

Correção de defeito ósseo femural em cães utilizando implante cortical homólogo conservado em mel¹

Gustavo Frassetto Amendola²

Márcia Ilha³

Raquel Berger⁴

Rafael Stedile⁴

João Eduardo Schossler⁵

Amendola GF, Ilha M, Berger R, Stedile R, Schossler JE. Correção de defeito ósseo femural em cães utilizando implante cortical homólogo conservado em mel. *Acta Cir Bras* [serial online] 2003 Jul-Ago;18(4). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.

RESUMO – Objetivo: Avaliar a utilização de osso canino conservado em mel como implante em defeitos ósseos criados em fêmures de cães. **Métodos:** Doze caninos adultos foram submetidos a remoção de um segmento ósseo retangular compreendendo um terço do diâmetro do osso por 2cm de comprimento da diáfise femural. Posteriormente foram inseridos dois pinos intramedulares e fixado um implante ósseo conservado de tamanho compatível com o defeito através de cerclagem com fio de aço. Os animais foram avaliados radiograficamente no dia da intervenção cirúrgica e aos 30 e 60 dias. **Resultados:** Após o final dos 60 dias foi possível verificar incorporação do implante em oito animais enquanto que em quatro houve reabsorção do material implantado. **Conclusão:** O mel pode ser adequado como conservante de ossos.

DESCRIPTORIOS – Ortopedia. Caninos. Enxerto cortical. Mel.

Introdução

HULSE e HYMAN¹ comentaram que o uso de implantes ósseos está indicado na medicina de cães e gatos, sendo três as principais formas de enxertia. Será praticado um enxerto autógeno quando o doador é o mesmo indivíduo a ser transplantado. Quando o doador for outro animal, porém da mesma espécie se terá um aloenxerto ou enxerto homólogo e quando forem de espécies distintas será um xenoenxerto ou heterógeno^{2,3}.

Diversas são as formas de conservação de ossos para a sua posterior implantação. COSTA⁴, em um

estudo onde utilizou osso conservado em glicerina para corrigir grandes falhas ósseas, verificou que os implantes não produziram fenômenos compatíveis com rejeição e houve preservação das funções osteoindutora e osteocondutora, porém tornaram-se menos resistentes.

DEL CARLO e col.⁵, em um experimento utilizando 36 cães, compararam seis métodos de conservação de aloenxertos ósseos. A glicerina 98% não foi efetiva na esterilização do osso e alterou suas propriedades biomecânicas. A refrigeração a 4°C e a imersão em solução contendo timerosal 1:1000 não mantiveram o osso sem contaminantes e os enxertos falharam. O

-
1. Trabalho realizado no Depto. Clínica de Pequenos Animais da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).
 2. Médico Veterinário, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da UFSM.
 3. Médico Veterinário, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da UFSM.
 4. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária da UFSM.
 5. Médico Veterinário, Doutor, Prof. Adjunto Depto. Clínica de Pequenos Animais, CCR, UFSM.

osso conservado sob congelamento em solução fisiológica e antibiótico permaneceu estéril, sua integridade física foi preservada e não falhou na enxertia.

O mel tem sido utilizado desde a antiguidade como substância capaz de conservar tecidos. IOIRISH⁶ comentou que indígenas do Ceilão, após cortarem a carne dos animais e a impregnarem com mel, colocavam-nas em buracos de árvores à cerca de um metro do solo e esse alimento mantinha-se apto ao consumo por períodos de até um ano.

GREENWOOD⁷ comentou que o mel teve uso no tratamento de enfermidades de seres vivos desde 2000 A.C., como relatam evidências encontradas no Egito. Nessa época já se sabia dos benefícios desse substrato em relação ao processo de reparação de feridas, promovendo a absorção de edema, limpeza de contaminação, promoção de crescimento de tecido e diminuição da produção de odores desagradáveis⁸.

Alguns tecidos têm sido conservados em mel para posterior implantação em seres vivos. SUBRAHMANYAN⁹ utilizou o mel como conservante de pele para implante em 28 humanos, acometidos por queimaduras ou úlceras. Os implantes foram acondicionados em frascos com mel e mantidos à temperatura de 4°C e os resultados obtidos ao final do estudo foram satisfatórios, ainda que três pacientes necessitassem nova intervenção para que houvesse adesão da pele implantada.

