

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**DISSERTAÇÃO**

**ESTUDO CLÍNICO-CIRÚRGICO E MORFOMÉTRICO DA  
REGENERAÇÃO ÓSSEA EM XENOIMPLANTE BOVINO E  
ALOIMPLANTE EM TÍBIA DE CÃES TRATADOS E NÃO  
TRATADOS COM NIMESULIDE**

**VIVIANE DE SOUZA CARDOSO**

**2003**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTUDO CLÍNICO-CIRÚRGICO E MORFOMÉTRICO DA  
REGENERAÇÃO ÓSSEA EM XENOIMPLANTE BOVINO E  
ALOIMPLANTE EM TÍBIA DE CÃES TRATADOS E NÃO  
TRATADOS COM NIMESULIDE**

**VIVIANE DE SOUZA CARDOSO**

Sob a Orientação do Professor  
**PAULO OLDEMAR SCHERER**

e Co-orientação do Professor  
**EDMUNDO JORGE ABILHO**

Tese submetida como requisito parcial  
para obtenção do grau de **Magister  
Scientiae** em Medicina Veterinária,  
Área de concentração em Patologia e  
Reprodução Animal.

Seropédica, RJ  
fevereiro de 2003

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**VIVIANE DE SOUZA CARDOSO**

Tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia e Reprodução Animal, como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae**, em Medicina Veterinária.

Dissertação aprovada em 27/ 02/2003

---

Paulo Oldemar Scherer, Dr - UFRRJ  
(orientador)

---

Marta Fernanda Albuquerque da Silva, Dr<sup>a</sup> - UFRRJ

---

Carmem Helena de Carvalho Vasconcellos, Dr<sup>a</sup> - UNIMES -SP

Dedico este trabalho a todos os animais que poderão se beneficiar com o mesmo.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Paulo Oldemar Scherer, pela oportunidade a mim concedida orientando-me durante a realização deste experimento e no decorrer deste curso de pós-graduação.

Ao Prof. Ms. Edmundo Jorge Abilho, pelo incentivo e participação na realização deste experimento.

Ao Ms. Helcimar Palhano, pelo auxílio financeiro concedido pela indústria Schering Plough – Divisão Veterinária.

Ao Prof. Dr. Nicolau Maués da Serra Freire, pelo incentivo e apoio para a realização deste experimento.

A Universidade do Grande Rio pelas instalações e equipamento de raios-X.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carmem Helena de Carvalho Vasconcellos por ter aceitado participar desta banca examinadora.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marta Fernanda Albuquerque da Silva por ter aceitado participar desta banca examinadora.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	3
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	15
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	22
	<b>4.1 Resultados Clínico-cirúrgicos</b>	22
	<b>4.2 Resultados radiográficos</b>	27
	4.2.1 Resultados radiográficos do 15º dia de pós-operatório	27
	4.2.2 Resultados radiográficos do 30º dia de pós-operatório	31
	4.2.3 Resultados radiográficos do 45º dia de pós-operatório	34
	4.2.4 Resultados radiográficos do 60º dia de pós-operatório	39
	<b>4.3 Resultados Macroscópicos</b>	43
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	44
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	48
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

	página
<b>Figura 1</b> – fetos bovinos momentos antes do processamento de seus ossos longos, sendo utilizado os ossos do feto de pelagem escura.	15
<b>Figura 2</b> – fragmento de osso bovino pronto para ser preservado.	16
<b>Figura 3</b> – fragmentos ósseos imersos em solução de cefalotina sódica tamponada a 0,5% congelada.	17
<b>Figura 4</b> – osteotomia com serra circular de um fragmento ósseo no terço proximal, face medial, da tíbia esquerda de cão.	19
<b>Figura 5</b> – aspecto da tíbia após ostectomia de um fragmento, local onde será posicionado o implante ósseo.	19
<b>Figura 6</b> – aspecto da região após a síntese de pele.	20
<b>Figura 7</b> – animais momentos após o despertar anestésico.	22
<b>Figura 8</b> – Imagens radiográficas dos animais do xenoimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 15º dia de pós-operatório – 8a: animal de número 1 em exposição antero-posterior onde observa-se uma pequena reação do periósteeo. 8b: animal de número 2 em exposição látero-lateral observa-se uma pequena reação do periósteeo. 8c: animal de número 3 em exposição látero-lateral não se observa alteração na estrutura óssea. 8d: animal de número 4 em exposição antero-posterior onde observa-se discreta reação periosteal. 8e: animal de número 5 em exposição antero-posterior onde observa-se uma pequena reação do periósteeo.	27
<b>Figura 9</b> – Imagens radiográficas dos animais do xenoimplante grupo II antibiótico ao 15º dia de pós-operatório – 9a: animal de número 6 em exposição látero-lateral onde não se observa reação óssea ao implante. 9b: animal de número 7 em exposição antero-posterior sem alterações ósseas. 9c: animal de número 8 em exposição antero-posterior não se observa alteração na estrutura óssea. 9d: animal de número 9 em exposição antero-posterior onde não se constata alteração óssea. 9e: animal de número 10 em exposição látero-lateral onde não observa-se reação óssea.	28

**Figura 10** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 15º dia de pós-operatório – 10a: animal de número 11 em exposição látero-lateral onde observa-se uma reação do perióstio. 10b: animal de número 12 em exposição látero-lateral observa-se uma pequena reação do perióstio. 10c: animal de número 13 em exposição látero-lateral se observa com maior nitidez o implante com abaulamento de seu formato, tendência à formação de pontes ósseas. 10d: animal de número 14 em exposição látero-lateral onde observa-se reação periosteal. 10e: animal de número 15 em exposição látero-lateral onde observa-se uma pequena reação do perióstio.

29

**Figura 11** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo II antibiótico ao 15º dia de pós-operatório – 11a: animal de número 16 em exposição látero-lateral onde observam-se linhas de osteotomias bem definidas. 11b: animal de número 17 em exposição látero-lateral observa-se uma pequena reação do perióstio. 11c: animal de número 18 em exposição látero-lateral se observa pequena reação periosteal, com grande edema na região circundante ao implante. 11d: animal de número 19 em exposição antero-posterior onde observa-se discreta reação periosteal, com grande edema na região circundante ao implante. 11e: animal de número 20 em exposição látero-lateral onde observa-se uma pequena reação do perióstio.

30

**Figura 12**– Imagens radiográficas dos animais do xenoimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 30º dia de pós-operatório – 12a: animal de número 1 em exposição látero-lateral onde observa-se uma reação do perióstio. 12b: animal de número 2 em exposição antero-posterior observa-se uma pequena reação do perióstio. 12c: animal de número 3 em exposição látero-lateral linhas de osteotomia evidentes. 12d: animal de número 4 em exposição antero-posterior onde observa-se moderada reação periosteal. 12e: animal de número 5 em exposição látero-lateral onde observa-se uma pequena reação do perióstio.

31



**Figura 13** – Imagens radiográficas dos animais do xenoplante grupo II antibiótico ao 30º dia de pós-operatório – 13a: animal de número 6 em exposição antero-posterior onde se observa pequena reação periosteal ao implante. 13b: animal de número 7 em exposição antero-posterior sem alterações ósseas. 13c: animal de número 8 em exposição antero-posterior com discreta reação no perióstio. 13d: animal de número 9 em exposição antero-posterior onde se constata pequena reação periosteal. 13e: animal de número 10 em exposição látero-lateral onde não observa-se reação óssea, tendo como alteração a diminuição do edema adjacente.

32

**Figura 14** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 30º dia de pós-operatório – 14a: animal de número 11 em exposição antero-posterior onde observa-se reação do perióstio, presença de calo ósseo com formação de ponte óssea. 14b: animal de número 12 em exposição antero-posterior observa-se reação do perióstio com presença de calo ósseo com formação de ponte óssea. 14c: animal de número 13 em exposição látero-lateral se observa o implante com o abaulamento de seu formato, formação de pontes ósseas. 14d: animal de número 14 em exposição látero-lateral onde observa-se reação periosteal. 14e: animal de número 15 em exposição látero-lateral onde observa-se uma pequena reação do perióstio mais acentuada que aos 15 dias de pós-operatório.

33

**Figura 15** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo II antibiótico ao 30º dia de pós-operatório – 15a: animal de número 16 em exposição látero-lateral onde observa-se linhas de osteotomias bem definidas. 15b: animal de número 17 em exposição látero-lateral observa-se uma pequena reação do perióstio. 15c: animal de número 18 em exposição látero-lateral se observa pequena reação periosteal. 15d: animal de número 19 em exposição antero-posterior onde observa-se discreta reação periosteal. 15e: animal de número 20 em exposição látero-lateral

onde observa-se uma pequena reação do periósteeo.

34

**Figura 16**– Imagens radiográficas dos animais do xenoimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 45º dia de pós-operatório – 16a: animal de número 1 em exposição látero-lateral onde observa-se uma reação do periósteeo. 16b: animal de número 2 em exposição antero-posterior observa-se reação do periósteeo com início de formação de calo ósseo. 16c: animal de número 3 em exposição látero-lateral linhas de osteotomia menos evidentes. 16d: animal de número 4 em exposição antero-posterior onde observa-se reação periosteal com iniciação da formação de calo ósseo. 16e: animal de número 5 em exposição látero-lateral onde observa-se reação periosteal.

35

**Figura 17** – Imagens radiográficas dos animais do xenoimplante grupo II antibiótico ao 45º dia de pós-operatório – 17a: animal de número 6 em exposição látero-lateral onde se observa maior reação periosteal ao implante. 17b: animal de número 7 em exposição antero-posterior com moderada reação periosteal. 17c: animal de número 8 em exposição antero-posterior com discreta reação no periósteeo. 17d: animal de número 9 em exposição antero-posterior onde se constata reação periosteal. 17e: animal de número 10 em exposição látero-lateral onde observa-se reação periosteal.

36

**Figura 18** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 45º dia de pós-operatório – 18a: animal de número 11 em exposição látero-lateral onde observa-se reação do periósteeo com linhas de osteotomias menos perceptíveis. 18b: animal de número 12 em exposição látero-lateral observa-se reação do periósteeo com presença de calo ósseo e com formação de ponte óssea. 18c: animal de número 13 em exposição antero-posterior notam-se linhas de osteotomias menos perceptíveis. 18d: animal de número 14 em exposição látero-lateral onde observa-se implante sem linhas de osteotomias. 18e: animal de número 15 em exposição antero-posterior onde observa-se reação do periósteeo mais acentuada que aos 30 dias de pós-operatório.

