdam, Netherlands.
- Nelson, R. (2009). Endocrine Disorders. In R. W. Nelson, & C. G. Couto, *Small Animal Internal Medicine 4th Edition* (pp. 695-850). Missouri, USA: Mosby Elsevier.
- Nelson, R. W., Delaney, S., & Elliott, D. A. (2009). Metabolic and Electolyte Disorders. In R. W. Nelson, & C. G. Couto, *Small Animal Internal Medicine 4th Edition* (pp. 851-884). Missouri, USA: Mosby Elsevier.
- O'Connor, J., Manigrasso, M., Kim, B., & Subramanian, S. (2014). Fracture Healing and Lipid Mediators. *Bonekey Reports* , 517.
- Orimo, H. (2010). The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in health and disease. *J Nippon Med Sch* , 4-12.
- Piermattei, D., Flo, G., & DeCamp, C. (2006). *Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair, 4th Edition*. Missouri, USA: Saunders Elsevier.

- R Core Team (2013). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. Viena, Austria: URL <http://www.R-project.org>.
- Randall, D., Burggren, W., & French, K. (2002). *Eckert Animal Physiology Mecanisms and Adaptations 5th Edition*. Nwe York, USA: W. H. Freeman and Company.
- Rao, P. V. (1998). *Statistical Research Methods in the Life Sciences*. Pacific Grove, USA: Duxbury Press.
- Reece, W. O. (1993). The Kidneys. In S. M. J., & W. O. Reece, *Dukes' Physiology of Domestic Animals 11th Edition* (pp. 573-603). Cornell, USA: Cornell University Press.
- Reusch, C. (2010). Canine Diabetes Mellitus. In S. J. Ettinger, & E. C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine 7th Edition* (pp. 1782-1795). Missouri, USA: Saunders Elsevier.
- Sadler, T. W. (2004). *Langman's Medical Embryology, 9th Edition*. Philadelphia, USA: Lippincott, Williams and Wilkins.
- Schenck, P. A., Chew, D. J., Nagode, L. A., & Rosol, T. J. (2012). Disorders of calcium: hypercalcemia and hypocalcemia. In S. P. DiBartola, *Fluid, Electrolyte and Acid-base disorders in Small Animal Practice 4th edition* (pp. 120-194). St Louis, USA: Sanders Elsevier.
- Schenck, P. (2010). Electrolyte Disorders: Ca-P and Mg. In S. J. Ettinger, & E. C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine 7th Edition* (pp. 299-314). Missouri, USA: Saunders Elsevier.
- Shane, E., & Irani, D. (2006). Hypercalcemia: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Differential Diagnosis, and Management. *American Society for Bones and Mineral Research* , 176-242.
- Sherry, T. M. (1998). Fracture Healing. In A. Coughlan, & A. Miller, *BSAVA Manual of Fracture Repair and Management* (pp. 29-35). Gloucester, UK: BSAVA.
- Sinowatz, F. (2010). Musculo-Skeletal System. In P. Hyttel, F. Sinowatz, & M. Vejlsted, *Essentials of Domestic Animal Embryology, 1st Edition* (pp. 286-316). China: Saunders Elsevier.
- Stockham, S. L., & Scott, M. A. (2002). *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Takeuchi, A., Ohtsuki, C., Miyazaki, T., Kamitkahara, M., Ogata, S., Yamazaki, M., et al. (2005). Heterogeneous nucleation of hydroxyapatite on protein: structural effect of silk sericin. *Journal of The Royal Society Interface* , 373-378.
- Tilley, L. P., & Smith Jr, F. (2008). *Blackwell's Five Minute Veterinary Consult: Canine and Feline 4th Edition*. Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Tryfonidou, M. A., Holl, M. S., Oosterlaken-Dijksterhuis, M. A., Vastenburg, M., van den Brom, W. E., & Hazewinkel, H. A. (2003). Growth Hormone modulates cholecalciferol metabolism with moderate effects on intestinal mineral absorption and specific effects on

