

USO DE CONCENTRADOS DE TROMBÓCITOS AUTÓLOGOS NO PROCESSO DE CONSOLIDAÇÃO DE OSTEOTOMIA DE ULNA EM CODORNA-DOMÉSTICA (*Coturnix coturnix japonica*)

Mariana Ferreira Feyh¹, Andréa Martins Costa¹, Bruna Paz Pilar¹, Gabriella Ruszkowski da Rocha¹, Paola Cardoso de Brum Pereira¹; Ana Paula Morel²; Raqueli Teresinha França³; Carine Corsine³; Bruna Zafalon da Silva (Msc.)⁴

RESUMO

Afecções ortopédicas em medicina de aves são comuns, sendo abordagens conservadoras e cirúrgicas são descritas para tratamento de fraturas. Acelerando o processo de cicatrização tecidual e reparo, é descrito na literatura o uso de concentrados de plaquetas, todavia não foram encontrados estudos que abordam a utilização desta técnica em aves. Partindo deste contexto este estudo tem como objetivo comparar o tempo de consolidação óssea utilizando membrana de fibrina rica em trombócitos e leucócitos (L-TRF) com a fibrina rica em trombócitos líquida (I-TRF), sendo ambas autógenas, aplicadas após osteotomia de ulna em codorna-doméstica (*Coturnix coturnix japonica*). Concluiu-se que a utilização de concentrados de TRF em codornas-domésticas pode oferecer importante contribuição para o avanço das técnicas ortopédicas em aves, acelerando o processo de consolidação óssea, reduzindo o tempo de reabilitação em aves domésticas e silvestres.

Palavras-chave: trombócitos, ortopedia, aves

INTRODUÇÃO

Em medicina de aves, afecções ortopédicas são rotineiras, ocorrendo tanto em aves mantidas sob cuidados humanos, quanto em aves de vida livre, sendo estas, na sua grande maioria, acometidas por traumas ocasionados por interações antrópicas de ação direta ou indireta (FERNANDES, 2019; ZAFALON-SILVA, 2019). Diversas técnicas conservadoras e cirúrgicas são

¹ Bolsistas do projeto, alunas de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

² Anestesista volante de Animais Silvestres

³ Docentes da Universidade Federal de Pelotas

⁴ Docente no curso de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

relatadas para o tratamento de fraturas em aves, sendo a escolha da técnica adequada desafiadora, devido aos aspectos biológicos, mecânicos e, principalmente, clínicos de cada espécie (ROMERO-CANO *et al.*, 2013; TEXEIRA *et al.*, 2017; ZIJLSTRA & REDIG, 2001).

Neste contexto, a escolha do tratamento cirúrgico através da osteossíntese pode ser complexo, devido às características evolutivas dos ossos das aves quando comparadas com as técnicas descritas para mamíferos (FERRIGNO *et al.*, 2014; GROSSET *et al.*, 2019; HELMER & REDIG, 2005), sendo necessários novos estudos em modelos experimentais abrangendo diversas categorias de tamanho de aves, considerando variações de peso. Dentre os implantes indicados para o tratamento de fratura em aves, destaca-se o uso de implantes leves, externos ou internos, onde podemos citar o uso de pinos intramedulares (PIM) e/ou fixadores esqueléticos externos (FEE), hastes bloqueadas, placas ósseas e etc (DONCASTER *et al.*, 2019; EROL *et al.*, 2013; GULL *et al.*, 2012; OROSZ & ZIELEZINSKI, 2004).

Concomitante a estabilização ortopédica, acelerando o processo de cicatrização tecidual e reparo é descrito na literatura o uso concentrado de plaquetas, como o plasma rico em plaquetas ou trombócitos (PRP: Platelet-rich plasma ou PRT: Trombocyte-rich plasma) e uso mais moderno da fibrina rica em plaquetas ou trombócitos (PRF: Platelet-rich fibrin ou TRF: Thrombocyte-rich fibrin). Nos concentrados de plaquetas e trombócitos estima-se que contagem destes componentes estejam acima do valor basal, sendo aproximadamente 2 a 5 vezes maior que o parâmetro fisiológico (CHOUKROUN *et al.*, 2006; DOHAN *et al.*, 2006; PAVLOVIC *et al.*, 2021).

Nas aves as plaquetas são nucleadas, caracterizadas como trombócitos, essas células são encontradas em grande quantidade no sangue das aves, perdendo somente para as hemácias. Os trombócitos possuem funções semelhantes a plaquetas dos mamíferos, como a coagulação sanguínea e resposta imunológica. Nos mamíferos, as plaquetas secretam moléculas antimicrobianas e citocinas que modulam a resposta inflamatória. A citocina pró-inflamatória, as interleucinas e o fator de crescimento transformador de citocina anti-inflamatória (TGF) - β são exemplos de tais moléculas importantes na

¹ Bolsistas do projeto, alunas de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

² Anestesista volante de Animais Silvestres

³ Docentes da Universidade Federal de Pelotas

⁴ Docente no curso de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

sinalização celular e indução da regeneração tecidual lesionada. Segundo autores, é descrito que os trombócitos expressam transcritos constitutivamente para as citocinas pró e anti-inflamatórias, além daqueles associados com respostas antivirais e apresentação de antígeno e que são capazes de produzir interleucinas (IL) - 1 β , IL-6 e IL8 em grande quantidade. Neste contexto, ao que tange a regeneração óssea, algumas interleucinas são importantes na sinalização e modulação de respostas celulares, com a indução da consolidação óssea e seu remodelamento (CHOUKROUN *et al.*, 2006).

