

ESTUDO EXPERIMENTAL COMPARATIVO NO USO DE ENXERTO ÓSSEO ORGÂNICO E INORGÂNICO NO REPARO DE FRATURAS CIRÚRGICAS EM RÁDIO DE COELHOS

ORGANIC AND INORGANIC BONE GRAFT USE IN RABBITS' RADIUS SURGICAL FRACTURES REPAIR: AN EXPERIMENTAL AND COMPARATIVE STUDY

ELSON SOUZA MIRANDA¹, FERNANDA TÉRCIA SILVA CARDOSO², JOÃO FELIPE DE MEDEIROS FILHO³, MÁRCIO D'ANGELO RODRIGUES BARRETO⁴, RAMON MARCELLO DE MACEDO TEIXEIRA⁴, ANDREY LEAL WANDERLEY⁵, KALYANA EDUARDO FERNANDES⁶

RESUMO

Trabalho realizado com proposta de avaliar o resultado na consolidação de fraturas do rádio em coelhos utilizando enxerto ósseo orgânico e enxerto ósseo mineral. No estudo foram utilizados 20 animais adultos, machos e fêmeas pesando entre 3,0 e 3,5 kg, procedentes do Biotério da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). Os animais foram divididos em dois grupos iguais e submetidos a osteotomia transversa completa simples na diáfise do rádio direito sendo retirado 1cm de fragmento ósseo. No grupo I (G1) foi colocado fragmento de enxerto ósseo orgânico retirado da asa ilíaca do mesmo animal no local da osteotomia; no grupo II (G2) foi colocado enxerto ósseo inorgânico Osteosynt, constituído de hidroxiapatita sintética e fosfato de cálcio. Os grupos foram subdivididos em 5 períodos (P15= 15 dias, P30= 30 dias, P45= 45 dias, P60= 60 dias, P75 = 75 dias), para avaliação dos aspectos radiográficos e histológicos do local da osteotomia (fratura cirúrgica) visando observar o processo de consolidação óssea local. Nas avaliações radiográficas constatou-se que o G2 desenvolvia processo de reparação mais rápido em todos os períodos avaliados que o G1; fato esse confirmado na avaliação histológica. Concluímos que o enxerto ósseo inorgânico pode ser usado de rotina em cirurgia ortopédica proporcionando uma cicatrização óssea precoce.

Descritores: Hidroxiapatita; Coelho; Radiologia; Histologia.

SUMMARY

Study carried out with the purpose of evaluating the outcomes of rabbits' radius fracture unions by using both organic and mineral bone grafts. For the study, 20 adult animals, both males and females, weighing around 3.0 and 3.5 kg, sourced by Maranhão State University Animal Lab were employed. The animals were divided into two similar groups and subjected to a simple complete transverse osteotomy on the right radius diaphysis, with 1 cm of bone fragment being removed. In group I (G1), an organic bone fragment from the iliac wing of the same animal was placed at the osteotomy site; in group II (G2), an Osteosynt inorganic bone graft, composed by synthetic hydroxyapatite and calcium phosphate was placed. The groups were subdivided into 5 periods (P15 = 15 days, P30 = 30 days, P45 = 45 days, P60 = 60 days, P75 = 75 days) for evaluating x-ray and histological aspects of the osteotomy site (surgical fracture) aiming to check local bone union process. X-ray studies showed that G2 developed a faster repair process in all observation periods when compared to G1. This fact was confirmed by histological evaluation. We conclude that the inorganic bone graft may be routinely used in orthopaedic surgery, providing an early bone healing.

Keywords: Hydroxyapatite; Rabbit; Radiology; Histology.

INTRODUÇÃO

A finalidade no tratamento de uma fratura é obter rápida união óssea, preservando a função normal das articulações e tecidos moles próximos⁽¹⁾. A reparação de uma fratura envolve sequência de eventos celulares que evoluem desde agressão propriamente dita, formação do hematoma, iniciação do calo plástico, organização do calo e remodelação. Algumas fraturas consolidam adequadamente, após uso correto de determinado método de imobilização, porém outras resultam em consolidação demorada ou não união.

