

# ALOENXERTO ÓSSEO, PRESERVADO EM GLICERINA, NA RECONSTRUÇÃO ISQUIOPÚBICA APÓS ACESSO VENTRAL À CAVIDADE PÉLVICA DE CADELAS<sup>1</sup>

Richard da Rocha Filgueiras<sup>2</sup>  
Ricardo Junqueira Del Carlo<sup>2</sup>  
Marlene Isabel Vargas Vitoria<sup>2</sup>  
Maria Esther Odenthal<sup>2</sup>  
Mário Sérgio Lima de Lavor<sup>2</sup>  
Tatiana Schmitz Duarte

## RESUMO

O comportamento do aloenxerto corticoesponjoso, preservado em glicerina 98%, utilizado na reconstrução isquiopúbica, após ressecção por osteotomia bilateral, foi avaliado experimentalmente em 16 cadelas, por meio de exames clínicos diários e radiográficos, macro e microscópicos *post mortem* aos 15, 45, 60 e 75 dias após a cirurgia. Em 100% dos animais operados, foi mínimo o desconforto pós-operatório, com restabelecimento da deambulação normal, apetite e micção em média 24 horas após a cirurgia, e a defecação em torno de 48 horas. No exame de palpação *post mortem*, foi observada estabilidade do aloenxerto a partir de 60 dias, em todos os animais, independentemente da presença de tecido conjuntivo fibroso. Radiograficamente, a partir de 45 dias foi verificado o início do processo de reparação, no contato aloenxerto/pelve hospedeira, em 64,3% dos animais, completando-se aos 60 dias em 16,7%, e em 40,0% aos 75 dias. Histologicamente, foram evidenciadas áreas de crescimento endocondral iniciando-se na pelve hospedeira aos 45 dias, e túneis vasculares tanto no enxerto quanto na pelve. Os aloenxertos ósseos foram capazes de manter o espaçamento da pelve e a integridade das articulações coxofemorais. A interface aloenxerto/pelve hospedeira foi preenchida por tecido conjuntivo fibroso, que integrou as extremidades, e a reparação ocorreu por reabsorção e deposição ósseas na área de enxertia.

Palavras-chave: aloenxerto ósseo, reparação pélvica, reparação óssea.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 10.9.2004.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Viçosa. Dep. de Veterinária, 36570-000 Viçosa, MG. ricarlo@ufv.br

## ABSTRACT

### PUBIC AND ISCHIAL RECONSTRUCTION WITH CORTICAL GLYCERIN PRESERVED CANCELLOUS BONE ALLOGRAFT AFTER BILATERAL OSTEOTOMY IN FEMALE DOGS

A bone allograft preserved in 98% glycerin was evaluated in the pubic and ischial reconstruction after bilateral osteotomy in 16 female dogs. In all the animals the postoperative discomfort was minimum and the return to normal deambulation occurred 24 hours after surgery. Appetite and urination were reestablished within 24 hours and defecation within 48 hours. In *post mortem* analysis, allograft stability was observed after the 60<sup>th</sup> day post-surgery in all the animals, regardless of the presence of fibrous conjunctive tissue. X rays showed the beginning of the repair process in the contact area allograft/host pelvis in 64.3% of the animals after the 45<sup>th</sup> day, reaching completion on the 60<sup>th</sup> day in 16.7% and on the 75<sup>th</sup> in 40.0% of the animals. Endochondral growth was observed beginning on the 45<sup>th</sup> day and vascular tunnels both in the allograft and in the host pelvis were observed after the 75<sup>th</sup> day. The bone allografts maintained the integrity of the pelvis and hip articulation. The allograft/host pelvis interface was filled with fibrous conjunctive tissue and the graft repair was dependent on osseous re-absorption and deposition.

Key words: bone allograft, pelvic repair, bone repair.

## INTRODUÇÃO

As fraturas pélvicas apresentam grande facilidade de consolidação, devido aos volumosos grupos musculares que impedem o afastamento ósseo (4). Entretanto, quando há deslocamento expressivo, pode ocorrer redução do canal pélvico, determinando obstipação e megacólon (3).

O mau alinhamento das fraturas pélvicas é um fator desencadeante de retenção fecal e complicações no parto (15), e um bom alinhamento desses ossos pode ser obtido por meio de manipulações retais diárias (9, 11). Entretanto, estas podem ser lesivas aos tecidos moles quando a fratura apresenta espículas e, indubitavelmente, o estreitamento pélvico somente será evitado com o espaçamento mecânico, que poderá ser obtido com próteses metálicas, auto-enxertos ou aloenxertos ósseos.

Os diversos meios de fixação óssea em fraturas pélvicas envolvem pinos intramedulares, fios metálicos, talas, placas e parafusos (4). Além disso, o aloenxerto ósseo pode incrementar os recursos disponíveis para alargamento pélvico pós-fratura e vem sendo utilizado na medicina humana para substituir áreas ósseas ressecadas devido a presença de tumores (13).