Assim, alguns pesquisadores descrevem a obtenção do plasma rico em trombócitos e da membrana de fibrina rica em trombócitos e leucócitos (L-TRF) para algumas espécies (BERTOLETTI, 2015; CARMONA, *et al.*, 2007; FERNANDES *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2012), todavia não foram encontrados estudos que utilizam os concentrados de trombócitos como acelerador do processo de consolidação óssea em aves. Estudos neste âmbito podem impactar positivamente as condutas clínico cirúrgicas das aves de vida livre traumatizadas e/ou mantidas sob cuidados humanos, reduzindo assim o tempo de permanência em tratamento de reabilitação ortopédica.

Neste contexto, o objetivo deste projeto é avaliar a consolidação óssea mediante a utilização de concentrados de fibrinas ricas em trombócitos e leucócitos em ulna de codornas-domésticas. O desenvolvimento deste projeto de pesquisa é de suma importância para inferir a utilização destes concentrados na rotina de atendimento ortopédico de aves, sendo uma ferramenta de fácil obtenção e de baixo custo. Os dados obtidos poderão servir como um referencial teórico para estudos pré-clínicos e para o aprimoramento das técnicas cirúrgicas existentes, auxiliando nas decisões relacionadas às condutas clínico-cirúrgicas no tratamento de fraturas em aves domésticas e silvestres.

MÉTODOS

O experimento foi previamente analisado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPeI. Serão utilizadas 30 codornas-domésticas

¹ Bolsistas do projeto, alunas de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

² Anestesista volante de Animais Silvestres

³ Docentes da Universidade Federal de Pelotas

⁴ Docente no curso de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

(*Coturnix coturnix japonica*), fêmeas, adultas em início de fase reprodutiva (60 dias de vida), com peso médio 160g, obtidas de criadouro comercial. Os animais serão inicialmente aclimatados durante 10 dias em gaiolas coletivas com no máximo 4 animais. O experimento será realizado nas instalações do bloco de ensino do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Pelotas. Após o período de aclimação os animais serão submetidos a avaliação clínica individual pré-operatória, seguida de hemograma completo com contagem de trombócitos, marcadores bioquímicos e radiografia da região de rádio e ulna direita nas projeções mediolateral e caudocranial. Para a padronização das coletas de I-TRF e L- TRF serão utilizadas 20 codornas e cada grupo terá 10 animais, submetidos a somente coleta de sangue venoso.

Após a padronização da técnica para obtenção dos concentrados, para o experimento, 30 codornas serão distribuídas de forma randomizada, por meio de sorteio, em três grandes grupos (10 animais por grupo). Todas as aves serão submetidas a osteotomia da ulna direita e na sequência estabilização por pino intramedular, entretanto, no Grupo 0 (G0) o grupo controle, será aplicado apenas solução salina sobre a osteotomia, no Grupo 1 (G1) será depositada uma membrana de fibrina rica em trombócitos e leucócitos (L-TRF) e Grupo II (GII) administrada fibrina rica em trombócitos líquida (I-TRF). Serão realizados exames radiográficos, mediante contenção física, nas projeções mediolateral e caudocranial da ulna direita aos 7, 14, 21 e 30 dias de pós-operatório, sendo todos realizados com mesmo regime radiográfico.

Para análise das imagens radiográficas será utilizada a tabela proposta por Ehrhart *et al.* (2005) e adaptada por Boos (2017) e Gutierrez (2017) para *Gallus gallus domesticus*, onde três avaliadores estabeleceram escore de pontuação final, obtendo-se valor médio para fins de análise estatística nas variáveis (Tabela 1): qualidade da linha de osteotomia, impressão global da consolidação óssea, qualidade óssea, fixação do pino intramedular e escore final (somatório de todos os pontos obtidos nas variáveis).

RESULTADO E DISCUSSÃO

¹ Bolsistas do projeto, alunas de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

² Anestesista volante de Animais Silvestres

³ Docentes da Universidade Federal de Pelotas

⁴ Docente no curso de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

O estudo será realizado na Universidade Federal de Pelotas, tendo em vista a aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA). Durante a submissão do projeto para a CEUA- UniRitter, houve divergência entre avaliadores, e o projeto foi submetido a diferentes avaliações com diligências repetitivas e incoerentes com os objetivos do estudo. Devido a isto, o projeto foi submetido a CEUA-UFPeI, tendo a aprovação e será executado pela docente e bolsistas durante o período de férias acadêmicas.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a utilização de concentrados de fibrina rica em plaquetas e leucócitos em codornas-domésticas pode oferecer importante contribuição para o avanço das técnicas ortopédicas em aves. Esta abordagem, que se caracteriza pelo baixo custo e fácil aplicação, apresenta grande potencial para acelerar a consolidação óssea, reduzindo o tempo de reabilitação, assim como aprimorar as condutas clínicas e cirúrgicas em aves domésticas e silvestres.