37

**Figura 19** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante

grupo II antibiótico ao 45º dia de pós-operatório – 19a: animal de número 16 em exposição látero-lateral onde observam-se linhas de osteotomias menos evidentes. 19b: animal de número 17 em exposição látero-lateral observa-se reação do perióstio. 19c: animal de número 18 em exposição antero-posterior se observa reação periosteal. 19d: animal de número 19 em exposição látero-lateral onde observa-se reação periosteal com linhas de osteotomias menos evidentes. 19e: animal de número 20 em exposição antero-posterior onde observa-se reação do perióstio.

38

**Figura 20**– Imagens radiográficas dos animais do xenoplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 60º dia de pós-operatório – 20a: animal de número 1 em exposição látero-lateral onde observa-se início da diminuição da densidade radiográfica do implante. 20b: animal de número 2 em exposição antero-posterior observa-se menor distinção do implante. 20c: animal de número 3 em exposição látero-lateral implante menos evidentes. 20d: animal de número 4 em exposição antero-posterior onde observa-se reação periosteal com iniciação da formação de calo ósseo. 20e: animal de número 5 em exposição látero-lateral onde observa-se menor distinção do implante.

39

**Figura 21** – Imagens radiográficas dos animais do xenoplante grupo II antibiótico ao 45º dia de pós-operatório – 21a: animal de número 6 em exposição látero-lateral onde se observa maior reação periosteal ao implante. 21b: animal de número 7 em exposição antero-posterior com moderada reação periosteal. 21c: animal de número 8 em exposição antero-posterior com discreta reação no perióstio. 21d: animal de número 9 em exposição antero-posterior onde se constata reação periosteal. 21e: animal de número 10 em exposição látero-lateral onde observa-se reação periosteal.

40

**Figura 22** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 60º dia de pós-operatório – 22a: animal de número 11 em exposição látero-lateral onde observa-se reação do perióstio com linhas de osteotomias pouco perceptíveis. 22b: animal de número 12 em exposição látero-lateral

observa-se reação do perióstio com presença de ponte óssea. 22c: animal de número 13 em exposição antero-posterior nota-se linhas de osteotomias menos perceptíveis. 22d: animal de número 14 em exposição látero-lateral onde observa-se implante sem linhas de osteotomias. 22e: animal de número 15 em exposição látero-lateral onde observa-se linhas de osteotomia pouco nítidas.

41

**Figura 23** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo II antibiótico ao 60º dia de pós-operatório –23a: animal de número 16 em exposição antero-posterior onde observam-se linhas de osteotomias menos evidentes. 23b: animal de número 17 em exposição látero-lateral observa-se reação do perióstio. 23c: animal de número 18 em exposição antero-posterior se observa reação periosteal. 23d: animal de número 19 em exposição látero-lateral onde observa-se reação periosteal com linhas de osteotomias menos evidentes. 23e: animal de número 20 em exposição antero-posterior onde observa-se reação do perióstio.

42

## ÍNDICE DE QUADROS

página

- Quadro 1 – Demonstrativo dos resultados do acompanhamento da temperatura retal, estado geral do animal, aspecto da área do implante e da morfometria de circunferência do apêndice locomotor posterior esquerdo, dos animais do grupo xenoplante I – antiinflamatório e antibiótico. 23
- Quadro 2 – Demonstrativo dos resultados do acompanhamento da temperatura retal, estado geral do animal, aspecto da área do implante e da morfometria de circunferência do apêndice locomotor posterior esquerdo, dos animais do grupo xenoplante II – antibiótico. 24
- Quadro 3 - Demonstrativo dos resultados do acompanhamento da temperatura retal, estado geral do animal, aspecto da área do implante e da morfometria de circunferência do apêndice locomotor posterior esquerdo, dos animais do grupo aloimplante I – antiinflamatório e antibiótico. 25
- Quadro 4 - Demonstrativo dos resultados do acompanhamento da temperatura retal, estado geral do animal, aspecto da área do implante e da morfometria de circunferência do apêndice locomotor posterior esquerdo, dos animais do grupo aloimplante II – antibiótico. 26

## RESUMO

CARDOSO, Viviane de Souza. **ESTUDO CLÍNICO-CIRÚRGICO E MORFOMÉTRICO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA EM XENOIMPLANTE BOVINO E ALOIMPLANTE EM TÍBIA DE CÃES TRATADOS E NÃO TRATADOS COM NIMESULIDE**. Seropédica: UFRRJ, 2003, 53p. (Dissertação, Mestrado em Medicina Veterinária).

As fraturas sediadas nos apêndices locomotores dos pequenos animais representam grande parcela do atendimento em clínicas cirúrgicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a regeneração óssea com a utilização de aloimplantes e de xenoimplantes de feto bovino em cão, conservados em solução de cefalotina sódica tamponada a 0,5%. Foram utilizados 20 cães hígdos, adultos, sem raça definida e de médio porte. Realizou-se ostectomia de um fragmento da tíbia dos cães receptores de dimensões iguais a 10mm x 4mm onde então em seu lugar foi colocado o implante alógeno ou xenógeno, de acordo com o grupo ao qual pertencia o animal. Clinicamente, observou-se apoio do apêndice operado no dia posterior ao procedimento e estado geral do animal. A avaliação radiográfica foi realizada antes do procedimento cirúrgico e no pós-operatório imediato, aos 15, 30, 45 e 60 dias de evolução. Aos 15 dias observou-se início de formação de calo ósseo no grupo aloimplante, já no grupo xenoimplante este foi observado aos 30 dias em quase todos os animais. Não houve evidência de infecção, deformidade ou qualquer outra alteração nos apêndices operados, e comparando-se os métodos concluiu-se que o aloimplante é incorporado com maior velocidade que o xenoimplante, porém não sendo descartada a possibilidade de utilização deste.

**Palavras-chave:** implantação, feto bovino, osso.

## **ABSTRACT**

CARDOSO, Viviane de Souza. **STUDY CLINICAL-SURGICAL AND MORFOMETRY OF THE BONE REGENERATION IN BOVINE XENOGRAFT AND ALOGRAFT IN DOGS' TÍBIA TREATED IS NOT TREATED WITH NIMESULIDE.** Seropédica: UFRRJ, 2003, 53p. (Dissertation Master Science in Veterinary Medicine).

The headquartered fractures in the appendixes of the small animals represent great portion of the service in surgical clinics. The purpose of this work was evaluate the bone regeneration with the use of allografts or bovine fetus xenografts, conserved in solution of cefalotina sodic neutral to 0,5%. Twenty adult mongrel dogs were used. We done ostectomy of a fragment of the tibia of the receptor dogs with dimensions same to 10mm x 4mm where then in its place, it was put the allograft or xenograft, in agreement with the group to which belonged the animal. Clinically, support of the limb was observed in the subsequent day to the surgery and general state of the animal. The radiographic evaluation was accomplished before the surgical procedure and in the postoperative immediate, on the 15, 30, 45 and 60 days of evolution. In 15 days beginning of formation of bone callus was observed in the allograft group, already in the xenograft group this was observed to the 30 days in almost all the animals. There were no evidence infection, of deformity or any other alteration in the operated timb, and we concluded that the allograft is incorporated faster than the xenograft, however not being discarded the use possibility of this use.

**Key words:** implantation, bovine fetus, bone.

## 1 INTRODUÇÃO

A Ortopedia em Medicina Veterinária constitui importante campo da patologia cirúrgica e o número de pacientes atendidos nos ambulatórios de pequenos animais, com problemas ortopédicos, corresponde a considerável parcela da casuística total. Nos últimos 20 anos, estudos têm sido realizados resultando em grandes avanços na área ortopédica (COSTA, 1996).

Técnicas de enxertia óssea, que significa transplante de ossos, denominados enxertos, são utilizadas há muitos anos e vêm sendo desenvolvidas e aprimoradas, tornando-se capítulo essencial dentro da ortopedia veterinária, em associação ou em substituição aos implantes metálicos.

Em geral, os implantes metálicos utilizados para reparação de grandes perdas ósseas ou para a fixação de fraturas, têm propriedade de serem usados temporariamente, havendo necessidade de sua retirada quando a consolidação óssea é atingida. A rigidez metálica priva o osso de sua mecânica natural devido à grande diferença de consistência entre osso e metal, além de influenciar de forma negativa na migração do periósteo, no caso de reparação de fraturas por placas metálicas.

A aplicação de implante absorvível é considerada ideal, pois a força de manutenção de aposição dos segmentos fraturados é perdida pouco a pouco sendo desnecessária sua remoção. A maioria dos implantes absorvíveis apresenta alto custo, mas evita as taxas adicionais da retirada dos implantes metálicos convencionais, além de os animais operados com materiais biodegradáveis demonstrarem menor sensibilidade dolorosa nos apêndices locomotores (BÖSTMAN, 1991; EIMANTAS, 1997).

Neste trabalho experimental, aplicou-se técnica de implantação óssea (enxertos homostáticos) alógena e xenógena, por implantação de fragmentos de ossos de cão e de feto bovino preservados em solução de cefalotina sódica tamponada a 0,5% segundo método desenvolvido por DEL CARLO et al (1999), após ostectomia e substituição de um fragmento da diáfise tibial proximal esquerda de cães, com a finalidade de se avaliar a regeneração óssea e assim desenvolver a técnica da implantação, observando-se o tempo inicial da reação periosteal, quando ocorre à união óssea e se instala o processo de remodelação, se o implante cortical apresenta suporte mecânico para migração do



periósteo e se não desenvolve qualquer reação imunológica que poderia prejudicar sua aplicação.

O sucesso da enxertia óssea depende da adequada estabilização do enxerto, assim o fragmento implantado foi fixado por compressão e sobre este as fibras musculares também exerceram suas forças garantindo o apoio precoce importante no processo de remodelação óssea; não foi utilizado nenhum outro material para esta fixação o que poderia influenciar uma reação imunológica entre o osso e o fragmento implantado.