Diversos fatores são importantes para obter sucesso na reparação das fraturas, entre eles existem os fatores biomecânicos (excesso de movimentos no foco da fratura), anatômicos (idade,

vascularização deficiente, diástase, infecção e outros) e metabólicos (nutrição).

Notório é que para haver consolidação se faz fundamental continuidade óssea local; o uso de enxerto ósseo, introduzido no início do século vinte na prática cirúrgica, veio trazer subsídio a consolidação de fratura cominutivas ou com grandes defeitos, promovendo a formação de calo precoce através de um processo chamado de substituição invasiva associado ao processo de osteoindução^(2,3).

Os enxertos ósseos podem ser classificados de acordo com sua origem em autógenos e heterólogos; de acordo com o tipo em cortical, esponjoso ou cortico-esponjoso e de acordo com sua composição em orgânico e inorgânico⁽⁴⁾. Muitas vezes a retirada

Trabalho realizado na Universidade Estadual do Maranhão –UEMA- em São Luís/MA em parceria com o Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Rio Grande do Norte – ITORN em Natal/RN

Endereço para correspondência: R. Joaquim Manoel, 720, Petrópolis – Natal/RN - CEP:59012-330 - E-mail: marciodangelo@hotmail.com

1. Chefe do Programa de Residência Médica do ITORN, Natal/RN; Membro da Sociedade Brasileira de Cirurgia do Joelho; Médico do ITORN
2. Estudante do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA.
3. Preceptor do Grupo de Ombro e Cotovelo da Residência Médica do ITORN
4. Médico Residente do 3º ano do Programa de Residência Médica do ITORN
5. Médico Residente do 2º ano do Programa de Residência Médica do ITORN
6. Médica Residente do 1º ano do Programa de Residência Médica do ITORN

Trabalho recebido em: 06/05/05 aprovado em 19/08/05

do enxerto autógeno pode levar a sequelas sérias ao paciente como dor local, infecção além de prolongar o tempo cirúrgico e elevar custos. O uso de biomateriais sintéticos tem importância cada vez maior hoje em dia, visto que são biocompatíveis, de fácil aplicação e acondicionamento⁽⁹⁾.

As propriedades biológicas da hidroxiapatita sintética são bem documentadas na literatura, tendo sido utilizada na correção de defeitos ósseos no homem e em várias espécies^(6,7,8,9) com resultados suficientes para indicá-la como alternativa para a enxertia óssea na rotina clínica.

O presente trabalho objetiva avaliar comparativamente o uso do enxerto ósseo orgânico e do inorgânico no processo de reparação de fraturas em coelhos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 coelhos adultos, machos e fêmeas da raça Nova Zelândia pesando entre 3,0 e 3,5 kg adquiridos no Biotério da UEMA e divididos em 2 grupos (10 animais em cada grupo) sendo mantidos em gaiolas individuais alimentados com ração balanceada uma vez ao dia e água ad libitum. Os animais foram submetidos anestesia intravenosa com acepromazina 0,2% (dose 0,1 mg/kg), após 15 minutos foram administrados 0,5ml/kg por via intramuscular profunda da mistura em partes iguais de quetamina (vetanacol 5%) e cloridrato de xilazina (kensol 2%).

Após tricotomia do membro anterior direito foi realizada antisepsia da pele por fricção com polipirrolidona degermante diluído em soro fisiológico. Todos os animais foram submetidos a uma fratura cirúrgica completa simples transversa na diáfise do rádio direito (FIG1) com remoção de um segmento osteoperiosteal em todo o seu diâmetro com 1 cm de comprimento; tendo sido usado um perfurador de baixa rotação acoplado a um disco cortante. Foi utilizado nos dois grupos o mesmo antiinflamatório – cetoprofeno subcutâneo na dose de 2mg/kg, uma vez ao dia por três dias. Todo procedimento foi realizado na UEMA.