ABRAMOV e MARKICHEVA¹⁰ analisaram os resultados da ceratoplastia lamelar usando córnea conservada em solução contendo 100% de mel. A intervenção com propósitos curativos foi realizada em 43 humanos acometidos de queimaduras oculares, úlceras corneanas e ceratites. Os resultados obtidos foram satisfatórios, sendo que na maioria dos casos a córnea tornou-se transparente. Os autores recomendaram esse material para o uso em pacientes clínicos.

Embora o mel como conservante de ossos seja pouco utilizado, MSCHIVIDOBADSE¹¹ comentou que utilizou em humanos implantes alogênicos esterilizados através de formaldeído conservados em solução contendo 50% de mel, obtendo resultados satisfatórios e chegou a conclusão de que esse é uma forma de se obter um banco de ossos de alta qualidade.

Baseado no fato de que o mel possui numerosas propriedades terapêuticas e conservantes, o presente estudo teve por objetivo testar a viabilidade e o comportamento dessa substância como meio conservante de ossos.

Métodos

Os ossos coletados foram segmentos diafisários femurais obtidos após a eutanásia de diversos caninos que não apresentavam histórico clínico de enfermidade infectocontagiosa. Após a colheita, realizada sob condições não assépticas, foi procedida a cuidadosa remoção da medula e periósteo, lavagem em água corrente e armazenamento do material em frasco de vidro estéril contendo mel de árvores silvestres obtido no comércio local e mantido à temperatura ambiente por um período entre 30 dias e oito meses.

Foi utilizado um único grupo de 12 caninos adultos hígidos, machos e fêmeas, sem raça definida e com o peso variando de seis a 15 kg, obtidos no Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria.

Após banho, jejum alimentar de 12 horas e tricotomia no membro posterior esquerdo, cada cão foi encaminhado ao Laboratório de Cirurgia Experimental do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Santa Maria, onde receberam medicação pré-anestésica composta por maleato de acepromazina^a (0,1mg/kg) e citrato de fentanila^b (0,005mg/kg), ambos aplicados por via intravenosa. A indução anestésica foi realizada com tiopental sódico^c (12,5 mg/kg). Após a intubação orotraqueal, a manutenção foi feita com halotano^d vaporizado com oxigênio, em circuito semi-aberto.

Com o animal em decúbito lateral direito, realizou-se antissepsia com a aplicação sequencial de álcool-iodo-álcool e após procedeu-se a colocação de panos de campo cirúrgico estéreis. Nessa etapa retirou-se o fêmur conservado do mel, para colocação em solução fisiológica aquecida a 37°C. Realizou-se diérese de pele seguindo a orientação de uma linha compreendida entre o trocânter maior do fêmur e a patela. Dissecou-se o tecido subcutâneo e a fáscia lata foi visualizada e incisada, permitindo com que o músculo vasto lateral fosse afastado cranialmente e o músculo bíceps femural fosse retraído caudalmente. Dessa forma foi possível obter adequado acesso à diáfise femural, permitindo com que fosse confeccionado com serra oscilatória um defeito de dois centímetros de comprimento por um terço do diâmetro do osso.

Sendo esse segmento removido, foi possível introduzir através da fossa trocântérica, por via normógrada, dois pinos intramedulares e confirmar sua correta posição no interior do canal medular. Utilizando a mesma serra, foi confeccionado um retângulo de tamanho compatível com o defeito a partir do osso conservado, que foi ajustado em seu leito e fixo através de cerclagem com fio metálico (Figura 1).