Este trabalho teve como objetivo buscar um método eficiente para a utilização de implantes ósseos na reparação de perdas ou falhas ósseas seja por fraturas cominutivas ou múltiplas, pseudo-artrose ou ainda após a remoção de tumores ósseos primários, restabelecendo a biomecânica dos tecidos ósseos, juntamente com a formulação de um banco de ossos viável, em termos de técnica e custos, avaliar a ação do antiinflamatório nimesulide e a eficácia do antibiótico gentamicina na dose de 1mg /Kg.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

O osso é um tecido complexo que contém muitas células específicas para esta estrutura. Os osteoblastos são células uninucleadas derivadas de precursores mesenquimais ou células osteoprogenitoras, responsáveis pela formação do osso. Os osteócitos são osteoblastos circundados por matriz óssea, já os osteoclastos são as células multinucleadas responsáveis pela reabsorção do osso e que derivam da linha celular macrófago-monócito. O componente acelular do tecido conjuntivo do osso difere do da pele, por consistir em uma matriz tanto inorgânica quanto orgânica. A matriz inorgânica consiste essencialmente em sais de cálcio, com a hidroxiapatita representando a maior porção. A matriz orgânica é mais semelhante à matriz dérmica, consistindo em colágeno (90 a 95% do tipo I), glico-proteínas e proteoglicanos (HAM, 1977; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

O osso é também um tecido altamente vascularizado, com três fontes de suprimento sanguíneo: perióstio (o revestimento vascularizado que circunda o osso), endóstio (proveniente da medula óssea e dos vasos nutrientes) e tecidos moles circundantes. Quando ocorre uma fratura, o suprimento sanguíneo para esta porção do osso é interrompido. As forças de alta energia resultam em fraturas associadas a uma maior ruptura do suprimento sanguíneo, pois em geral, estão associadas a uma ruptura perióstia mais extensa e traumatismo do leito vascular circundante (HAM, 1977; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

O osso é um tecido dinâmico, que sofre alterações precoces e contínuas, induzidas por uma ampla variedade de processos. A modelagem é o processo de formação e modificação do osso durante o crescimento esquelético. A remodelagem envolve as mudanças contínuas que ocorrem durante a vida adulta, à medida que prosseguem a reabsorção e a formação do osso novo. Acoplagem (pareamento) é o processo pelo qual a reabsorção osteoclástica é acompanhada, eventualmente, pela formação óssea osteoblástica, de forma que as modificações metabólicas no osso ocorrem sem ganho ou perda global de osso. Esses processos ocorrem no osso à medida que prossegue a cicatrização (consolidação) (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

A cicatrização do osso torna-se necessária em duas circunstâncias: fraturas traumáticas e osteotomias cirúrgicas. A reparação destas lesões resulta na deposição de osso novo que possui o potencial de ser tão altamente organizado que se torna difícil

identificar o local da fratura. Outras vezes, a consolidação óssea resulta em deposição óssea exuberante no local da fratura, se isto ocorre quando os segmentos da fratura estão alinhados precariamente, resulta em uma união defeituosa. Se ocorrer deposição óssea insuficiente, não haverá estabilidade dos segmentos fraturados, e o resultado será a ausência de consolidação (pseudo-artrose). Os eventos iniciais na consolidação óssea são bastante semelhantes aos observados na cicatrização cutânea, porém os processos subseqüentes são específicos para o osso (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

A migração celular para dentro do local da fratura se processa a partir de múltiplas fontes: medula óssea, endóstio e perióstio. Neutrófilos, macrófagos e mastócitos migram precocemente para dentro do local da fratura. Os macrófagos e as células gigantes realizam o debridamento da ferida com remoção da proteína desvitalizada, enquanto os osteoclastos começam a remover o osso morto e a reabsorver as superfícies fraturadas (HAM, 1977; ROBBINS et al., 1992; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

Logo após o estabelecimento da fase inflamatória, células mesenquimais precursoras e osteoprogenitoras proliferam e migram para o local da fratura. As fontes destas células são a medula óssea, o endóstio, o perióstio e o músculo circundante. Estas células iniciam, precocemente, a formação do osso. Ainda mais, ocorre neovascularização à medida que as células musculares lisas e as células endoteliais proliferam e migram em combinação com a germinação e penetração de capilares. Com a continuação do crescimento vascular, o suprimento sangüíneo para a fratura é aprimorado, e observa-se um crescimento celular ainda maior. Células mononucleadas indiferenciadas penetram na área e a diferenciação produz os elementos celulares necessários que irão permitir a formação do osso novo definitivo: os fibroblastos que produzem colágeno e proteoglicanos; os condroblastos, que depositam novas cartilagens, e os osteoblastos, responsáveis pela produção de osteóide (HAM, 1977; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

Apesar de serem descritas como etapas distintas, os processos acima ocorrem com interrelação de suas fases. A degradação osteoclástica do osso desvitalizado prossegue à medida que, ocorrem proliferação e migração celular com subseqüente produção da matriz. Enquanto tudo isto ocorre o perióstio sofre espessamento e ocorre proliferação de tecidos moles ao redor do local da fratura, contendo todos os componentes celulares acima descritos. Os produtos dos osteoblastos, fibroblastos e condroblastos formam uma mistura de tecido fibroso, cartilagem e osso frouxamente

entrelaçado, conhecido como calo mole. Segue-se uma união fibrosa dos segmentos da fratura à medida que o calo mole circunda o local da fratura, penetra na cavidade medular e une-se ao osso. O principal componente do calo mole é a cartilagem não mineralizada. As verdadeiras contribuições de cartilagem, tecido fibroso e osso para o calo mole são consideradas como sendo moduladas pela presença ou não de fatores tipo a vascularidade, contaminação bacteriana, lesão dos tecidos moles circundantes e descolamento do osso (ROBBINS et al., 1992; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

O calo mole é transformado em osso quando os componentes cartilagosos são substituídos pelo processo de ossificação endocondral. O colágeno tipo II presente inicialmente é degradado e substituído por colágeno tipo I. A calcificação da matriz orgânica prossegue com a deposição da hidroxiapatita de cálcio e resulta na formação de uma matriz calcificada entrelaçada por vasos sanguíneos recém formados. As células osteoprogenitoras penetram através destes vasos sanguíneos e amadurecem, transformando-se em osteoblastos. Ocorre uma ossificação adicional quando o osso trançado imaturo é produzido e resulta em uma consolidação óssea do local da fratura. Neste ponto o osso consegue suportar a carga representada pelo peso do próprio animal (ROBBINS et al., 1992; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

O calo duro que acaba sendo formado substitui o calo mole e circunda e penetra o local da fratura. Há os processos de modelagem e remodelagem, para restaurar a arquitetura óssea normal e restabelecer a cavidade medular. O calo duro contém osso trançado que obedece aos padrões de crescimento vascular. Um equilíbrio de reabsorção osteoclástica e deposição osteoblástica resultam em substituição do osso trançado por camadas de osso lamelar maduro, organizado pelos estresses funcionais aplicados ao osso em particular (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

A modelagem e a remodelagem são processos contínuos que ocorrem em resposta aos estresses sempre presentes e às demandas impostas ao sistema esquelético. Estes processos têm o potencial de resultar em osso consolidado (reparado), que é praticamente indiferenciável do osso não fraturado. Entretanto dependendo da extensão da lesão inicial e do grau de deslocamento ósseo, um certo grau de calo pode estar permanentemente presente. A consolidação da fratura é influenciada pelas forças suportadas normalmente pelo osso. Os estresses mecânicos de torção, flexão e tensão são decisivos para orientar a consolidação definitiva. Com o passar do tempo, a probabilidade de falha mecânica no osso consolidado deve ser quase a mesma do osso normal (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

Os processos precedentes ocorrem em todos os locais das fraturas. Quando os segmentos são alinhados e imobilizados, o osso sofre consolidação óssea primária, a fixação rígida torna possível a remodelagem interna direta e a cicatrização intracortical. Em vez de inflamação, ossificação cartilaginosa e formação do calo, as células osteoprogenitoras presentes dentro do osso se transformam em osteoblastos, enquanto os osteoclastos se formam a partir de células de origem osteogênica ou hematogênica. Os osteoclastos migram através do local da fratura como cones de células que realizam o debridamento do osso morto. Os osteoblastos vêm logo a seguir e produzem osso trançado paralelo ao eixo longitudinal do osso; a remodelagem ocorre diretamente dentro do local da fratura, tornando o local da fratura quase imperceptível, pois a cicatrização é regenerativa (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

Como ocorre na cicatrização cutânea, um grupo de proteínas solúveis age modelando e mediando o processo de consolidação no osso. Os efeitos das proteínas morfogenéticas ósseas (BMP – *bone morphogenetic proteins*) estão relacionados diretamente com a formação de cartilagem e osso novo. Admite-se que o mecanismo de ação consiste na estimulação de células mesenquimais indiferenciadas contidas dentro do periósteo, e transformadas em condroblastos e células osteoprogenitoras. Além das osteogéninas, admite-se que vários fatores do crescimento desempenham papel vital na consolidação óssea. À semelhança da cicatrização de feridas na pele, são ativos certos fatores tipo fator de crescimento derivado das plaquetas - PDGF, fator de crescimento dos fibroblastos e citoninas pró-inflamatórias, como fator alfa de necrose tumoral. Além disto, alguns fatores são mais limitados à consolidação do osso: o fator de crescimento dos osteoclastos estimula a reabsorção óssea osteoclástica, enquanto o fator de crescimento da cartilagem resulta na produção de colágeno tipo II e afeta também a aderência celular (DEL CARLO et al., 1999).

A descrição da consolidação óssea demonstra superposição com a cicatrização das feridas dérmicas, particularmente nas áreas de inflamação e de mediação do fator de crescimento das citoninas. Enquanto, ao contrário da pele, o osso possui propriedades ímpares, como um tecido capaz de suportar estresse, que dá origem a processos de reparo das feridas que resultam em um osso que é idêntico ao osso que não sofreu qualquer lesão, em termos de integridade arquitetural e estrutural (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

O tecido ósseo é considerado ideal para enxertos, uma vez que pode ser transplantado com sucesso de um local para outro ou de um indivíduo para outro (EIMANTAS, 1997).