- bone formation in growing dogs raised on balanced food. *Domestic Animal Endocrinology* , 155-174.
- Tryfonidou, M. A., Holl, M. S., Stevenhagen, J. J., Buurman, C. J., Deluca, H. F., Oosterlaken-Dijksterhuis, M. A., et al. (2003). Dietary 135-fold cholecalciferol supplemation severely disturbs the endochondral ossification in growing dogs. *Domestic Animal Endocrinology* , 265-285.
- Tryfonidou, M. A., Holl, M. S., Vastenburg, M., Oosterlaken-Dijksterhuis, M. A., Birkenhäger-Frenkel, D. H., van den Brom, W. E., et al. (2003). Hormonal regulation of calcium homeostasis in two breeds of dogs during growth at diferent rates. *Journal of Animal Science* , 1568-1580.
- Tryfonidou, M. A., Stevenhagen, J. J., van den Bermd, G. J., Oosterlaken-Dijksterhuis, M. A., DeLuca, H. F., Mol, J. A., et al. (2002). Moderate Cholecalciferol Supplementation Depresses Intestinal Calcium Absorption in Growing Dogs. *Journal of Nutrition* , 2644-2650.
- Tryfonidou, M. A., van den Broek, J., van den Brom, W. E., & Hazewinkel, H. A. (2002). Intestinal Calcium Absorption in Growing Dogs is Influenced by Calcium intake and Age but not by Grow Rate. *Journal of Nutrition* , 3363-3368.
- Wasserman, R. H., Kallfelz, F. A., & Lust, G. (1993). Bones, Joints and Synovial Fluid. In M. J. Swenson, & W. O. Reece, *Dukes' Phyology of Domestic Animals, 11th Edition* (pp. 536-564). Cornell, USA: Cornell University Press.
- Weisbrode, S. E. (2007). Bones and Joints. In M. D. McGavin, & J. F. Zachary, *Pathology Basis of Veterinary Disease 4th Edition* (pp. 1041-1108). Missouri, USA: Mosby Elsevier.
- Wuthier, R. E. (2011). Matrix Vesicles: Struture, composition, formation and Function. *Biosciences* 16 , 2812-2902.

Anexo

Relatório da casuística acompanhada durante o estágio curricular

1. INTRODUÇÃO

No seguimento da conclusão do estágio final do curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária é elaborado o presente relatório com a finalidade de apresentar os resultados das actividades desenvolvidas.

As actividades de estágio, sob a orientação do Professor Miguel Carreira, tiveram lugar no Centro de Medicina Veterinária Anjos de Assis (CMVAA), com a duração de dois meses, e no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária (FMV-UL), com a duração de quatro meses, perfazendo um total de seis meses.

O estágio teve como finalidade consolidar e ampliar conhecimentos na área de medicina e cirurgia de animais de companhia e exóticos, contactar com a realidade profissional diária e fazer a introdução prática do papel socio-económico do médico veterinário na sociedade.

A apresentação dos resultados está dividida em três grandes áreas: Patologia Médica, Patologia Cirúrgica e Medicina Preventiva. A Medicina Laboratorial e Imagem, áreas complementares às anteriormente referidas e que permitem fundamentar e solidificar diagnósticos através de meios complementares, não serão alvo de análise neste trabalho apesar de terem sido observadas.

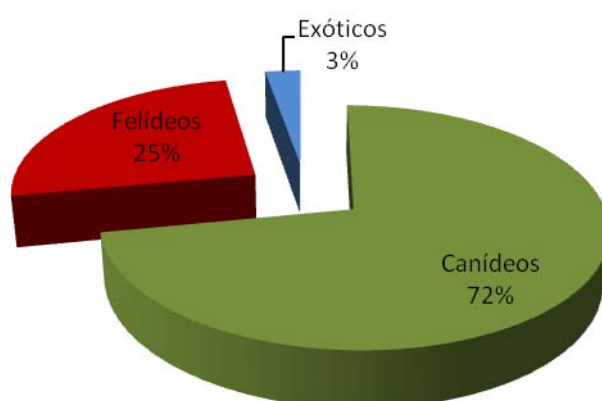
Os valores apresentados são o resultado do tratamento estatístico dos dados recolhidos durante a duração do estágio nas áreas acima referidas.