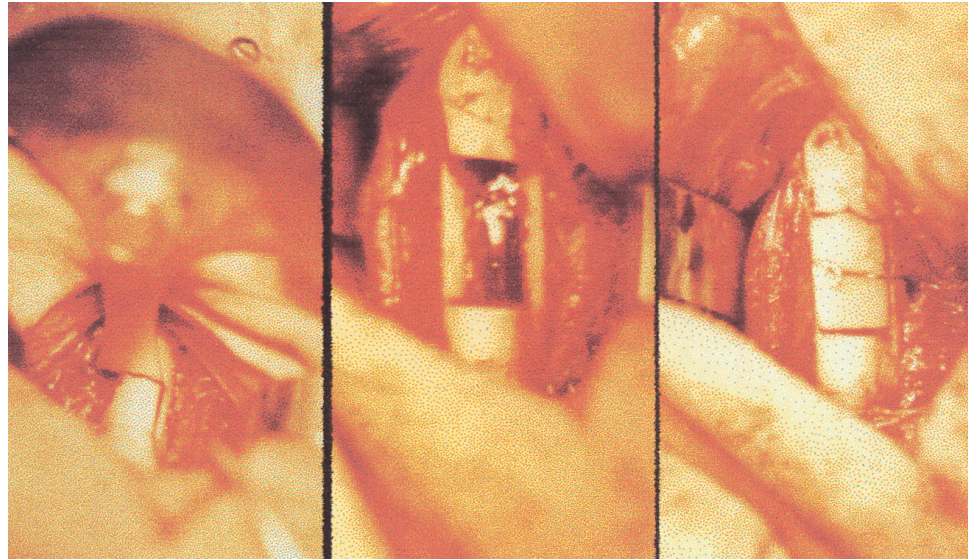


FIGURA 1 – Confeção do defeito ósseo utilizando serra oscilatória e fixação do implante com cerclagem metálica.

Posteriormente irrigou-se a área operatória com solução fisiológica e suturou-se a fáscia lata com categate 2-0 em sutura contínua simples, sendo que a abolição do espaço morto foi feita com o mesmo tipo de fio e sutura. A pele foi aproximada através de rafia utilizando-se mononáilon 2-0 em pontos isolados simples. Como profilaxia antimicrobiana foi utilizado ampicilina sódica^e (20 mg/kg) no trans-operatório e todos os animais receberam flunixin meglumine^f (1,1 mg/kg) nessa etapa e nos dois dias seguintes visando promover analgesia.

Os caninos foram encaminhados ao setor de radiologia, imediatamente após o término da cirurgia, onde foram efetuadas radiografias em incidências ântero-posterior e médio-lateral do membro utilizado para a enxertia. Essas manobras foram realizadas estando os animais ainda sob efeito da anestesia. Foi realizada avaliação radiográfica aos 30 e 60 dias de pós-operatório, visando analisar a evolução do processo de estabelecimento do implante.

Após 60 dias do procedimento cirúrgico, foi realizada a eutanásia dos cães e posteriormente o fêmur esquerdo foi removido para avaliação macroscópica e microscópica. Pela avaliação macroscópica, foram observadas a reconstituição dos tecidos moles adjacentes, assim como as aderências e inserções musculares. Foi analisado o aspecto macroscópico do material implantado, verificando-se sua presença ou não, além da mescla com o leito receptor. Após o registro fotográfico, o osso coletado foi fixado em formol tamponado a 10% e, passado um período mínimo de 72 horas, foi colocado em solução descalcificante de ácido nítrico 7%. Após a descalcificação foi coletado

um fragmento de aproximadamente dois centímetros, cujo ponto central era o implante ósseo, que foi processado pela técnica rotineira de inclusão em parafina e coloração pela hematoxilina-eosina, para avaliação microscópica.

Resultados

Os segmentos ósseos conservados em mel apresentaram um aspecto físico viável, diferindo aparentemente apenas de sua coloração em relação ao momento em que foram coletados, pois tornaram-se amarelados e era possível perceber a impregnação do conservante em todos os pequenos poros. A rigidez óssea foi mantida, pois não foram observadas fissuras longitudinais nem rachaduras durante o ato de serrar, nos diferentes períodos de conservação.

Amostras aleatórias de mel foram enviadas para o exame microbiológico e foi verificada a presença de agentes bacterianos. Entretanto, os animais foram observados no período pós-operatório em relação a apresentação da ferida cirúrgica, onde em todos os casos houve cicatrização por primeira intenção, sem apresentar edema local, deiscência de pontos ou drenagem de secreção.