Os enxertos ósseos são indicados no caso de osteomielite (JOHNSON, 1995), de não-união (BRINKER et al., 1986; JOHNSON, 1995; EIMANTAS, 1997; PIERMATEI & FLO, 1997), de união retardada (BRINKER et al., 1986; COSTA, 1996; EIMANTAS, 1997; PIERMATEI & FLO, 1997), como estímulo para a consolidação óssea (BRINKER et al., 1986; COSTA, 1996; EIMANTAS, 1997; PIERMATEI & FLO, 1997) e nas osteotomias corretivas (BRINKER et al., 1986; EIMANTAS, 1997; PIERMATEI & FLO, 1997). Podem ser utilizados para preencher falhas ósseas sejam estas causadas por fraturas múltiplas ou cominutivas, excisão de cisto ou neoplasias (BRINKER et al., 1986; JOHNSON, 1995; EIMANTAS, 1997; PIERMATEI & FLO, 1997), desempenhando também um papel importante em artrodeses articulares (BRINKER et al., 1986; TSHMALA, 1993; COSTA, 1996; PIERMATEI & FLO, 1997).

O enxerto ósseo pode atuar apenas como suporte mecânico (EIMANTAS, 1997) fornecendo vários graus de sustentação (FOSSUM, 1997). O tipo de enxerto ósseo utilizado para reparação de fraturas é determinado pela função desejada para um tratamento bem sucedido (JOHNSON, 1995).

Para o processo de consolidação, o enxerto ósseo pode cooperar com as funções de osteogênese, osteoindução e osteocondução (COSTA, 1996; EIMANTAS, 1997; FOSSUM, 1997). Osteogênese é a neoformação óssea a partir dos osteoblastos ou das células osteoprogenitoras do próprio enxerto que sobreviveram ao transplante; osteoindução é o mecanismo de recrutamento e diferenciação de células mesenquimais do sítio receptor, ativada pela BMP; osteocondução é quando o enxerto serve como um arcabouço para a neoformação óssea, sendo reabsorvido lentamente e substituído por osso do animal receptor através do processo denominado “Creeping substitution” (STEVENSON, 1990). A neoformação óssea pode ser nocivamente afetada pelo uso de drogas, como a doxorubicina e metotrexato, uso de radioterapia ou má nutrição. Enxertos sob tais influências demonstram menor formação óssea (STEVENSON, 1990).

Macroscopicamente, os enxertos são classificados em cortical, esponjoso (BRINKER et al., 1986; ALEXANDER, 1987; COSTA, 1996; FOSSUM, 1997; PIERMATEI & FLO, 1997), corticoesponjoso (COSTA, 1996; FOSSUM, 1997; PIERMATEI & FLO, 1997) e osteocondral (COSTA, 1996; FOSSUM, 1997). Alguns

enxertos podem ser obtidos com seu suprimento sanguíneo intacto e transplantados usando técnicas de microanastomoses (CARNEIRO & MALININ, 1991; JOHNSON, 1995), sendo então denominados de enxertos vascularizados (JOHNSON, 1995; FOSSUM, 1997). Os enxertos corticais são obtidos a partir de ossos longos do esqueleto apendicular, fornecem excelente suporte mecânico, mas na maioria dos casos são acelulares (FOSSUM, 1997), portanto praticamente não contribuem para a osteogênese (COSTA, 1996; FOSSUM, 1997). O enxerto ósseo cortical, por causa de sua densidade, não possibilita a difusão de nutrientes e células, o que dificulta o processo de reabsorção, ficando enxerto mesclado ao osso neoformado por muitos anos (GOLDBERG & STEVENSON, 1987). Contudo, proporciona estabilidade física e possibilidade de reconstrução (WEIGEL, 1993). Os enxertos esponjosos ou corticoesponjosos (que contêm osso cortical junto com esponjoso) provêm de osso trabecular (JOHNSON, 1995) encontrado na metafise dos ossos longos, nas cristas e nas costelas (COSTA, 1996; FOSSUM, 1997; PIERMATEI & FLO, 1997), apresentam alta celularidade e superior capacidade osteoindutora em relação ao cortical; mas são mecanicamente fracos (JOHNSON, 1995; FOSSUM, 1997), não proporcionando suporte mecânico para a fixação de fraturas (JOHNSON, 1995). O enxerto ósseo osteocondral contém todas as frações ósseas, além de superfície articular (COSTA, 1996; FOSSUM, 1997). É utilizado para substituir articulação com grave doença degenerativa, extensamente traumatizada ou acometida por neoplasia (COSTA, 1996).

Quando células ou tecidos são transplantados entre indivíduos geneticamente diferentes, o sistema imune é ativado, os antígenos contra os quais esta resposta imunológica é dirigida, são glicoproteínas encontradas na superfície celular, denominadas de antígenos de histocompatibilidade (ROITT et al., 1992; STEVENSON & HOROWITZ, 1992; COSTA, 1996). A resposta imune do organismo receptor frente às células em suspensão (neutrófilos, sangue total e outras) é basicamente do tipo humoral e a rejeição aos tecidos sólidos (pele, ossos e órgãos) é predominantemente celular (BLOOMBERG et al., 1984; ROITT et al., 1992).

O fenômeno da rejeição aos enxertos alógenos foi reconhecido há muitos anos; porém, a participação do sistema imune só foi confirmada na década de 50. Apesar do osso enxertado ser imunogênico, tal propriedade não compromete o resultado final do transplante (ALEXANDER, 1983). A fração mineral do osso não é imunogênica (COSTA, 1996).

Para que ocorra rejeição, as células antígenos-sensíveis, geralmente linfócitos T e B, entram em contato com o enxerto, retornam aos órgãos linfóides, se multiplicam e sensibilizam outras células de defesa. Estes linfócitos, agora maduros para suas funções, invadem o enxerto, destroem suas células e atraem macrófagos que fagocitam seus elementos. Concomitantemente, são produzidos anticorpos pelas células derivadas dos linfócitos B que atacam diretamente o enxerto ou, de maneira indireta, pela ativação do sistema complemento. Através destes mecanismos células inflamatórias atacam o endotélio vascular ocasionando hemorragia, trombose e isquemia, destruindo a vascularização e impedindo a revascularização do enxerto (ROITT et al., 1992; STEVENSON & HOROWITZ, 1992).

Estruturas antigênicas presentes no enxerto ósseo estão localizadas nas células ósseas e hemotopoiéticas, nos vasos sanguíneos, nervos e tecido conectivo do enxerto. A fração mineral não é imunogênica. O enxerto esponjoso alógeno, por sua maior celularidade, sensibiliza mais o receptor, comparativamente ao cortical e o mecanismo de rejeição naquele ocorre com maior intensidade (BROWN & CRUESS, 1982; BURCHART, 1983; HANSON & MARKEL, 1992).

Imunologicamente, os enxertos são divididos em autógenos, alógenos, xenógenos (BRINKER et al., 1986; ALEXANDER, 1987; COSTA, 1996; EIMANTAS, 1997; FOSSUM, 1997) e singênico (ALEXANDER, 1987; EIMANTAS, 1997). O termo autoenxerto ou enxerto autógeno é utilizado para tecidos transplantados de uma determinada região de um indivíduo para outra região do mesmo indivíduo (BRINKER et al., 1986; ALEXANDER, 1987; COSTA, 1996; EIMANTAS, 1997; FOSSUM, 1997). Os enxertos autógenos conferem o máximo de estímulo e a resposta mais precoce (BRINKER et al., 1986); são histocompatíveis com o sistema imune e não desenvolvem rejeição (FOSSUM, 1997), favorecendo os processos de revascularização e reparação (COSTA, 1996). A terminologia aloenxerto ou enxerto alógeno é empregada para tecidos transplantados entre indivíduos com códigos genético diferentes, porém da mesma espécie (BRINKER et al., 1986; ALEXANDER, 1987; COSTA, 1996; EIMANTAS, 1997; FOSSUM, 1997). A terminologia xenoenxerto (EIMANTAS, 1997) ou enxerto xenógeno é empregada quando tecidos são transplantados entre indivíduos de espécies diferentes (BRINKER et al., 1986; ALEXANDER, 1987; COSTA, 1996; EIMANTAS, 1997; FOSSUM, 1997). Teoricamente, apresenta maior probabilidade de causar uma reação imunológica (BRINKER et al., 1986). A terminologia enxerto singênico é empregada para



transplantes entre indivíduos da mesma espécie e geneticamente idênticos (ALEXANDER, 1987; EIMANTAS, 1997). A cura dos processos que envolvem enxertia autógena é mais rápida em relação à enxertia alógena, mas o atraso na velocidade de cura não inutiliza sua aplicação clínica. A velocidade de incorporação dos enxertos xenógenos é menor que a dos anteriores (DENNY, 1993).

Os enxertos podem ser transplantados a fresco (SCHENA III et al., 1994) ou após sofrer qualquer processo de esterilização e conservação (JOHNSON, 1995). Na enxertia a fresco existem desvantagens como: duas equipes e dois procedimentos cirúrgicos simultâneos, necessidade do sacrifício de um doador a cada enxertia, maior sensibilização do receptor devido à presença de antígenos sem tratamento; portanto, considerado potencialmente imunogênico (COSTA, 1996). Os enxertos conservados são desprovidos de atividade celular (FOSSUM, 1997), visto que se o osso transplantado passar por métodos de conservação, há perda da atividade celular e decréscimo da antigenicidade (JOHNSON, 1995), já comprovado em alguns métodos, segundo STEVENSON (1990).

O banco de ossos elimina a dificuldade de se obter doador saudável de porte compatível ao do animal receptor e um único doador fornece vários enxertos ósseos (COSTA, 1996). Existem vários métodos de conservação utilizados em bancos de ossos, como glicerina a 98% (PIGOSSI, 1964; MARQUES, 1978; LEITE, 1979; PINTO JR, 1990; PINTO JR, 1995; COSTA, 1996; EIMANTAS, 1997), álcool 70% (TULI & SINGH, 1978), congelamento (STEVENSON, 1990; HENRY JR, 1991; DENNY, 1993; JOHNSON, 1995; COSTA, 1996), congelamento a seco (STEVENSON, 1990; SCHENA III et al., 1994), óxido de etileno (ROE et al., 1988; ASPENBERG et al., 1990; STEVENSON, 1990; JOHNSON & STEIN, 1991; WAGNER et al., 1994; JOHNSON, 1995; COSTA, 1996), liofilização (COSTA, 1996), tintura de iodo a 2% (PINTO JR, 1995), timerosal (COSTA, 1996) e autoclavagem (SINGH & MOGHA, 1984; ROSS, 1986; BISLA et al., 1994; SINGH, et al., 1994; PINTO JR, 1995), técnica esta não recomendável por STEVENSON (1990) pela desnaturação óssea significativa que ocorre devido à alta temperatura a que o enxerto é submetido. Em condições ideais, as técnicas de esterilização e conservação deveriam manter a habilidade do enxerto em estimular a osteoindução, enquanto a imunogenicidade é perdida (STEVENSON, 1990). Os enxertos devem ser armazenados e identificados com data da colheita, tipo de osso, espécie e idade do doador (COSTA, 1996). Para a estocagem, o ideal é realizar

radiografias do osso colhido que permite a escolha prévia do enxerto mais adequado (JOHNSON, 1995).