REFERÊNCIAS

- BERTOLETTI, B. Plasma rico em plaquetas na cicatrização cutânea de gatos: padronização de técnica e aplicação clínica. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 94f. 2015
- CARMONA, J. U.; ARGÜELLES, D.; CLIMENT, F. et al. Autologous platelet concentrates as a treatment of horses with osteoarthritis: a preliminary pilot clinical study. J. Equine Vet. Sci., v. 27, p. 167-170, 2007
- CHOUKROUN, J., DISS, A., & SIMONPIERI, A. Platelet-rich fibrin(PRF): a second generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Rad Endod., V.101, pp. 299-303, 2006.
- DOHAN, D. M., CHOUKROUN, J., DISS, A., DOHAN, S. L., DOHAN, A. J. J., MOUHYI, J. AND GOGLY, B. : Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. v101, pp.37–44. 2006
- DONCASTER, CP; SHEPHERDSON, DJ; WOODGATE, SL; INWOOD, AJ; HAWKINS, P. Fracture healing in wild birds: a comparative study of pin and cage rest versus no intervention in pigeons (Columba livia). Veterinary Records.v185(10):312 2019

¹ Bolsistas do projeto, alunas de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

² Anestesista volante de Animais Silvestres

³ Docentes da Universidade Federal de Pelotas

⁴ Docente no curso de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

EROL H, ÇINAR M, BALTACI AK, et al. The efficacy of tie-in external fixator technique in the treatment of long bone fractures in raptors. *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi*.v37(5): pp681-686. 2013

FERNANDES et al. Production and evaluation of leukocyte and Thrombocyte-rich fibrin membranes in birds. *Acta Veterinaria Hungarica* v.67 (2), pp. 296–306. 2019

FERRIGNO, C.R.A. ET AL. Ortopedia. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. (2ª Eds.). *Tratado de animais selvagens: medicina veterinária*. São Paulo: Roca, v.2, 2014.

GROSSET et al., Release Rates and Complications for Birds of Prey With Antebrachial Fractures at a Veterinary Teaching Hospital. *J. of Avian Medicine and Surgery*, v.33(4):pp.388-397 2019.

GULL, J. M.; SAVERAID, T. C.; SZABO, D.; HATT, J. M. Evaluation of three miniplate systems for fracture stabilization in pigeons (*Columba livia*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*, Lawrence, v.26, n.4, p.203-212, 2012

HELMER P.; REDIG P.T. Surgical resolutions of orthopedic disorders, p.761-774. In: HARRISON G.J. & LIGHTFOOT T.L. (ed.), *Clinical Avian Medicine*. Spix Publishing Inc., Palm Beach. v.2, 2006

OROSZ, SE; ZIELEZIŃSKI, MB. External skeletal fixation in psittacine birds: techniques and clinical applications. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*. v 7(2): pp.413- 433. 2004

PAVLOVIC V, CIRIC M, JOVANOVIC V, TRANDAFILOVIC M, STOJANOVIC P. Platelet-rich fibrin: Basics of biological actions and protocol modifications. *Open Med (Wars)*. v22;16(1):pp. 446-454. 2021

ROMERO-CANO, R; REYES-BENÍTEZ, A; ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A; et al. Surgical treatment of a femoral fracture using an intramedullary Steinmann pin in an 28 African grey parrot (*Psittacus erithacus*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*. v27(2): pp154-158. 2013

SILVA, R. F.; CARMONA, J. U.; REZENDE, C. M. F. Uso de plasma rico em plaquetas intraarticulares como tratamento pós-cirúrgico da ruptura do ligamento cruzado cranial num cão. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia*, v. 64, n. 4, p. 847-852, 2012.

TEIXEIRA, CRV; CALDEIRA, DF; QUEIROZ, LJP. Avian Orthopedics. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*. v 20(2): pp.367-389. 2017

ZAFALON-SILVA, B. Determinação do defeito crítico em ulna de codorna-doméstica (*Coturnix coturnix japonica*). Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, p.49. 2019

ZIJLSTRA, M; REDIG, PT. Surgical anatomy of the avian orthopedic patient. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*. v4(2):pp. 297-317. 2001

¹ Bolsistas do projeto, alunas de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

² Anestesista volante de Animais Silvestres

³ Docentes da Universidade Federal de Pelotas

⁴ Docente no curso de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

FOMENTO

O fomento em sua integralmente será fornecido pela Universidade Federal de Pelotas.

¹ Bolsistas do projeto, alunas de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter

² Anestesista volante de Animais Silvestres

³ Docentes da Universidade Federal de Pelotas

⁴ Docente no curso de graduação em Medicina Veterinária, UniRitter