Com relação à avaliação radiográfica, dos dez primeiros animais estudados, sete apresentaram imagem compatível com leve rarefação óssea e consolidação, evidenciada pelo desaparecimento da linha de fratura que havia sido criada pela serra (Figura 2). Os outros três sofreram reabsorção do implante, sendo observados desde rarefação óssea até o desaparecimento do osso implantado.

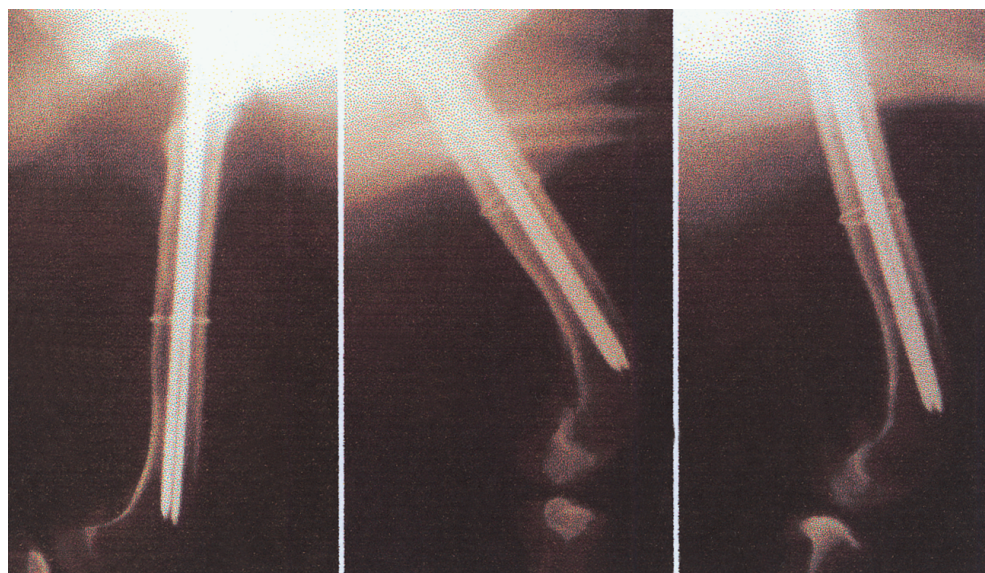


FIGURA 2 - Cão nº1, no dia da intervenção, 30 e 60 dias após, demonstrando adequado grau de consolidação com o implante.

O décimo primeiro animal estudado apresentava o implante íntegro em 30 dias de pós-operatório, porém após esse período houve uma fratura oblíqua em seu fêmur que não comprometeu o estudo, visto que ao final de 60 dias o material havia se mesclado ao leito receptor. O décimo segundo cão apresentou afrouxamento da cerclagem, fazendo com que o enxerto sofresse deslocamento e o último estudo radiográfico demonstrou reabsorção parcial do fragmento, ainda que o calo periosteal houvesse recoberto o defeito.

A análise macroscópica veio confirmar os resultados verificados através da radiologia, demonstrando concordância entre os casos de consolidação óssea e reabsorção. Microscopicamente foi possível verificar união óssea entre fragmentos, apresentando atividade celular no centro do implante, crescimento ósseo endosteal e periosteal, nos animais onde houve incorporação do implante. Nos animais onde houve reabsorção foi possível verificar intensa reação inflamatória e proliferação de tecido cartilaginoso e conjuntivo. Houve no total quatro reabsorções e oito incorporações.

Discussão

Baseado nos achados clínicos de que não houve sinais de infecção, pode ser inferido que o mel se mostrou eficiente no ato de inibir o crescimento bacteriano nos ossos coletados. Apesar desses achados serem favoráveis, POSTMES e col.⁸ comentaram que o mel não pode ser tratado como substância estéril, sendo que é necessária a análise microbiológica antes de ser utilizado com propósitos medicinais. SUBRAHMANYAM⁹ utilizou mel resfriado a 4°C para o armazenamento de enxertos de pele, porém realizou

exames laboratoriais que confirmaram que esse composto se encontrava estéril. POSTMES e col.⁸ ainda citaram como alternativa o uso de irradiação para promover a esterilização de mel contaminado.