Em transplantes ósseos devem ser tomados cuidados para assegurar que o doador, vivo ou morto, esteja livre de doenças transmissíveis, que as amostras estejam estéreis, e que os dados relativos ao osso sejam devidamente registrados (JOHNSON & STEIN, 1991; KERWIN et al., 1991), como citado anteriormente. Bloomberg et al (1984) detectaram contaminação bacteriana, fúngica ou viral durante a coleta. Exames microbiológicos de ossos homólogos liofilizados mostraram 3,6% de infecção e 3,9% em autoenxertos frescos. Já Henry & Wadsworth (1981) afirmaram que durante a estocagem de ossos, sob congelamento e liofilização, permanecem os riscos de contaminação.

Para Bloomberg et al. (1984) e Stevenson & Horowitz (1992) aloenxertos congelados foram pouco antigênicos, e necessitaram fixação por longo período. No congelamento entre  $-70$  a  $-80$  °C foi mínima a destruição enzimática, e a resistência tênsil e compressiva do osso foi diminuída em torno de 10% (PELKER et al., 1983). Neste tipo de enxerto, Wilson et al. (1985) observaram que a vascularização e reparação óssea ocorrem de forma mais lenta, mas de maneira adequada. Já Friedlaender (1982) verificou que a função osteoindutora foi conservada. Bloomberg et al. (1984) indicaram segurança e economia como vantagens de banco de ossos congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Preservações nesta temperatura, ou mais baixas, diminuem a antigenicidade de enxertos homólogos (BLOOMBERG et al., 1984; WILSON et al., 1985) porque induzem a crioliofilização das proteínas ficando o osso congelado menos imunogênico do que o resfriado (MANKIN et al., 1983; FRIEDLAENDER, 1982).

Estudos relacionados com as propriedades mecânicas dos enxertos alógenos após esterilização demonstram, como primeira condição, que todas as técnicas proporcionam mudanças mecânicas, comparando-se com o osso recém colhido. As implicações deste resultado na utilização de enxertos conservados devem ser consideradas para selecionar o método mais apropriado para compor um banco de ossos (ROE et al., 1988).

Singh & Mogha (1984) desenvolveram placas confeccionadas a partir de osso de origem bovina pra tratamento de fraturas femorais em ovelhas. A esterilização das placas foi obtida através de processo de autoclavagem. Estudo comparativo foi realizado baseado em avaliação clínica, radiográfica e histológica dos animais tratados com placas de origem bovina e animais tratados com placas de aço inoxidável convencionais, sendo

o parafuso de ambos os grupos de aço inoxidável. Os autores comprovaram que as placas xenógenas permitiram fixação rígida já nos primeiros estágios do processo de cicatrização. O calo ósseo apresentou-se mais denso e mais organizado nos animais onde foi utilizada placa xenógena. E histologicamente não foram observadas reações indesejáveis no osso hospedeiro nos locais de contato com a placa óssea xenógena.

A utilização de placas de osso xenógeno de origem bovina e eqüina em fraturas femurais de ovelhas foi avaliada experimentalmente por Singh & Mogha (1984), constatando que as placas confeccionadas a partir de osso de origem bovina foram bem toleradas pelas ovelhas, já as confeccionadas com osso de origem eqüina causaram intensa reação periosteal, retardo no processo de união óssea e reação osteoclástica no osso hospedeiro no local de contato.

Para este experimento foi utilizado o método de conservação com solução de cefalotina sódica tamponada a 0,5% diluída em soro fisiológico e congelada a  $-16^{\circ}\text{C}$ , até o momento de sua aplicação, por ser o método que apresenta, em comparação com os outros existentes, melhores resultados em termos de preservação da osteoindução e osteocondução do implante, aspecto do osso, propriedades biomecânicas e manutenção da BMP (DEL CARLO et al., 1999).

Os ossos conservados em solução de cefalotina não precisam ser colhidos sob cuidados assépticos extremamente rigorosos, uma vez que esta pertence ao grupo das cefalosporinas com ação antibacteriana. O custo para a conservação dos ossos com este método é muito reduzido, dispensando equipamentos especiais para a colheita e estocagem no banco de ossos segundo DEL CARLO et al. (1999).

Os principais critérios para o sucesso de um enxerto são: ausência de infecção, pois a infecção é catastrófica após implantação de enxerto cortical, seja alógeno ou xenógeno, sendo necessária a retirada do implante ou até amputação do apêndice locomotor (STEVENSON, 1990; HENRY JR, 1991) e estabilidade da fixação do enxerto (HENRY JR, 1991; COSTA, 1996) idealizando retorno rápido ao funcionamento completo do apêndice lesionado (BRINKER et al., 1986). A fixação do implante deve ser adequada para que a consolidação primária do osso possa ocorrer, visto que a instabilidade do local leva ao fracasso da técnica (HENRY JR, 1991). Quando há instabilidade no local da lesão óssea onde o enxerto foi implantado, os vasos sanguíneos não conseguem invadir o enxerto cortical, impedindo a neoformação óssea (STEVENSON, 1990). Além da infecção e do insucesso da fixação, ainda podem ocorrer como complicações: rejeição, fratura do enxerto (FOSSUM, 1997) ou neoplasia

(VASSEUR & STEVENSON, 1987). Os sinais radiográficos de rejeição incluem união retardada, não-união e reabsorção dos enxertos corticais (JOHNSON et al., 1986).

Os relatos encontrados na literatura referem-se à utilização do xenoinplante com osso bovino de animais adultos, fazendo uso destes como pinos intramedulares ou ainda na forma liofilizada que é a mais utilizada em odontologia humana como forma de preenchimento de falhas ósseas, assim tem-se que Ross (1986) utilizou pinos ósseos com centro de metal no tratamento de 34 fraturas em cães e gatos, com sucesso em 30 animais. Os pinos eram autoclavados e constituídos de fêmur bovino. O autor implantou de forma retrógrada um pino de metal comum com o propósito de servir como um sacabocado para o implante ósseo, introduzindo proximalmente em direção à tíbia distal. Após 180 dias de observação radiográfica, ocorreu consolidação óssea da tíbia e a avaliação macroscópica indicou presença de um tecido de granulação com coloração acobreada ao redor do pino de metal. A avaliação microscópica demonstrou que o material adjacente ao pino era constituído de um tecido conectivo denso, sem vestígios de tecido ósseo, indicando completa substituição do enxerto por tecido fibroso.

Pinos intramedulares confeccionados a partir de chifres de búfalos foram utilizados por Dubey (1993), para reparo de fraturas femorais em cães. Ocorreu formação de calo ósseo exuberante entre as sextas e décimas segundas semanas pós-cirúrgicas, justificado pela flexibilidade do pino intramedular. Em todos os casos o autor constatou consolidação óssea.

Eimantas (1997) escolheu a fíbula de cão como implante tipo “pino ósseo” para o tratamento de fraturas fiseais femorais em cães e gatos jovens. A fíbula de cão, conservada em glicerina a 98%, foi introduzida de forma retrógrada pela articulação fêmuro-tibial, ocupando 2/3 do diâmetro da cavidade intramedular, permitindo adequado alinhamento e estabilização da fratura. A autora constatou consolidação óssea nos animais estudados, verificando-se remodelação a partir dos 45 dias, sendo desnecessária a retirada do implante.

Singh et al. (1994) compararam placas confeccionadas a partir de osso bovino autoclavadas com placas e parafusos de aço inoxidável no tratamento de fraturas femurais em ovelhas. Na avaliação clínica, as placas xenógenas permitiram rígida fixação nos primeiros estágios de consolidação com reabsorção aos 75 dias de avaliação radiográfica e formação de calo ósseo mais denso e mais organizado. Histologicamente não foram observadas reações indesejáveis no osso hospedeiro ou nos locais de contato com a placa óssea xenógena.

Para o diagnóstico da união óssea clínica, Whittick (1977) observa alguns pontos como: ausência de dor quando o osso é submetido a forças aplicadas acima e abaixo da linha de fratura; absoluta rigidez no foco de fratura; observar ou não o calo ósseo à palpação, dependendo da região e do método empregado. No diagnóstico radiográfico da união é observado continuidade cortical, continuidade do conduto medular, mineralização do calo ósseo e ausência de separação dos fragmentos.

### 3 MATERIAL E MÉTODO

Doadores: os ossos heterólogos foram obtidos de um feto bovino de aproximadamente oito meses (Figura 1), adquirido de um matadouro com SIF – Serviço de Inspeção Federal. Já os ossos homólogos foram obtidos de um cão doador e em ambos os animais, foram retirados os ossos longos dos apêndices locomotores.



**Figura 1** – fetos bovinos momentos antes do processamento de seus ossos longos, sendo utilizado os ossos do feto de pelagem escura.

Coleta: utilizou-se como implante as porções corticais de ossos longos, obtidos do feto bovino e do cão doador. Antecedendo a preservação, foram removidos o periósteo fibroso, endósteo, medula óssea e restos musculares (Figura 2), com lavagem em solução fisiológica corrente e acondicionamento em tubos de vidro previamente esterilizados em estufa, identificados quanto ao tipo e tamanho do osso, segundo DEL CARLO et al. (1999). Metodologia seguida para os ossos heterólogos e homólogos.



**Figura 2** – fragmento de osso bovino pronto para ser preservado.

Preservação: foi utilizada solução de cefalotina sódica tamponada a 0,5%<sup>1</sup> diluída em soro fisiológico, em volume suficiente para cobrir os ossos, mantendo-se os tubos em congelador a  $-16^{\circ}\text{C}$  (Figura 3), até o momento de sua aplicação, quando então

foram retirados do refrigerador e deixados descongelar à temperatura ambiente por, no mínimo, uma hora antes de serem utilizados, estes podem ser armazenados por até seis meses segundo DEL CARLO et al. (1999).