Vários métodos de preservação e modificação do enxerto têm sido criados para reduzir sua imunogenicidade (12), e o uso de glicerina como meio preservador foi considerado eficaz (6), pois manteve o osso livre de contaminação, além do baixo custo e fácil manuseio. Foi utilizado aloenxerto cortical fresco na reconstrução de sínfise pélvica em gato, e durante nove meses de avaliação não se observaram sinais de rejeição (10).

A revascularização de aloenxertos congelados e a sua substituição por tecido ósseo novo foram lentas e parciais em pacientes humanos, sem determinar rejeição ao enxerto (1).

A hemipelvectomy completa ou incompleta tem sido o tratamento de escolha para ressecção de tumores ósseos pélvicos primários no homem, porém o estreitamento do canal pélvico ou a instabilidade articular podem ocorrer com o uso desta técnica, podendo ser evitados com a aplicação de aloenxerto ósseo preservado (13, 18).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a evolução do aloenxerto corticoesponjoso, preservado em glicerina 98%, usado na reconstrução isquiopúbica de cães, após ressecção experimental.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os enxertos, obtidos de forma estéril (oriundos de cadelas adultas sem raça definida, com peso variando entre 10 e 20 kg, que tiveram o sacrifício recomendado, por causas não-infecciosas, e da pelve dos animais do grupo experimental), foram acondicionados em vidros estéreis, contendo glicerina 98%<sup>3</sup>, em quantidade suficiente para cobrir os ossos, e mantidos em temperatura ambiente por um período superior a 30 dias.

Para compor o grupo experimental, foram utilizadas 16 cadelas, com as mesmas características físicas dos animais doadores, numeradas de 1 a 16, alojadas em gaiolas individuais e submetidas a 15 dias de observação.

Após administração oral de picossulfato sódico<sup>4</sup> (7,5 mg/animal), 24 horas antes da cirurgia, e jejum alimentar de 12 horas, as cadelas foram pré-medicadas com acepromazina<sup>5</sup> (0,1 mg/kg/IV) e meperidina<sup>6</sup> (3,3 mg/kg/IM). Em seguida, foram submetidas à anestesia epidural lombossacra com lidocaína<sup>7</sup> a 2% (1 mL/4,5 kg), e a anestesia geral foi induzida por tiopental sódico<sup>8</sup> e mantida com halotano<sup>9</sup>.

---

<sup>3</sup> Glicerina PA 98%, Dinâmica Ltda.

<sup>4</sup> Guttalax, Boehringer Ingelheim Ltda.

<sup>5</sup> Acepram, Univet S.A.

<sup>6</sup> Dolosal, Cristália Ltda.

<sup>7</sup> Lidovet, Bravet Ltda.

<sup>8</sup> Tiopenthax, Cristália Ltda.

<sup>9</sup> Halothano, Cristália Ltda.

Após a antissepsia das regiões abdominal ventral e pélvica e a contenção das cadelas em decúbito dorsal, foi realizada uma incisão de pele e tecido subcutâneo, na linha média ventral, iniciando-se no limite entre as cavidades abdominal e pélvica até a proximidade da vulva. Em seguida, os músculos adutor e grácil, de ambos os antímeros, foram afastados com uma rugina até completa visualização do osso púbico, vasos sanguíneos e nervos obturadores. Foram realizadas osteotomias nos ossos púbicos e isquiádicos, de ambos os lados, cerca de 1 cm a partir da sínfise pélvica, com serra circular acoplada em motor elétrico de suspensão. Após a osteotomia isquiopúbica bilateral, os músculos obturadores internos foram afastados com um bisturi, liberando assim a peça óssea, que foi então destituída dos tecidos moles e preservada em temperatura ambiente, em vidro estéril contendo glicerina 98%, servindo de aloenxerto para outro animal. Após a remoção da peça óssea, a cavidade pélvica foi abordada.

Nas quatro linhas de osteotomia da pelve foram realizadas perfurações com broca de 1 mm de diâmetro, repetindo-se o procedimento no aloenxerto previamente reidratado em solução aquosa contendo NaCl 0,9% + neomicina 1% por, no mínimo, 30 minutos. O enxerto foi acoplado às extremidades ósseas livres da pelve e fixado, por meio de cerclagem, com fio ortopédico de aço número 2 (Figura 1). A musculatura e fáscia muscular foram aproximadas com suturas do tipo x, e o tecido subcutâneo e pele reaproximados com sutura contínua, utilizando-se fio mononáilon 2-0.