POSTMES e col.⁸ comentaram que as propriedades antibacterianas do açúcar e do mel são devidas a produção de um grande nível de osmolaridade local, dificultando a proliferação microbiana. Entretanto, no caso do mel, a atividade antimicrobiana pode ser atribuída também a um composto conhecido como peróxido de hidrogênio, produto final de uma reação enzimática entre a glicose oxidase da abelha com a glicose encontrada diluída no mel.

GREENWOOD⁷ relatou que méis oriundos de diferentes floradas possuem maior ou menor grau de ação sobre germes, além de atuar de forma seletiva em alguns casos, não destruindo um agente que o de outra florada destruiria. POSTMES e col.⁸ comentaram ainda que é muito importante o tipo de florada em que o mel foi obtido, sendo que menor importância tem o grau de diluição desse material. Em um estudo utilizando o método de diluição em ágar e tendo como agentes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, consideraram que o produto originário de floradas de limeira demonstrou maior e mais ampla atividade bactericida do que aqueles originários de floradas de outras árvores frutíferas e acácia. Não houve crescimento de nenhum dos microorganismos anteriormente citados quando foi utilizado o mel obtido da limeira.

O fato de um determinado tipo de mel possuir maior poder antimicrobiano do que o de outra florada é

explicado por IOIRISH⁶ e GREENWOOD⁷, que comentaram que essas flores possuem diferentes substâncias antimicrobianas e conforme o tipo de mel a ser produzido pelas abelhas também apresentarão diferentes graus de atividade germicida.

O mel utilizado neste trabalho experimental foi analisado microbiologicamente e foi evidenciada a presença de bacilos, apesar de não haver acontecido nenhum sinal de infecção durante o decorrer do trabalho. POSTMES e col.⁸ comentaram que muitas vezes são encontrados bacilos não patogênicos em diferentes tipos de méis. Os mesmos autores comentaram ainda que o mel utilizado para propósitos de conservação de tecidos deve ser obtido através de colméias livres de pesticidas e antibióticos, como a tetraciclina, pois podem apresentar-se de forma residual nos méis. Também citaram que é importante a remoção de qualquer fração de sangue, pois comprovaram, através de exames laboratoriais, que a adição de 5% de sangue ovino ao mel apresentou como resultado completa inibição da atividade antibacteriana.

DEL CARLO e col.⁵ citaram que um desafio é manter a rigidez óssea. Uma característica importante verificada no presente experimento foi que, ao serrar os ossos conservados, esses possuíam grande rigidez e, ao contrário do que acontece com outros meios de preservação, não apresentavam-se quebradiços e nem com fissuras longitudinais.

No presente estudo o exame radiográfico demonstrou haver decréscimo da densidade óssea no material implantado. O fato de haver ocorrido essa diminuição de densidade foi explicado por WEIGEL³, que afirmou que em implantes de osso cortical o processo de reabsorção aumenta até 45 dias e após diminui até o nível normal por volta de um ano após a cirurgia e nesse período pode haver alguma debilidade mecânica no tecido introduzido. Comentou também que isso é devido ao fato de que nesse tipo de enxerto ósseo a atividade celular começa com o osteoclasto e somente mais tarde irá iniciar a atividade osteoblástica, visto que é necessário que ocorra primariamente reabsorção no interior dos canais de Havers para que posteriormente seja introduzida a vascularização.

Nos animais em que houve reabsorção dos implantes pode ser considerado que esse processo esteja relacionado ao tipo de fixação. HULSE e HYMAN¹ comentaram que deve haver imobilidade e vascularização para que se obtenha sucesso em um enxerto de osso cortical. Quando ocorre uma fratura, os vasos nutritivos são rompidos e até que eles voltem a ser

funcionais quem dará o aporte sanguíneo são os tecidos vizinhos que se encontram em um ambiente de fratura. Isso acontece na prática clínica, mas não tanto na cirurgia experimental, pois não existe extensa lesão desses tecidos moles adjacentes a fratura.