No primeiro grupo (G1) foram colocados fragmentos de enxerto orgânico no foco da fratura, retirado da asa íliaca abordada dorsalmente segundo técnica de Bojrab⁽¹⁰⁾.

No segundo grupo (G2) o procedimento foi repetido tendo sido colocado enxerto inorgânico composto de trifosfato de cálcio e hidroxiapatita – Osteosynt cedido pelo Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Rio Grande do Norte (ITORN); os grânulos do produto foram misturados ao sangue limpo (sem debris ou coágulos) e colocado no local da osteotomia evitando a formação de áreas vazias.

As feridas cirúrgicas foram suturadas com fio nylon 3-0 agulhado e protegidas com ataduras secas e esterilizadas com solução de nitrofurazona sendo removida a bandagem com 96 horas. Os membros avaliados de ambos os grupos foram imobilizados com talas de cloreto de polivinila (PVC).

Cada grupo foi dividido em períodos, visando uma melhor avaliação radiográfica e histológica, ficando da seguinte forma: P15= 15 dias após a cirurgia, P30= 30 dias, P 45= 45 dias, P60= 60 dias e P75= 75 dias após a cirurgia.

Em cada período os animais foram submetidos a uma análise radiográfica considerando-se o tempo e intensidade da reação periosteal, presença de ponte óssea e de linha radiolucida entre os fragmentos. As radiografias foram realizadas na UEMA com técnica radiológica de 40 kVp (quilovolts) e 0,5 mAs (miliampe-re); sendo enviadas para o ITORN onde foram analisadas, sem que os examinadores tivessem conhecimento sobre qual grupo pertencia àquela radiografia.

Ao serem avaliados ambos os grupos de animais foram sacrificados, com autorização do Comitê de Ética da UEMA, tendo sido retirado o rádio fraturado, em todos os períodos do estudo, para avaliação histológica. O tecido ósseo foi preparado com técnica de descalcificação, sendo inicialmente fixado em formol a 10% durante 12 a 24 horas, colocado em líquido descalcificador (1ml de ácido nítrico concentrado, 99ml de água destilada) com volume 100 vezes maior ao da peça, trocando-se o líquido diariamente, até que o tecido amoleça, em média de 2 a 3 dias.

Após total descalcificação os fragmentos foram tratados por solução de sulfato de sódio a 5% por 1 hora e lavados em água corrente por 30 minutos. Foram então incluídos em parafina e cortados no microtomo a 5 mm sendo corados pela técnica de hematoxilina-eosina e observados ao microscópio óptico visando acompanhar comparativamente a neoformação dos tecidos fibrosos, cartilaginosos e osso jovem durante o processo de cicatrização óssea.

Foram realizadas avaliações descritivas e comparativas dos exames radiográficos e histológicos ao final de cada período para a determinação do melhor método de enxertia na consolidação das fraturas.

RESULTADOS

Nas avaliações radiográficas sequenciais observou-se que ambos os grupos completaram o processo de reparação óssea, sendo de forma mais rápida com menor tempo de evolução no grupo em que foi realizada enxertia inorgânica – Grupo II.

Na análise dos quatro parâmetros: reação periosteal, formação de

ponte óssea, presença do traço de fratura e formação de calo ósseo; o GII mostrou melhor evolução quanto ao processo de consolidação. A reação periosteal foi graduada de leve (+) a moderada (++) a ponte óssea foi avaliada com a presença de fragmento ósseo unindo as extremidades fraturadas. A Tabela 1 apresenta a avaliação radiológica percentual comparativa dos grupos.