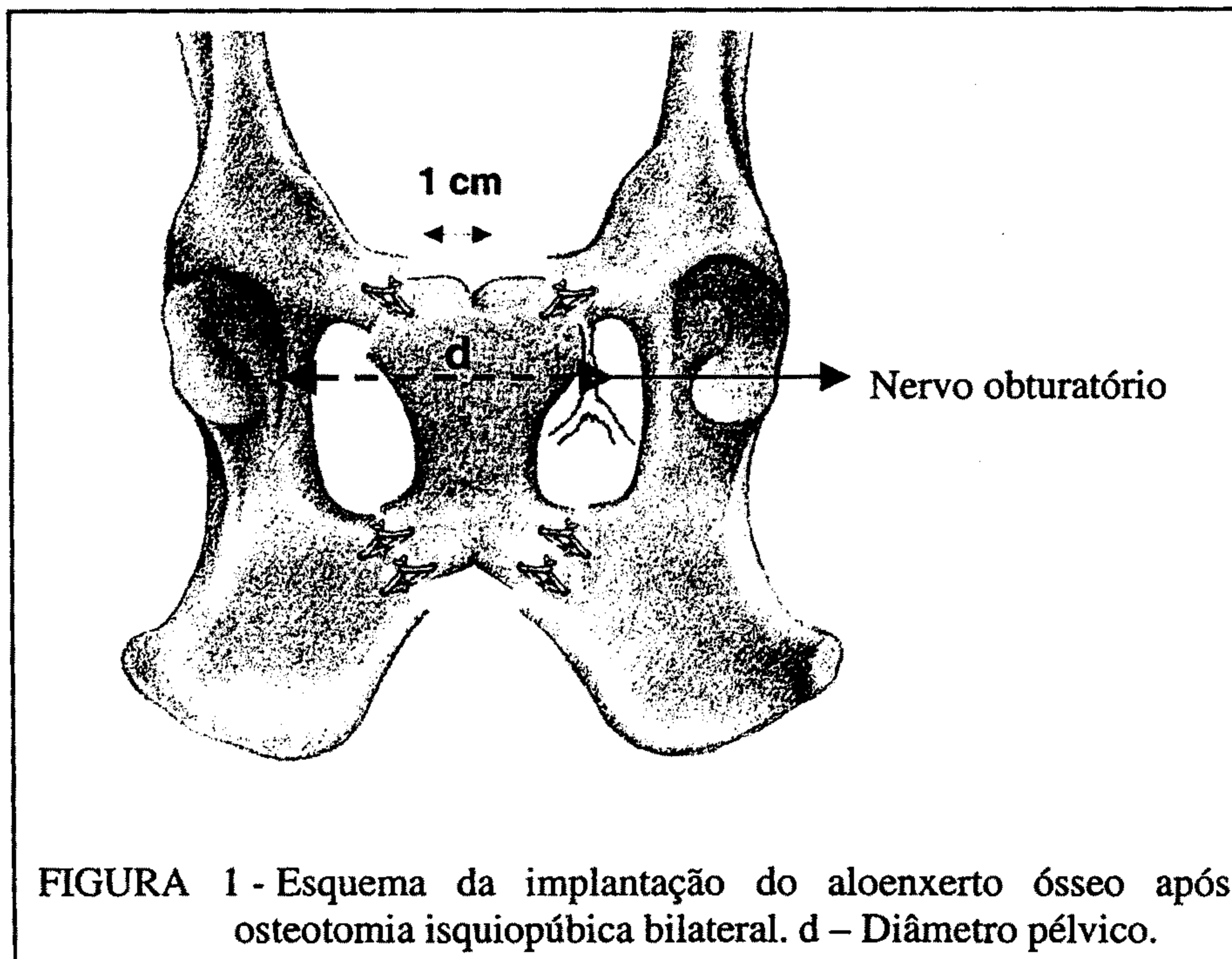


FIGURA 1 - Esquema da implantação do aloenxerto ósseo após osteotomia isquiopúbica bilateral. d – Diâmetro pélvico.

No pós-operatório foram administrados enrofloxacina<sup>10</sup> (5 mg/kg/SC) a cada 24 horas por sete dias; sulfato de morfina<sup>11</sup> (solução oral, 0,5 mg/kg) a cada seis horas, por três dias; e cetoprofeno<sup>12</sup> (2,0 mg/kg/IV) a cada 24 horas, por três dias.

Os animais foram mantidos em canis individuais, para restringir seus movimentos, e alimentados com ração industrial e água à vontade.

Exames clínicos foram realizados diariamente, nos primeiros 15 dias após a cirurgia, constituindo-se de avaliação da temperatura retal, estado geral do paciente, aspecto do local abordado, tipo de deambulação e presença de micção e defecação.