2. DESCRIÇÃO DAS ACTIVIDADES

O Quadro 1 e a figura 1 apresentam, respectivamente, as frequências relativas das três áreas observadas e as frequências relativas das espécies observadas na totalidade do período de estágio.

Quadro 1 - Distribuição de Áreas Observadas	
Área	Freq. Relativa (%)
Patologia Médica	64,50
Patologia Cirúrgica	8,76
Medicina Preventiva	26,74
Total	100,00

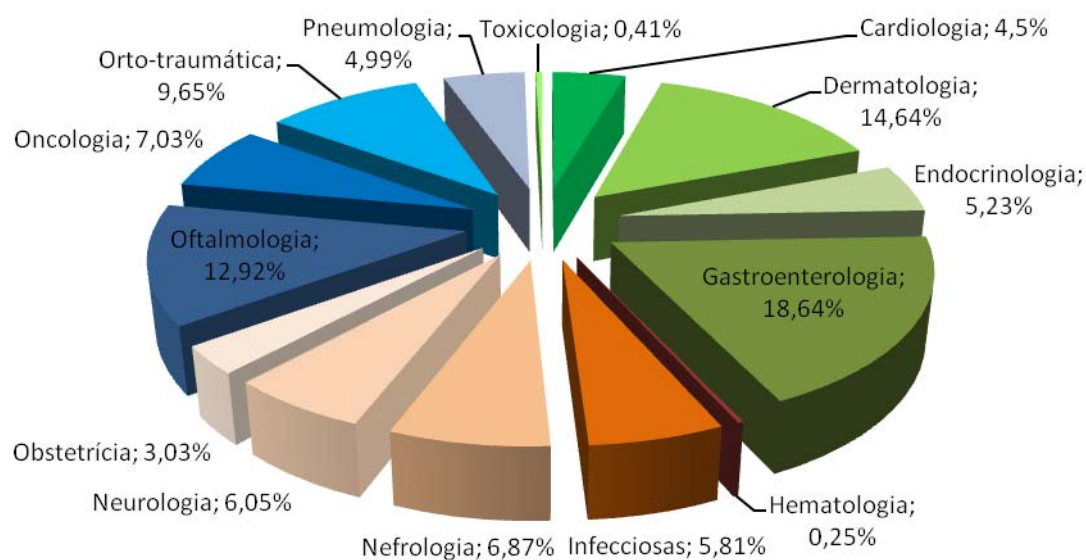
Fig. 1 - Distribuição da Espécie nas Totalidade das Áreas



Da análise dos dados conclui-se que a área com mais expressividade na actividade clínica é a patologia médica sendo os canídeos a espécie mais observada.

2.1. Patologia Médica

A apresentação dos dados de Patologia Médica é elaborada de acordo com a frequência relativa de observações de casos nas áreas de actuação clínica representada na figura 2 e de acordo com a frequência de observações de cada espécie, em função da área, descrita no quadro 2.

Fig. 2 - Distribuição das Observações por Área Médica

Quadro 2 - Distribuição da Espécie em Função da Área Médica

Área Médica	Frequência Relativa (%)		
	Canídeos	Felídeos	Exóticos
Cardiologia	92,73	7,27	0,00
Dermatologia	77,65	15,08	7,26
Endocrinologia	78,13	21,87	0,00
Gastroenterologia	75,88	20,61	3,51
Hematologia	33,33	66,67	0,00
Infecciosas	54,93	45,07	0,00
Nefrologia	32,14	67,86	0,00
Neurologia	79,73	18,92	1,35
Obstetrícia	81,08	18,92	0,00
Oftalmologia	69,62	26,58	3,8
Oncologia	60,47	38,37	1,16
Orto-traumática	77,12	17,80	5,08
Pneumologia	47,54	50,82	1,64
Toxicologia	71,43	28,57	0,00
Total	69,99	27,23	2,94

Verifica-se que a gastroenterologia é a valência com maior expressividade na área de patologia médica sendo os canídeos a espécie com maior representatividade tanto nesta valência como no total da área de patologia médica.