	Reação Periosteal	Formação de Ponte Óssea	Linha de Fratura	Formação de Calo Ósseo
15 dias GI	75% (+); 25% (++)	12,5%	100% ampla	—
15 dias GII	60% (+); 40% (++)	50%	90% ampla	—
30 dias GI	50% (+); 50% (++)	83,3%	16,6% diminuída	—
30 dias GII	50% (+); 37,5% (++) ; 12,5% (+++)	100%	87,5% diminuída	12,5%
45 dias GI	100% (+)	Formada	100% diminuída	—
45 dias GII	16,6% (+)	100%	50% desaparecendo	66,6%
60 dias GI	50% (+); 50% (++)	Formada	50% desaparecendo	25,%
60 dias GII	25% (++)	—	25% fratura consolidada	75,%
75 dias GI	—	—	50% desaparecendo	50,%
75 dias GII	—	—	100% fratura consolidada	100,%

Tabela 1 - Tabela demonstrando os acontecimentos radiográficos no P¹; P²; P³; P⁴; P⁵.

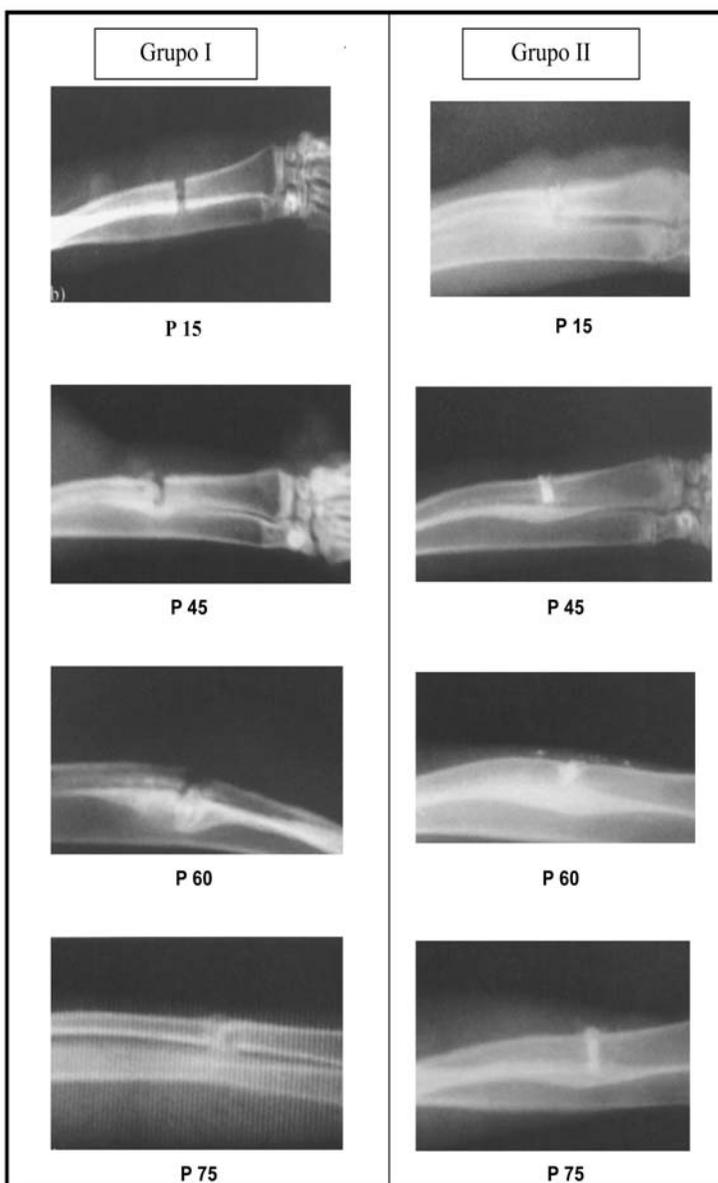
O estudo histológico apresentou a seguinte evolução. No P15 os animais do grupo II apresentavam uma faixa de hipertrofia de condrócitos e em algumas regiões observou-se deposição de matriz orgânica (osteóide) em finas trabéculas, indicando um estágio mais avançado de reparação que os animais de GI.⁽¹¹⁾ (Figuras 1 e 2)

No P30, os focos das fraturas dos animais do GI mostraram hiperplasia de células cartilaginosa, enquanto o GII mostrou maturação das lacunas e início de organização lamelar do osso secundário.