**Figura 3** – fragmentos ósseos acondicionados em recipiente estéril e imersos em solução de cefalotina sódica tamponada a 0,5% congelada.



Período de utilização: o tempo mínimo de preservação dos ossos foi de 15 dias e o máximo de trinta dias após a coleta.

Grupos clínicos experimentais: foram feitos quatro grupos, sendo dois para aloimplante (um recebendo antiinflamatório à base de nimesulide<sup>2</sup> e antibioticoterapia à base de gentamicina<sup>3</sup> e o outro somente antibioticoterapia) e dois para xenimplante (um recebendo antiinflamatório à base de nimesulide e antibioticoterapia à base de gentamicina e o outro somente antibioticoterapia), sendo cada grupo experimental constituído de cinco cães adultos, machos, sem raça definida, que foram mantidos em baias de recuperação de animais destinados a cirurgias da Policlínica Veterinária da Escola de Medicina Veterinária da Universidade do Grande Rio (UNIGRAN-RIO), que receberam manejo padronizado, ração comercial duas vezes ao dia e água à vontade, além do jejum de doze horas e dieta hídrica de duas horas antes do início do experimento (MASSONE, 1994; ALVARENGA et al., 1996).

Técnica de enxertia óssea: a medicação pré-anestésica instituída constou de um derivado fenotiazínico (maleato de acepromazina<sup>4</sup>) na dose de 0,1 mg/Kg possibilitando o preparo do animal para o procedimento cirúrgico, sendo tricotomizado e realizada sua antisepsia, então induzido com um barbitúrico de ultracurta duração (tiopental sódico<sup>5</sup>) na dose de 12,5mg/Kg, foi mantido o plano cirúrgico com anestésico halogenado (halotano<sup>6</sup>) associado ao oxigênio. Após sua antisepsia de pele, foi administrado intramuscular gentamicina (1mg/Kg). Iniciando o acesso cirúrgico no terço proximal, face medial da tíbia esquerda, onde então se realizou a ostectomia de um fragmento ósseo cortical (Figuras 4 e 5) com 10 mm x 4mm de comprimento, com o auxílio de uma serra circular, sendo este segmento removido do foco da fratura e assim preservado segundo o método de DEL CARLO (1999). O implante ósseo já estava lavado e imerso em soro fisiológico sendo então posicionado e fixado por pressão, objetivando o completo contato entre os fragmentos. A aproximação do espaço morto foi realizada como de rotina e a pele suturada com fio de nylon 3-0 com pontos simples separados (Figura 6). Sobre a incisão cirúrgica foi colocada bandagem seca e esterilizada.

---

2- Scaflan- Lab. Schering Plough

3- Gentocim- Lab. Schering Plough

4- Acepram- Lab. Andrômaco Ltda

5- Tiopental – Abbott Labs. do Brasil

6- Halothano – Lab. Cristália

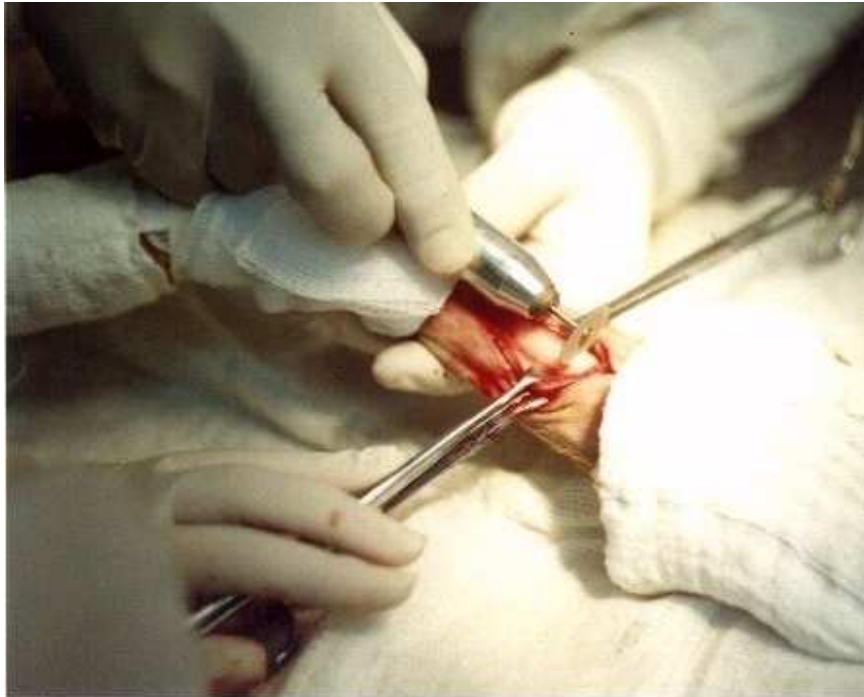


Figura 4 – osteotomia com serra circular de um fragmento ósseo no terço proximal, face medial, da tíbia esquerda de cão.



**Figura 5** – aspecto da tíbia após osteotomia de um fragmento, local onde será posicionado o implante ósseo.



**Figura 6** – aspecto da região após a síntese de pele.

Exames: foram realizados exames laboratoriais cinco dias após a chegada dos animais nos canis da UNIGRAN-RIO, tais como: hemograma completo, bioquímica (dosagem de uréia, creatinina, TGO e TGP) e proteína plasmática. No primeiro e quinto dias após a cirurgia foi feita somente a bioquímica, e no sétimo dia todos os exames foram repetidos. Com relação à morfometria de circunferência do apêndice, esta foi feita com o auxílio de uma fita métrica, no dia da cirurgia e no primeiro, terceiro, quinto e sétimo dias de pós-operatório. Já os exames radiográficos foram realizados um dia antes da cirurgia, imediatamente após o ato cirúrgico, no décimo quinto, trigésimo, quadragésimo quinto e sexagésimo dias de pós-operatório, nas incidências látero-lateral e antero-posterior, onde os critérios para a avaliação óssea foram a integração óssea, início da calcificação do calo ósseo primitivo, aumento da radiopacidade e a formação da ponte óssea com conseqüente união das corticais ósseas. Para a calibração do aparelho radiográfico, adotou-se a técnica para tecido ósseo, preconizada por MORGAN et al. (1977), que relaciona quilovoltagem e miliamperagem à espessura da região em exame. Paralelamente a estes exames, foi feito exame clínico do animal semanalmente, durante o primeiro mês seguinte à cirurgia, verificando-se: temperatura retal, estado geral do paciente, aspecto da área operada, apoio do membro operado e recuperação da função.

Medicação pós-operatória: constou de gentamicina (1mg/Kg) e nimesulide (5mg/Kg) nos grupos clínicos do aloimplante e do xenimplante, e somente gentamicina nos grupos controle dos respectivos implantes, em doses diárias, sendo durante cinco dias para o antiinflamatório e dez dias para o antibiótico.

#### Protocolos de avaliação:

-avaliação clínico-cirúrgica: referente aos aspectos clínico-cirúrgicos, foram observados o estado geral do animal, temperatura retal, apoio do membro operado, presença de claudicação, quaisquer alterações na região operada, encurtamento ou deformidade do membro comparando-se ao membro contra-lateral e a sua morfometria.

- avaliação radiográfica: realizou-se no pós –operatório imediato aos 15, 30, 45 e 60 dias, nas posições látero-lateral e crânio-caudal. Buscou-se verificar posição e características do implante, formação de calo ósseo, remodelação óssea e possíveis sinais de infecção.

- avaliação macroscópica: os animais foram eutanasiados com a aplicação intravenosa de solução de barbiturato sódico ao final de 60 dias de pós-cirúrgico, pois estes foram utilizados para as disciplinas de Técnica Cirúrgica e Anatomia Patológica após o experimento. As tíbias operadas foram removidas, verificando-se o aspecto da superfície óssea nos locais correspondentes à aplicação do implante, alterações no implante e formação de calo ósseo.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Resultados clínicos:

Todos os animais apresentaram bom estado geral, ausência de sinais de infecção, ausência de deformidades dos apêndices locomotores e total apoio do apêndice operado desde logo após o despertar anestésico (Figura 7). Os resultados do hemograma juntamente com a bioquímica dos animais não apresentaram alterações, mantendo-se na ,média de normalidade.



Figura 7 – animais momentos após o despertar anestésico.

**Quadro 1** - Demonstrativo dos resultados do acompanhamento da temperatura retal, estado geral do animal, aspecto da área do implante e da morfometria de circunferência do apêndice locomotor posterior esquerdo, dos animais do grupo xenoplante I – antiinflamatório e antibiótico.

Nº do animal	Temp.retal (° C)				Estado geral				Aspecto da área do implante		morfometria (cm)			
	D <sub>0</sub>	D+7	D+15	D+30	D	D+7	D+15	D+30	D+7	D+15	D	D+3	D+5	D+7
01	38,7	39	38,8	39	B	B	B	B	++	+++	13	15	15	15
02	38,4	38,5	38,8	38,7	B	B	B	B	++	+++	16	17	16,5	16
03	38,6	38,7	38,5	38,5	B	B	B	B	+++	+++	13	13	13	13
04	38,7	38,9	38,4	38,5	B	B	B	B	+++	+++	15	15	15	15
05	38,7	38,7	38,9	38,8	B	B	B	B	++	+++	15	15	17	16

D= dia; B= bom / R= ruim; + = inflamação com exsudação, ++ = inflamação, +++ = sem inflamação.

Os animais de números 01, 02 e 05 tiveram alterações nas suas morfometrias devido à tumefação inflamatória observada nos locais das incisões cirúrgicas o que refletiu em suas avaliações a respeito do aspecto da área do implante.

**Quadro 2** - Demonstrativo dos resultados do acompanhamento da temperatura retal, estado geral do animal, aspecto da área do implante e da morfometria de circunferência do apêndice locomotor posterior esquerdo, dos animais do grupo xenoplante II – antibiótico.