Segundo WEIGEL³ é necessário que exista fixação rígida e compressão entre os fragmentos, caso contrário os brotamentos vasculares não conseguirão penetrar na periferia do implante. Também citou que a força compressiva estimula a formação óssea, além de evitar danos vasculares por cisalhamento. No modelo de fixação utilizado nesse estudo existiu um pequeno hiato entre o implante e o osso do receptor, que foi suficiente para impedir a correta osteocondução por não haver compressão longitudinal.

Conclusão

O mel é adequado como conservante de ossos para serem utilizados como implantes corticais, pois mantém o material livre de agentes patogênicos e não mostra sinais compatíveis com rejeição, além de preservar a rigidez óssea.

Referências

1. Hulse D, Hyman D. Fracture biology and biomechanics: In: Slatter D. Textbook of small animal surgery. Philadelphia: Saunders; 1993. p 2035-49.
2. Alexander JW. Leonard's orthopedic surgery of the dog and cat. Philadelphia: Saunders; 1985. p 43-8.
3. Weigel PJ. Bone grafting: In: Bojrab JM. Disease mechanisms in small animal surgery. 2ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. p 678-85.
4. Costa JL. Reconstrução de grande falha óssea com enxerto cortical alógeno conservado em glicerina, fixado com placas e parafusos de aço inoxidável da série 304: estudo experimental em cães [Dissertação - Mestrado]. Universidade Estadual de São Paulo - Jaboticabal; 1996.
5. Del Carlo RJ, Galvao SR, Vitoria MI, Souza TD, Filho AM. Aloenxertos ósseos caninos diferentemente preservados. Rev Bras Cir Vet 1999;6:121-26.
6. Iorish N. As abelhas, farmacêuticas com asas. São Paulo: Mir; 1981.
7. Greenwood D. Honey for superficial wounds and ulcers. Lancet 1993; 341:90-1.
8. Postmes T, Van Den Bogaard AE, Hazen M. Honey for wounds, ulcers and skin graft preservation. Lancet 1993; 341:756-7.
9. Subrahmanyam M. Storage of skin grafts in honey. Lancet 1993; 341:63-4.
10. Abramov VG, Markicheva NA. Therapeutic lamellar keratoplasty with honey preserved material. Ophthalmol Zh 1983; 38:81-3.
11. Mschvidobadse VM. Allogenic transplantation of sterilized bones and halfjoints. Zentralbl Chir 1978; 103:1138-48.

Amendola GF, Ilha M, Berger R, Stedile R, Schossler JE. Femoral bone defect reparation in dogs with homolog cortical graft preserved in honey. Acta Cir Bras [serial online] 2003 Jul-Aug;18(4). Available from URL: <http://www.scielo.br/acb>.

ABSTRACT – Purpose: Evaluate the use of canine bone conserved in honey as graft in the correction of bone defects in dogs. **Methods:** Twelve mongrel dogs were used, male and female, weighing between 6 and 15 kg, comprising a single experimental group. After, the left femur was accessed in the lateral side of its shaft and a segment of two centimeters length by one third of the diameter was removed. Two intramedullary Steinman pins were inserted by normograde way and the defect was covered with the bone graft and fixed with cerclage wire. The animals were radiographically evaluated in the day of the surgery, 30 and 60 days after. **Results:** By the end of the 60 days these dogs were euthanized for gross and microscopical evaluation. Eight animals presented the incorporation of the graft and the other four had bone resorption in the implantation site. **Conclusion:** The bone preserved in honey is able to be used in bone grafting.

KEY WORDS – Orthopedics. Canine. Bone grafting. Honey.

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: nenhuma

Correspondência:

Prof. João Eduardo Schossler

Depto. Clínica de Pequenos Animais - CCR

Universidade Federal de Santa Maria - Campus Camobi

97105-900 Santa Maria - RS

schossle@lince.hcv.ufsm.br

Data do recebimento: 23/03/2003

Data da revisão: 08/04/2003

Data da aprovação: 14/04/2003