No P45 enquanto havia poucas evidências de osso primário no GII o grupo I mostrava-se no início do processo de ossificação endocondral. Após 60 dias no grupo I o tecido ósseo, apesar de completar o local da fratura, não havia se organizado em sua estrutura lamelar madura (Figura 3); nos GII pode observar-se sinais de remodelação óssea (Figura 4).

No P75 observou-se o predomínio de osso lamelar com uma pequena faixa de cartilagem no grupo II, enquanto que no GI os animais exibiam ainda tecido ósseo imaturo em relativa quantidade (Figuras 5 e 6).

O quadro abaixo exemplifica a evolução radiográfica evolutiva dos grupos.



Quadro 1 - Evolução radiográfica entre os grupos. Rx médio-lateral membro anterior direito.

DISCUSSÃO

A busca por materiais cujos componentes possam funcionar como substitutos ósseos surgiu na década de 70, desde então o número de pesquisas e estudos na área vem aumentando.

Neste estudo o acompanhamento radiográfico mostrou que com 15 dias de evolução já havia iniciado o processo de reparação óssea, achado esse que está de acordo com Piermattei e Flo⁽¹²⁾ ao referir-se aos enxertos ósseos como forma de estimular um rápido início e formação de ponte óssea. Contudo, pode-se verificar que um maior número de animais do GII apresentavam início mais rápido de formação de ponte óssea; tal fato pode ser justificado pelo uso de substância química sintética que de acordo com Franco⁽⁵⁾ permite rápida osteogênese e osteocondução.

Pettis et al.⁽¹³⁾ em estudos com defeitos periodontais em humanos, encontrou após 30 dias, resultados semelhantes aos relatados nesse estudo, havendo formação de ponte óssea presente em todos os pacientes com enxerto inorgânico.

A evolução da formação de calo ósseo comporta-se nos períodos seguintes P45, P60 e P75 com melhor desempenho nos focos de fratura do GII, quando

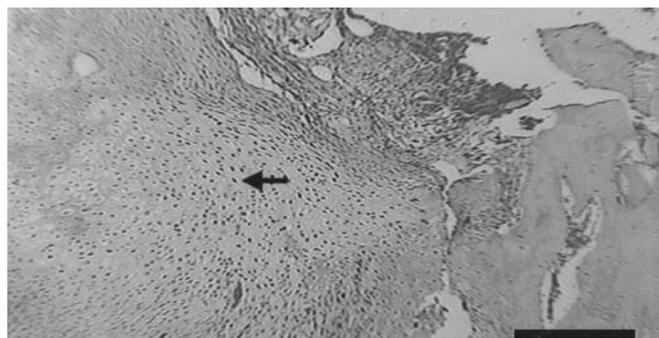


Figura 1 - Fotomicrografia do local da fratura, animal do grupo I (15 dias), evidenciando formação de tecido cartilaginoso (seta) com ausência de hipertrofia de condrócitos. Hematoxilina-Eosina (20 Mm)

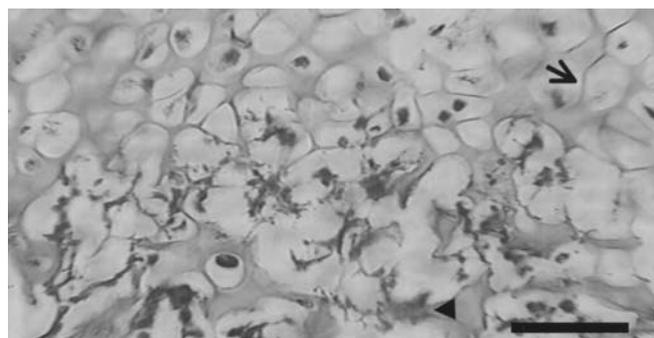


Figura 2 - Fotomicrografia do local da fratura, animal do grupo II, hipertrofia dos condrócitos (seta) e deposição de osteóide (cabeça de seta). Hematoxilina-Eosina (20 Mm)