Radiografias convencionais da pelve em posicionamento ventrodorsal, visando avaliar o processo de reparação e a integridade das articulações coxofemorais, foram realizadas no pós-cirúrgico imediato e aos 15, 45, 60 e 75 dias após as cirurgias. A manutenção do diâmetro pélvico foi avaliada nos mesmos períodos, por meio de uma linha traçada a partir do ponto médio dos dois acetábulos (Figuras 1 e 2A). Objetivando reduzir o volume fecal na região a ser avaliada no pós-operatório, foi administrado picossulfato sódico oral (7,5 mg/cão) 24 horas antes dos procedimentos radiográficos.

Para permitir as avaliações macro e microscópica, dois animais foram sacrificados com sobredosagem anestésica (pentobarbital sódico) aos 15, 45, 60 e 75 dias após as cirurgias. Na necropsia, a pelve dos cães foi avaliada, quanto à estabilidade da região de contato aloenxerto/pelve hospedeira, sendo o local palpado antes e após a remoção do tecido conjuntivo fibroso depositado na região. A área de contato aloenxerto/pelve hospedeira foi coletada e fixada em formol 10%, por 48 horas. Após a fixação, os fragmentos foram colocados em solução descalcificante composta de ácido fórmico, citrato de sódio e água destilada, por um período de 15 a 20 dias. Os fragmentos descalcificados, após processamento de rotina, foram incluídos em parafina, e os cortes, corados com hematoxilina-eosina para posterior avaliação da interface peça óssea/pelve hospedeira em microscopia de luz.

A fim de verificar a eficácia do meio preservador, fragmentos de enxertos mantidos em glicerina 98%, por 30 dias, foram colocados em meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI) e mantidos em estufa a 37°C, por 48 horas, permitindo avaliar a presença ou ausência de fungos e, ou, bactérias no material.

---

<sup>10</sup> Baytril, Bayer S.A.

<sup>11</sup> Dimorf, Cristália Ltda.

<sup>12</sup> Ketofen, Rhodia-Mérieux Ltda.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A abordagem à cavidade pélvica permitiu adequada visualização dos órgãos e estruturas, possibilitando a reparação de possíveis lesões. No entanto, diferentemente do preconizado por Allen e Crowell (2), o acesso cirúrgico foi recomposto por aloenxerto ósseo.

A aplicação de prótese isquiopúbica metálica (15), de forma semelhante aos resultados do presente experimento, manteve o diâmetro da cavidade pélvica dos cães, evitando o estreitamento do canal pélvico após fratura experimental, mas o aloenxerto ósseo não ocasionou os problemas advindos do estresse mecânico local, ocorrido pela resistência de diferentes materiais na interface osso/metal, que culminou em fratura (13).

O aloenxerto fresco pode determinar exagerada resposta imunológica, retardando a reparação (12). Porém, a diminuição da resposta imunológica após o uso de ossos preservados vem sendo citada ao longo do tempo (8, 14) e, especificamente, tem sido enfatizada (6, 16, 17) a diminuição da imunogenicidade de ossos preservados em glicerina. Neste trabalho, nenhum indício de rejeição foi verificado até os 75 dias de observação. Também ao exame histológico não foram observadas quantidades significativas de células linfoplasmocitárias que indicassem rejeição, e a avaliação microbiológica não revelou fungos ou bactérias. Estes resultados indicam que a glicerina 98% não só reduziu as características imunogênicas do enxerto como também o manteve livre de contaminação.

Em média, a defecação sem desconforto foi restabelecida 48 horas após a cirurgia, e o retorno à deambulação normal ocorreu em 24 horas, como no experimento de Davies e Read (7). Infere-se que o uso de analgésicos opióides pode ter participado no alívio da dor e colaborado para o pronto restabelecimento.

Semelhantemente ao observado em pacientes humanos (13), os animais do experimento, ao caminhar em piso liso, demonstraram dificuldade na adução dos membros, atribuída à dissecação dos músculos adutor e grácil. Recomenda-se que os animais tenham os movimentos restringidos por 15 dias, até o retorno da estabilidade na região operada.

Embora o experimento tenha sido realizado com cães de mesmo porte, na cirurgia verificou-se que nem sempre o comprimento dos aloenxertos ósseos coincidia com as dimensões da estrutura óssea hospedeira: 37,5% eram semelhantes ao osso original extraído; 43,75%, menores; e 18,75%, maiores. Apesar das diferenças e dos ajustes necessários durante a cirurgia, pelos raios X os aloenxertos mantiveram o diâmetro pélvico, mensurado entre os pontos médios dos dois acetábulos, e não induziram alterações nas articulações coxofemorais (Figuras 2A e 2D).