Nº do animal	Temp.retal (° C)				Estado geral				Aspecto da área do implante		morfometria (cm)			
	D <sub>0</sub>	D+7	D+15	D+30	D	D+7	D+15	D+30	D+7	D+15	D	D+3	D+5	D+7
06	38,5	38,8	38,7	38,6	B	B	B	B	++	++	14	15,5	15	15
07	38,8	38,9	38,9	38,7	B	B	B	B	++	+++	15	16	16	15
08	38,6	38,8	38,7	38,6	B	B	B	B	++	++	16	17	17,5	17
09	38,8	39	38,9	38,9	B	B	B	B	++	++	17	18	19	18
10	38,7	39	38,9	38,8	B	B	B	B	++	+++	15	16	16,5	15,5

D= dia; B= bom / R= ruim; + = inflamação com exsudação, ++ = inflamação, +++ = sem inflamação

Todos os animais deste grupo tiveram alterações nas suas morfometrias devido à tumefação inflamatória observada na área adjacente ao local da incisão cirúrgica o que refletiu em suas avaliações a respeito do aspecto da área do implante.

**Quadro 3** - Demonstrativo dos resultados do acompanhamento da temperatura retal, estado geral do animal, aspecto da área do implante e da morfometria de circunferência do apêndice locomotor posterior esquerdo, dos animais do grupo aloimplante I – antiinflamatório e antibiótico.

Nº do animal	Temp.retal (° C)				Estado geral				Aspecto da área do implante		morfometria (cm)			
	D <sub>0</sub>	D+7	D+15	D+30	D	D+7	D+15	D+30	D+7	D+15	D	D+3	D+5	D+7
11	38,7	38,8	38,7	38,6	B	B	B	B	+++	+++	15	15,5	15	15
12	38,8	39	39	38,7	B	B	B	B	+++	+++	17	17,5	17	17
13	38,5	38,8	38,7	38,6	B	B	B	B	+++	+++	19	19	19	19
14	38,4	38,6	38,6	38,6	B	B	B	B	+++	+++	19	19	19,5	19
15	39	39	38,9	38,9	B	B	B	B	+++	+++	22	22	22	22

D= dia; B= bom / R= ruim; + = inflamação com exsudação, ++ = inflamação, +++ = sem inflamação

Os animais de números 11, 12 e 14 tiveram pequenas alterações em suas morfometrias devido à discreta reação inflamatória observada no local da incisão cirúrgica.



**Quadro 4** - Demonstrativo dos resultados do acompanhamento da temperatura retal, estado geral do animal, aspecto da área do implante e da morfometria de circunferência do apêndice locomotor posterior esquerdo, dos animais do grupo aloimplante II – antibiótico.

Nº do animal	Temp.retal (° C)				Estado geral				Aspecto da área do implante		morfometria (cm)			
	D <sub>0</sub>	D+7	D+15	D+30	D	D+7	D+15	D+30	D+7	D+15	D	D+3	D+5	D+7
16	38,9	38,7	38,7	38,8	B	B	B	B	+	++	21	21,5	22	22
17	38,9	38,9	38,7	38,7	B	B	B	B	++	+++	18	19	19	19
18	38,6	38,5	38,6	38,6	B	B	B	B	++	+++	17	18	18,5	18
19	38,4	38,6	38,6	38,7	B	B	B	B	++	++	15	16	16	16
20	38,8	39	38,7	38,8	B	B	B	B	++	+++	17	18	18	18

D= dia; B= bom / R= ruim; + = inflamação com exsudação, ++ = inflamação, +++ = sem inflamação

Todos os animais deste grupo tiveram alterações em suas morfometrias devido à presença de edema na região onde foi realizado o implante. Observa-se que o animal de número 16 arrancou os pontos externos de aproximação da pele, onde então este fato, que ocorreu ao quinto dia pós-operatório, influenciou nas avaliações subsequentes como o aspecto da área do implante e a morfometria do membro em questão.

## 4.2 Resultados radiográficos:

### 4.2.1 PÓS-OPERATÓRIO IMEDIATO:

Em todos os grupos o fragmento implantado mostrou-se alinhado ao osso hospedeiro.

### 4.2.2 RESULTADOS RADIOGRÁFICOS 15º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO:

- Xenoinplante: 1- grupo antiinflamatório + antibiótico: não foi observado deslocamento dos implantes de seus locais iniciais, o que propiciou uma pequena reação periosteal favorável.



8a

8b

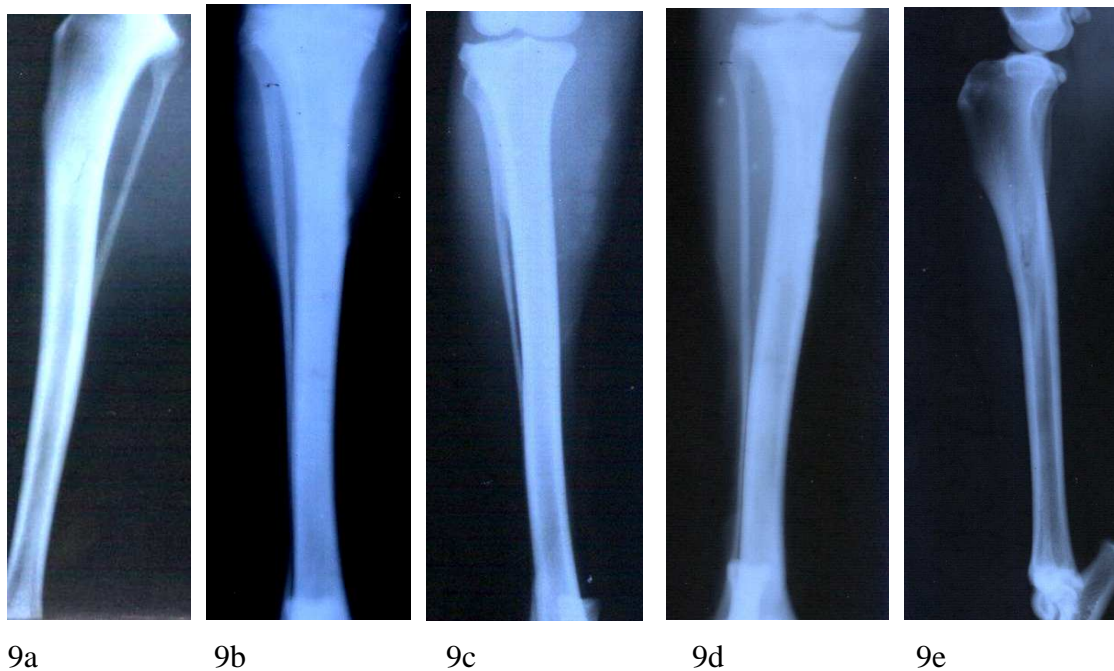
8c

8d

8e

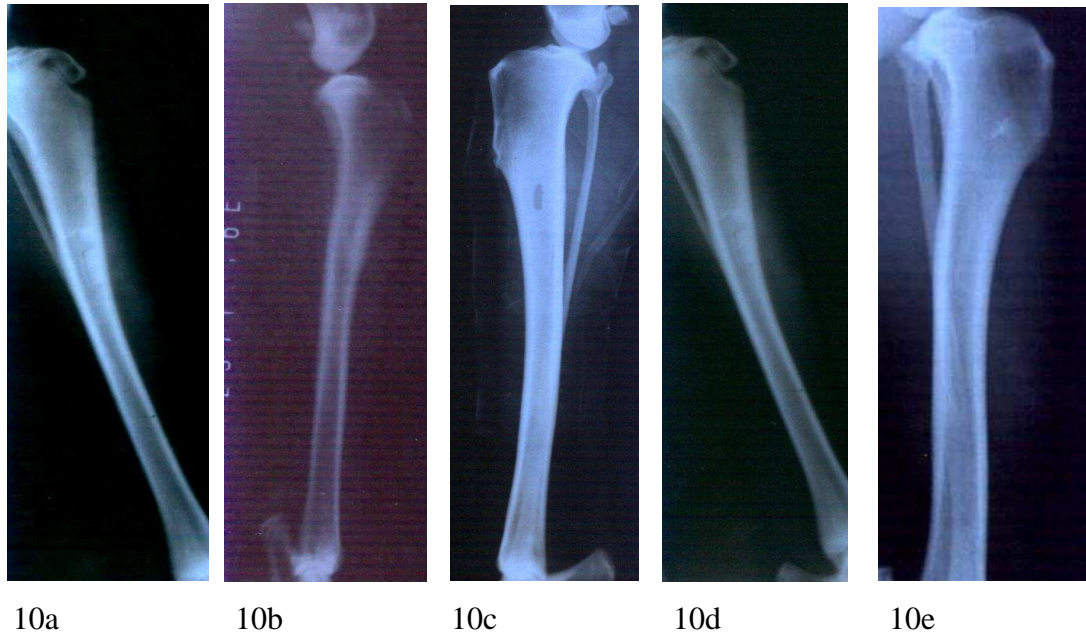
**Figura 8** – Imagens radiográficas dos animais do xenoinplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 15º dia de pós-operatório – 8a: animal de número 1 em exposição antero-posterior onde observa-se uma pequena reação do periósteo. 8b: animal de número 2 em exposição látero-lateral observa-se uma pequena reação do periósteo. 8c: animal de número 3 em exposição látero-lateral não se observa alteração na estrutura óssea. 8d: animal de número 4 em exposição antero-posterior onde observa-se discreta reação periosteal. 8e: animal de número 5 em exposição antero-posterior onde observa-se uma pequena reação do periósteo.

- Xenoplante: 2- grupo antibiótico: os implantes mantiveram-se posicionados, nenhuma reação periosteal foi observada, porém grande tumefação muscular foi constatada.



**Figura 9** – Imagens radiográficas dos animais do xenoplante grupo II antibiótico ao 15º dia de pós-operatório – 9a: animal de número 6 em exposição látero-lateral onde não se observa reação óssea ao implante. 9b: animal de número 7 em exposição antero-posterior sem alterações ósseas. 9c: animal de número 8 em exposição antero-posterior não se observa alteração na estrutura óssea. 9d: animal de número 9 em exposição antero-posterior onde não se constata alteração óssea. 9e: animal de número 10 em exposição látero-lateral onde não observa-se reação óssea.

- Aloimplante: 1- grupo antiinflamatório + antibiótico: os implantes mantiveram-se posicionados, sendo observada reação periosteal com tendência a formação de pontes ósseas entre os implantes e o osso hospedeiro.