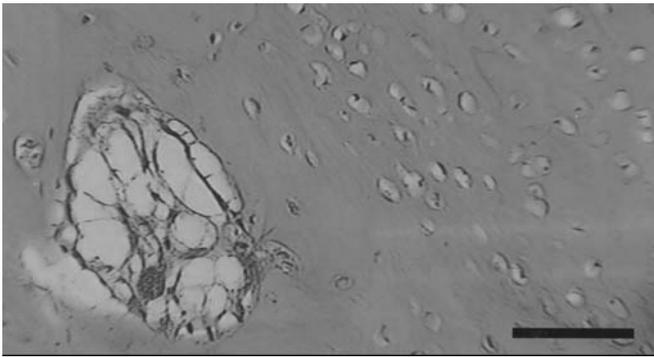


Figura 3 - Fotomicrografia do local da fratura, animal do grupo I (60 dias), predomínio de osso primário. Hematoxilina-Eosina (5 Mm).

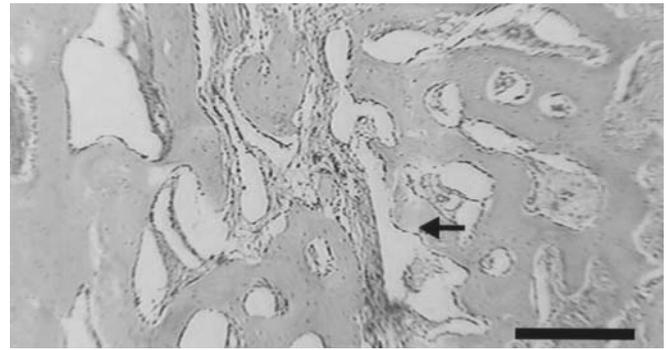


Figura 4 - Fotomicrografia do local da fratura, animal do grupo I (60 dias) consolidação da fratura, osso esponjoso lamelar (seta). Hematoxilina-Eosina (5 Mm)

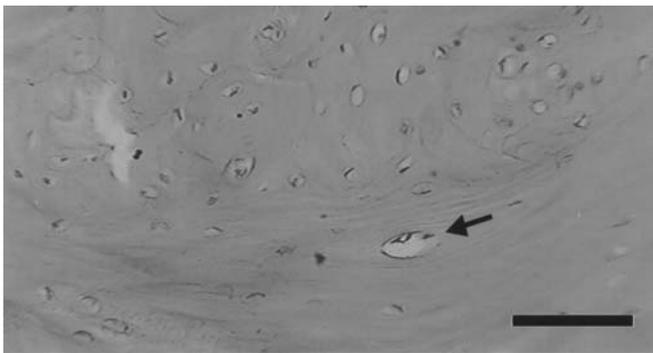


Figura 5 - Fotomicrografia do local da fratura, animal do grupo I (75 dias), predomínio de osso primário região central, na periferia nota-se formação de ósteons (seta). Hematoxilina-Eosina (5 Mm).

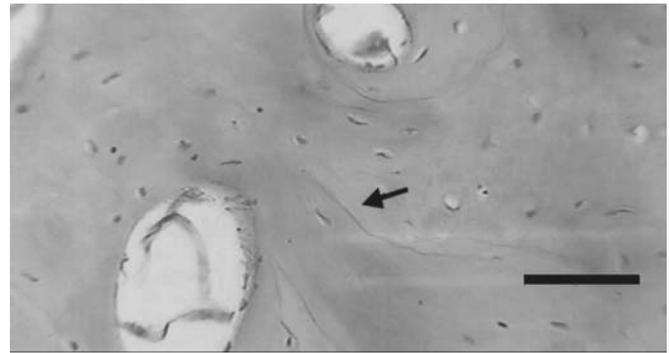


Figura 6 - Fotomicrografia do local da fratura, animal do grupo II (75 dias), formação de osso lamelar, com linhas de cimentação evidentes (seta) Hematoxilina-Eosina (5 Mm).

comparados com os do GI, essa observação está de acordo com as manifestadas por Borges⁽¹⁴⁾ quando estudou o efeito da hidroxiapatita na reparação óssea de defeito provocado em tibia de cães.