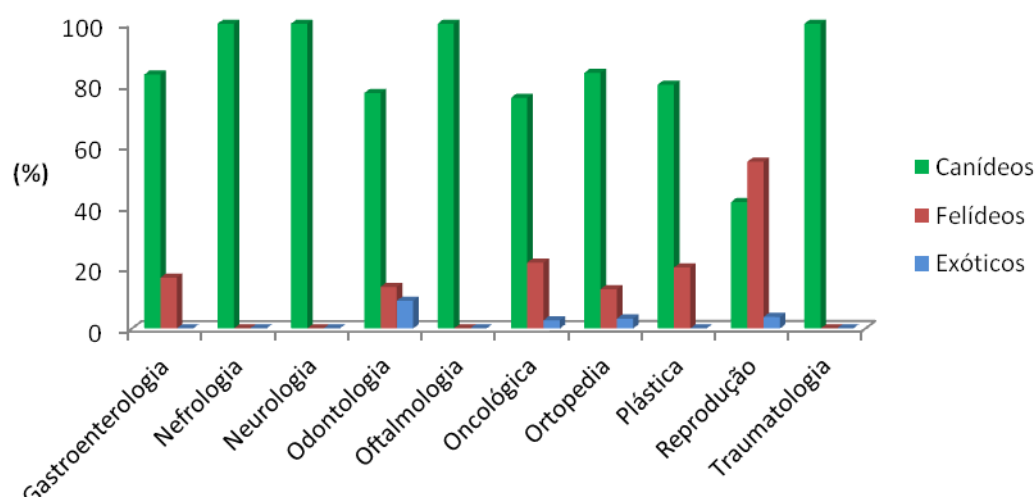
2.2. Patologia Cirúrgica

O Quadro 3 e a figura 3 apresentam as frequências relativas das áreas observadas em patologia cirúrgica e da representatividade de cada espécie em função da área, repectivamente.

Quadro 3 - Observações por Área Cirúrgica

Área Cirúrgica	Freq. Relativa (%)
Gastroenterologia	3,61
Nefrologia	2,41
Neurologia	0,60
Odontologia	13,25
Oftalmologia	2,41
Oncológica	22,29
Ortopedia	18,67
Plástica	3,01
Reprodução	31,93
Traumatologia	1,81
Total	100,00

Fig. 3 - Distribuição da Espécie em Função da Área Cirúrgica



Da análise dos dados apresentados conclui-se que a valência de reprodução é a mais expressiva em patologia cirúrgica sendo os felídeos a espécie mais representada nessa área. Na totalidade dos casos de patologia cirúrgica os canídeos são a espécie com maior representatividade.

2.3. Medicina Preventiva

Através dos Quadros 4, 5 e 6 descreve-se a distribuição de acções de medicina preventiva, em que a vacinação é a mais praticada, e a representatividade da espécie em cada acção, em que os canídeos são sempre os mais representativos.

Quadro 4 - Distribuição da Espécie em Função da Área de Medicina Preventiva

Acção	Espécie	Freq. Relativa (%)	Total (%)
Vacinação	Canídeos	78,55	59,76
	Felídeos	20,79	
	Exóticos	0,66	
Desparasitação	Canídeos	76,77	39,06
	Felídeos	19,19	
	Exóticos	4,04	
Identificação Electrónica	Canídeos	100,00	1,18
	Felídeos	0,00	
	Exóticos	0,00	

Quadro 5 - Distribuição do Tipo de Vacina em Função da Espécie

Espécie	Tipo de Vacina	Freq. Relativa (%)
Canídeos	Polivalente	54,62
	Raiva	37,39
	Canileish	7,98
Felídeos	Polivalente	49,21
	Leucemia	7,94
	Poli + Leuc.	42,86
Exóticos	Polivalente	100

Quadro 6 - Distribuição da Espécie em Função do Tipo de Desparasitação

Desparasitação	Espécie	Freq. Relativa (%)	Total
Interna	Canídeos	74,05	66,16
	Felídeos	21,37	
	Exóticos	4,58	
Externa	Canídeos	82,09	33,84
	Felídeos	14,93	
	Exóticos	2,99	