Radiograficamente, até os 15 dias após a cirurgia o aloenxerto

manteve-se justaposto à pelve hospedeira (Figura 2B) em 15 animais. Em um animal (cadela 5) houve deslocamento do aloenxerto aos 15 dias, e em outro (cadela 3), aos 45. Neste, o aloenxerto usado na reparação foi ligeiramente menor, em comprimento, que as estruturas receptoras na pelve. A partir de 45 dias, foi evidente o início da obliteração da linha de fratura radioluscente no contato aloenxerto/pelve hospedeira em nove animais (64,3%), que estava completa aos 60 dias (Figura 2C) em dois animais (16,7%) e em quatro (40%) aos 75 dias após a cirurgia (Figura 2D). Uma pseudo-artrose foi observada num ponto de fixação ao púbis na cadela número 13, aos 75 dias de avaliação. Perda da densidade do aloenxerto, característica de osteólise, foi observada nas cadelas 15 e 16, a partir dos 60 dias, provavelmente relacionada à perda de estabilidade do aloenxerto.

Ao exame macroscópico *post mortem*, em todos os animais, foi observada intensa deposição de tecido conjuntivo fibroso sobre a região de enxertia, que participou efetivamente da estabilização da pelve e do aloenxerto, principalmente aos 45 dias após a cirurgia.

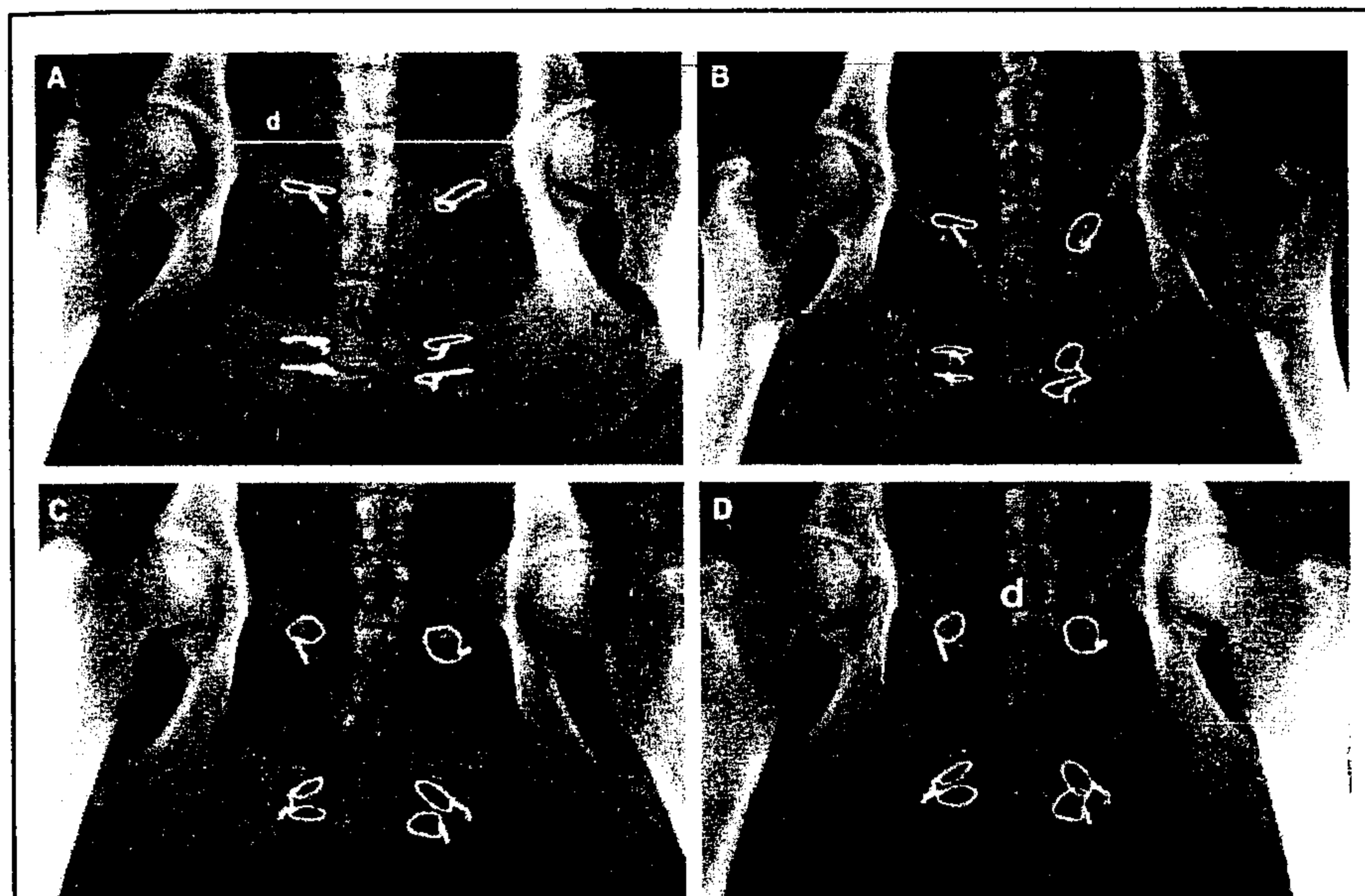


FIGURA 2 - Radiografias do animal 14 logo após a cirurgia (A), (B) aos 15, (C) 60 dias e (D) 75 dias após. Reparação óssea completa a partir de 60 dias pós-cirúrgicos, manutenção do diâmetro pélvico (d) pelo aloenxerto ósseo e ausência de alterações radiográficas nas articulações coxofemorais até os 75 dias de avaliação.