Os eventos histológicos verificados nos períodos subsequentes do GII demonstraram melhor desenvolvimento na formação de calo, e ainda presença do processo de remodelação óssea, achados não evidenciados no GI. Essa resposta observada no GII pode ser o resultado do comportamento do material químico utilizado no estudo que segundo Chang⁽¹⁵⁾ a formação óssea depende do contato dos materiais com o periosteio, endosteio e cavidade medular.

O enxerto inorgânico demonstrou um marcado crescimento ósseo no processo de reparação da fratura que apresentava perda de

tecido ósseo porém, é importante ressaltar que as células osteoprogenitoras e fatores indutivos são essencialmente responsáveis para o bom andamento do processo de reparação óssea.

CONCLUSÕES

Com o presente estudo, conclui-se que o enxerto inorgânico estimula precocemente o início do processo de reparação óssea em coelhos quando comparado ao orgânico e os achados radiográficos e histológicos mostram melhor evolução na formação de calo ósseo com uso de enxerto inorgânico.

A aplicação na prática ortopédica em humanos do enxerto inorgânico de forma isolada para reparação de fraturas necessita de mais estudos. Podendo ser uma alternativa viável no futuro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Mclain DL, Brown SG. Fixation of radius and ulna fractures in the immature dog and cats. Review of popular techniques and a report of eight cases using plate fixation. *Vet Surg* 1982; 11:140-5.
- Remedios A. Bone and bone healing. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1999; 29:1029-44.
- Hebert S. Exame Musculoesquelético. In: Hebert S, Xavier R. *Ortopedia e traumatologia: princípios e prática*. 3a ed. Porto Alegre: Sarvier; 2003. p. 26
- A. H. Crenshaw. Técnicas cirúrgicas. In: A. H. Crenshaw. *Cirurgia ortopédica de Campbell*. 8a. ed. Sao Paulo: Manole, 1996. p.13-17.
- Franco KL, Borges APB, Vitoria MIV et al. Pure synthetic hydroxyapatite: transmitted light microscopy osteointegration aspects. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2001; 53:1-7.
- Arakaki M, Yamashita S, Mutaf, M. et al. Onlay silicone and hydroxyapatite-tricalciumphosphate composite blocks interfere with nasal bone growth in rabbits. *Cleft Palate-Craniof J* 1985; 32:282-9.
- Geesink RGT, Hoefnagels NHM. Six-year results of hydroxyapatite-coated total hip replacement. *J. Bone Joint Surg Br* 1995; 77:534-47.
- Kveton JF, Friedman CD, Costantino PD. Indications for hydroxyapatite cement reconstruction in lateral skull base surgery. *Am J Ontol* 1995; 16:465-9.
- Yamaguchi K, Hirano T, Yoshida G, Iwasaki K. Degradation-resistant character of synthetic hydroxyapatite blocks filled in bone defects. *Biomaterials* 1995; 16:983-5.
- Bojrab MJ. Enxertamento osseo. In: *Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais*. 3a. ed. Sao Paulo: Roca, 1996. p.786-93.
- Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica: Texto/Atlas*. 10a ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2004. p. 185
- Piermattei DL, Gretchen L. Enxertos osseos. In: *Manual de ortopedia e tratamento das fraturas dos pequenos animais*. 3a. ed. Sao Paulo: Manole, 1999. p.139-45.
- Pettis GY, Kaban LB, Glowacki J. Tissue response to composite ceramic hydroxyapatite/demineralized bone implants. *J Oral Maxillofac Surg* 1990; 48:1068-74.
- Borges APB. O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea do defeito provocado experimentalmente no terço proximal da tibia de caes. Estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodispersão [tese]. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1998.
- Chang YS, Oka M, Nakamura T, Gu HO. Bone remodeling around implant ceramic. *J Biomed. Mater Res* 1996; 30:117-24.