Microscopicamente foram observados, aos 15 dias, núcleos de formação de tecido cartilaginoso a partir da pelve hospedeira (Figura 3A) e proliferação fibroblástica na interface aloenxerto/pelve. Aos 45 dias, foi verificada, na interface, deposição de tecido conjuntivo fibroso com ampla vascularização e reabsorção óssea no aloenxerto (Figura 4). Também estava presente tecido cartilaginoso, tanto no aloenxerto quanto na pelve hospedeira (Figura 3B), com formação de osso trabecular com túneis vasculares no aloenxerto, à semelhança do descrito por Burchardt (5).

A partir dos 60 dias, foram notadas na pelve hospedeira áreas de formação óssea subperiosteal. A interface estava preenchida por tecido conjuntivo fibroso, que integrava as extremidades aloenxerto/pelve, observando-se também intensa reabsorção óssea no local (Figura 3C), indicativa de que o processo de reparação estava em desenvolvimento.

Aos 75 dias, os túneis vasculares eram mais numerosos, evidenciando-se a formação de osso novo (Figura 3D). Entretanto, áreas de hemorragia sugeriam a ruptura de vasos sanguíneos, o que pode ter induzido à formação de calo cartilaginoso, conforme observado em alguns espécimes histológicos.

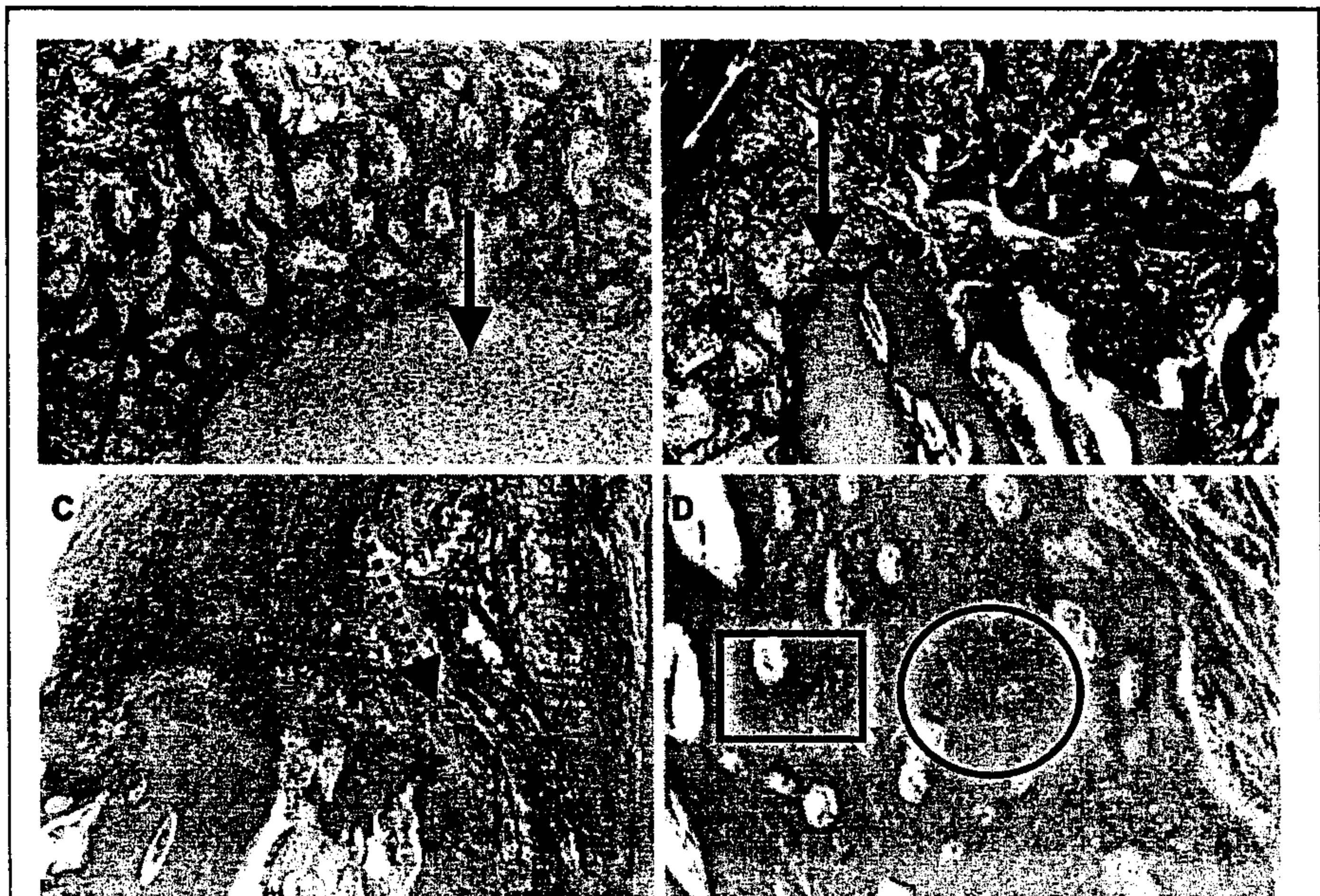
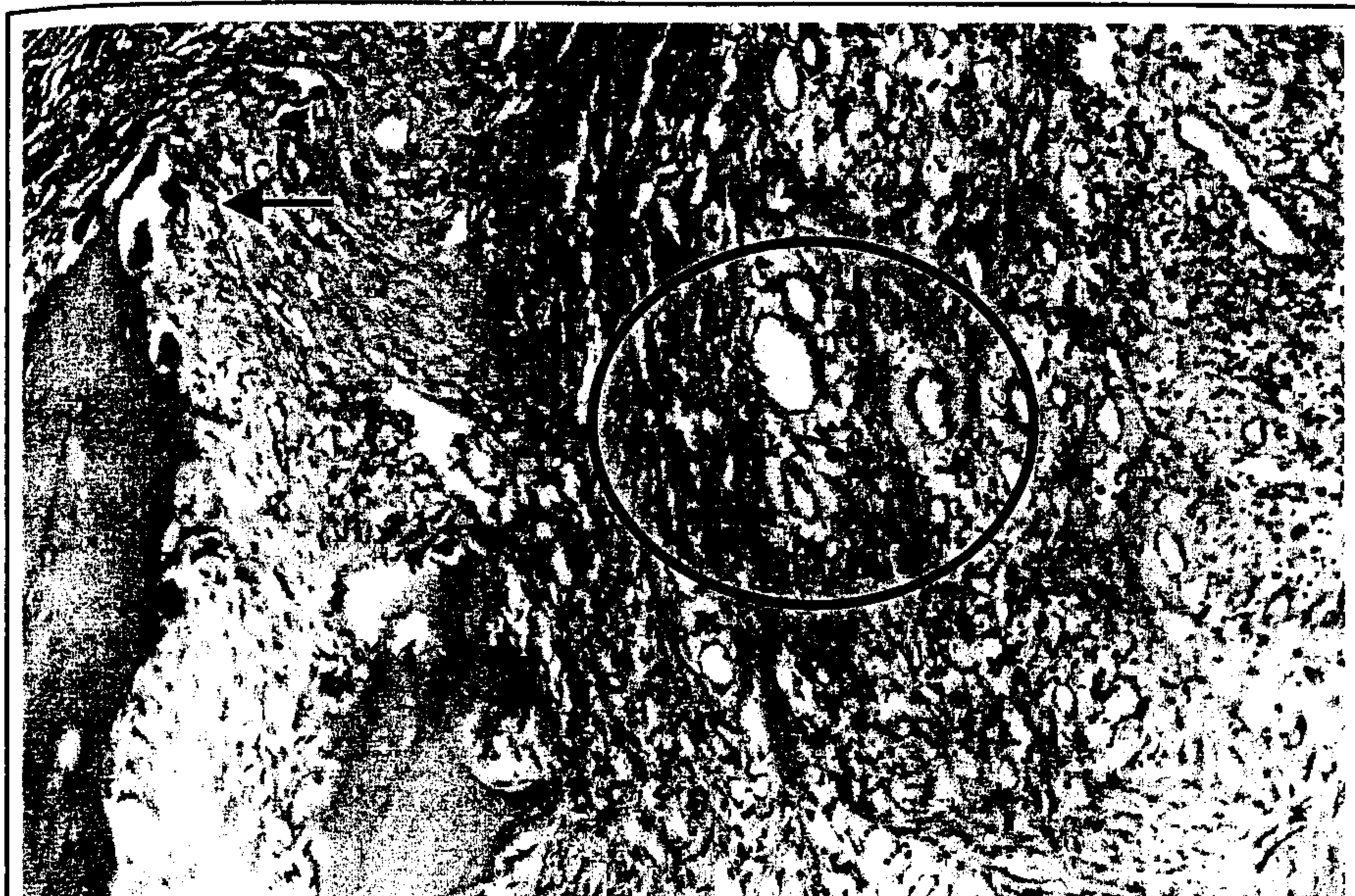


FIGURA 3 - Fotomicrografias da área de contato aloenxerto/pelve hospedeira. (A) aos 15, (B) 45, (C) 60 e (D) 75 dias pós-cirúrgicos. Formação de tecido cartilaginoso na pelve hospedeira (seta) e no enxerto (cabeça de seta), deposição de tecido conjuntivo fibroso integrando os fragmentos (seta tracejada), formação de osso novo (círculo) e túneis vasculares (quadrado). HE, 63 X.





**FIGURA 4** - Fotomicrografia da área de contato aloenxerto/pelve hospedeira aos 45 dias após a cirurgia. Notar osteoclastos reabsorvendo o enxerto (seta) e ampla vascularização do tecido conjuntivo fibroso depositado na interface (círculo). HE, 100 X.

## CONCLUSÕES

1) Os aloenxertos ósseos preservados em glicerina e utilizados na reconstrução isquiopúbica de cadelas são capazes de manter o espaçamento da pelve e a integridade das articulações coxofemorais, mas quando sua largura é menor que a da área receptora podem sofrer deslocamento, instabilidade e osteólise.

2) A interface aloenxerto/pelve hospedeira é preenchida por tecido conjuntivo fibroso, que integra as extremidades, e a reparação ocorre por reabsorção e deposição ósseas na área de enxertia.

## REFERÊNCIAS

1. AHO, A.J.; EKFOR, T. & DEAN, P.B. Incorporation and clinical results of large allografts of the extremities and pelvis. *Clinical Orthopaedics and Related Researches*, 307:200-13, 1994.
2. ALLEN, S.W. & CROWELL, W.A. Ventral approach to the pelvic canal in the female dog. *Veterinary Surgery*, 20(2):118-21, 1991.
3. BETTS, C.W. Fraturas Pélvicas. In: SLATTER, D. *Manual de cirurgia de pequenos animais*. 2 ed. São Paulo, Manole, v.2, 1998.p. 2094-112.
4. BRINKER, W.O.; PIERMATEI, D.L. & FLO, G.L. Fraturas da pélvis. In: \_\_\_\_ *Manual*

- de ortopedia e tratamento das fraturas dos pequenos animais. São Paulo, Manole, 1986. p.53-77.
5. BURCHARDT, H. Biology of bone transplantation. *Orthopedic Clinics of North America*, 18 (2): p.187-96, 1987.
  6. COSTA, J.L.O. Reconstrução de grande falha óssea com enxerto cortical alógeno preservado em glicerina, fixado com placa e parafuso de aço inoxidável da série 304. Estudo experimental em cães (*Canis familiares*). Jaboticabal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 1996. 100 p. (Dissertação de mestrado).
  7. DAVIES, J.V. & READ, H.M. Sagittal pubic osteotomy in the investigation and treatment of intrapelvic neoplasia in the dog. *Journal of Small Animal Practice*, 31:123-30, 1990.
  8. DEL CARLO, R.J.; GALVÃO, S.R. & VILÓRIA, M.I.V. Aloenxertos ósseos caninos diferentemente preservados. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, 6(3):121-26, 1999.
  9. EATON-WELLS, R.D.; MATIS, U. & ROBINS, G.M. Pelvic fractures. In: WHITTICK, W. G. *Canine orthopedics*. 2 ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1990. p. 387-471.
  10. EVANS, I. Use of an allogeneic bone grafts to enlarge the pelvic outlet in a cat. *Veterinary Medicine Small Animal Clinician*, 75(2):218-20, 1980.
  11. FOSSUM, T.W. Surgery of the urinary bladder and urethra. In: \_\_\_\_\_ *Small animal surgery*. St. Louis, Mosby, 1997. p. 481-515.
  12. GOLDBERG, V.M. & STEVENSON, S. Natural history of autografts and allografts. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 225:7-16, 1987.
  13. HARRINGTON, K.D. The use of hemipelvic allografts or autoclaved grafts for reconstruction after wide resections of malignant tumors of the pelvis. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 74-A(3):331-41, 1992.
  14. IAMAGUTI, P. Tratamento das fraturas em cães (*Canis familiares*) por implante ósseo homólogo preservado e associado ao pino intramedular de Steimann. Botucatu, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual Paulista, 1973. 61 p. (Tese de doutorado).
  15. KNECHT, C.D. A symphyseal approach to the pelvic surgery in the dog. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 149(12):1729-35, 1966.
  16. MELO, E.G. Glicerol como meio conservante de aloenxerto ósseo. Estudo experimental em cães (*Canis familiares*). Belo Horizonte, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1997. 65 p. (Dissertação de mestrado).
  17. PIGOSSI, N. Implantação de dura-máter homóloga conservada em glicerina. Estudo experimental em cães. São Paulo, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 1964. 62p. (Tese de doutorado).
  18. WURTZ, L.D.; PEABODY, T.D. & SIMON, M.A. Delay in the diagnosis and treatment of primary bone sarcoma of the pelvis. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 81-A(3):317-25, 1999.