**Figura 10** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 15º dia de pós-operatório – 10a: animal de número 11 em exposição látero-lateral onde se observa reação do periósteeo. 10b: animal de número 12 em exposição látero-lateral observa-se uma pequena reação do periósteeo. 10c: animal de número 13 em exposição látero-lateral se observa com maior nitidez o implante com o abaulamento de seu formato, tendência à formação de pontes ósseas. 10d: animal de número 14 em exposição látero-lateral onde se observa reação periosteal. 10e: animal de número 15 em exposição látero-lateral onde se observa uma pequena reação do periósteeo.

- Aloimplante: 2- grupo antibiótico: mantida a posição do implante é possível observar discreta reação periosteal, com formação de edema na região do implante.



11a

11b

11c

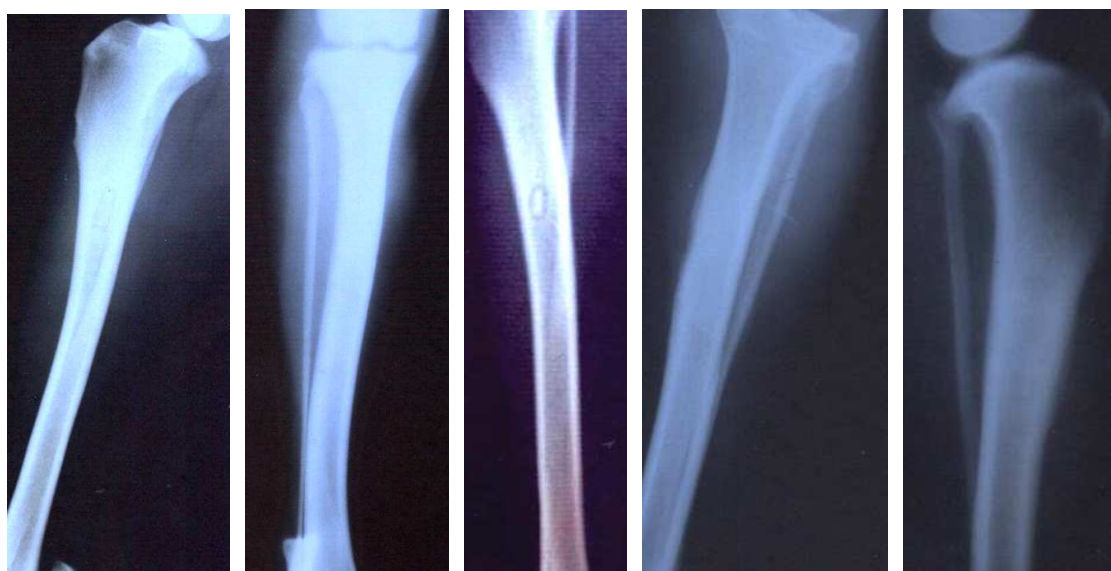
11d

11e

**Figura 11** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo II antibiótico ao 15º dia de pós-operatório –11a: animal de número 16 em exposição látero-lateral onde observam-se linhas de osteotomias bem definidas. 11b: animal de número 17 em exposição látero-lateral observa-se uma pequena reação do periósteo. 11c: animal de número 18 em exposição látero-lateral se observa pequena reação periosteal, com grande edema na região circundante ao implante. 11d: animal de número 19 em exposição antero-posterior onde se observa discreta reação periosteal, com grande edema na região circundante ao implante. 11e: animal de número 20 em exposição látero-lateral onde observa-se uma pequena reação do periósteo.

#### 4.2.3 RESULTADOS RADIOGRÁFICOS 30º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO:

- Xenoplante: 1- grupo antiinflamatório + antibiótico: linha de osteotomia evidente.



12a

12b

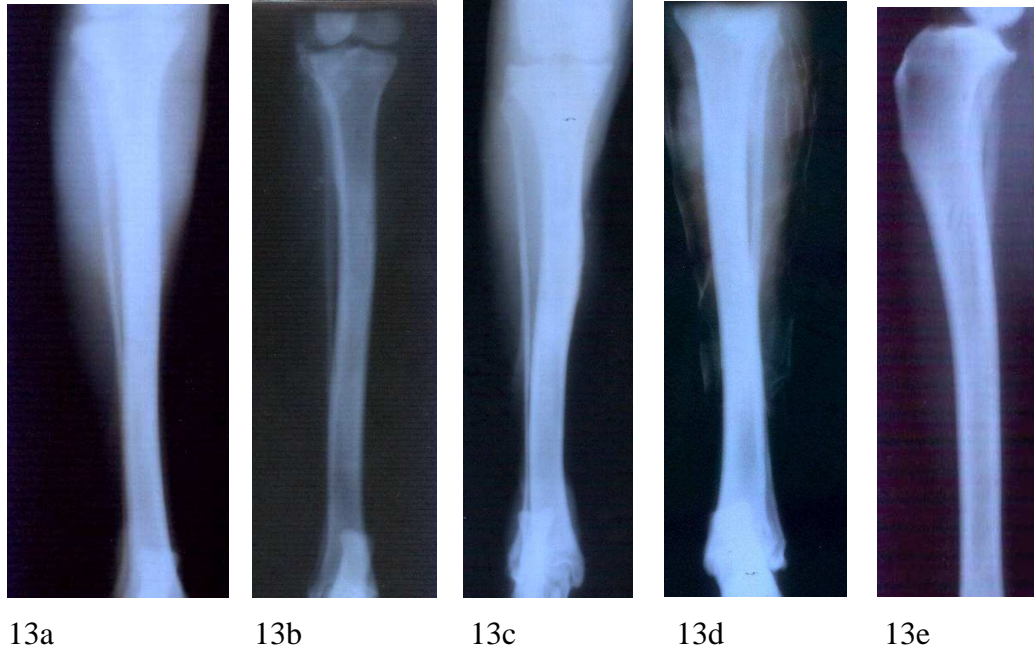
12c

12d

12e

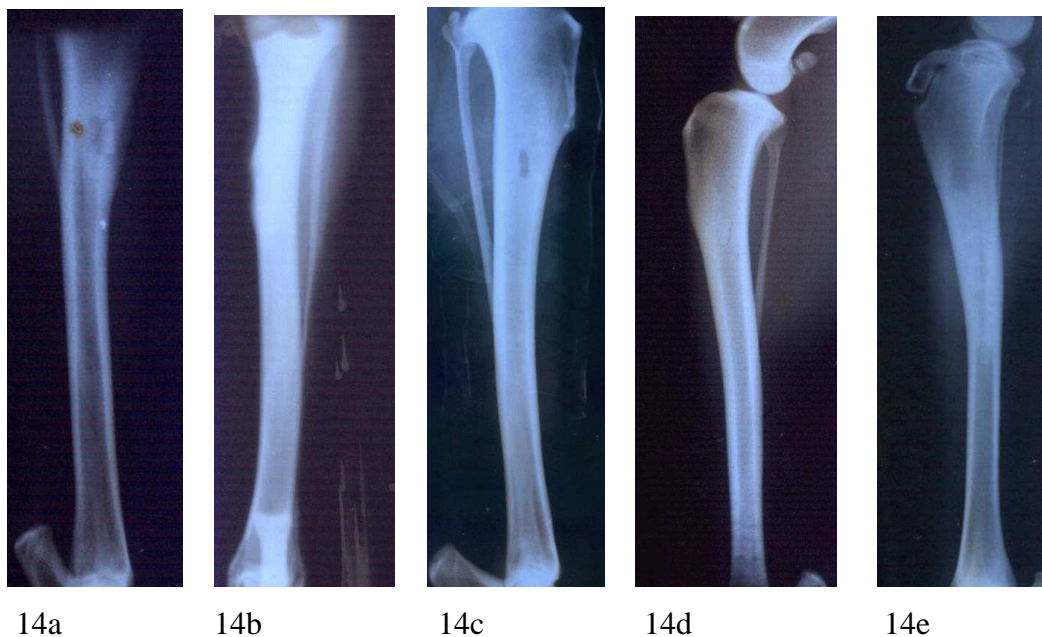
**Figura 12**– Imagens radiográficas dos animais do xenoplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 30º dia de pós-operatório – 12a: animal de número 1 em exposição látero-lateral onde observa-se reação do periósteeo. 12b: animal de número 2 em exposição antero-posterior observa-se uma pequena reação do periósteeo. 12c: animal de número 3 em exposição látero-lateral linhas de osteotomia evidentes. 12d: animal de número 4 em exposição antero-posterior onde se observa moderada reação periosteal. 12e: animal de número 5 em exposição látero-lateral onde observa-se uma pequena reação do periósteeo.

- Xenoimplante: 2- grupo antibiótico: pequena reação periosteal foi observada, com ausência de edema adjacente ao implante .



**Figura 13** – Imagens radiográficas dos animais do xenoimplante grupo II antibiótico ao 30º dia de pós-operatório – 13a: animal de número 6 em exposição antero-posterior onde se observa pequena reação periosteal ao implante. 13b: animal de número 7 em exposição antero-posterior sem alterações ósseas. 13c: animal de número 8 em exposição antero-posterior com discreta reação no periósteo. 13d: animal de número 9 em exposição antero-posterior onde se constata pequena reação periosteal. 13e: animal de número 10 em exposição látero-lateral onde não se observa reação óssea, tendo como alteração a diminuição do edema adjacente.

- Aloimplante: 1- grupo antiinflamatório + antibiótico: Pode-se verificar que os implantes mantiveram-se bem posicionados e as linhas de osteotomia estavam menos nítidas. Houve presença de calo ósseo com formação de ponte óssea e reação na cortical óssea.



**Figura 14** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 30º dia de pós-operatório – 14a: animal de número 11 em exposição antero-posterior onde se observa reação do periósteo, presença de calo ósseo com formação de ponte óssea. 14b: animal de número 12 em exposição antero-posterior observa-se reação do periósteo com presença de calo ósseo com formação de ponte óssea. 14c: animal de número 13 em exposição látero-lateral se observa o implante com o abaulamento de seu formato, formação de pontes ósseas. 14d: animal de número 14 em exposição látero-lateral onde observa-se reação periosteal. 14e: animal de número 15 em exposição látero-lateral onde observa-se uma pequena reação do periósteo mais acentuada que aos 15 dias de pós-operatório.



Aloimplante: 2- grupo antibiótico: ausência de edema na região adjacente ao implante.



15a

15b

15c

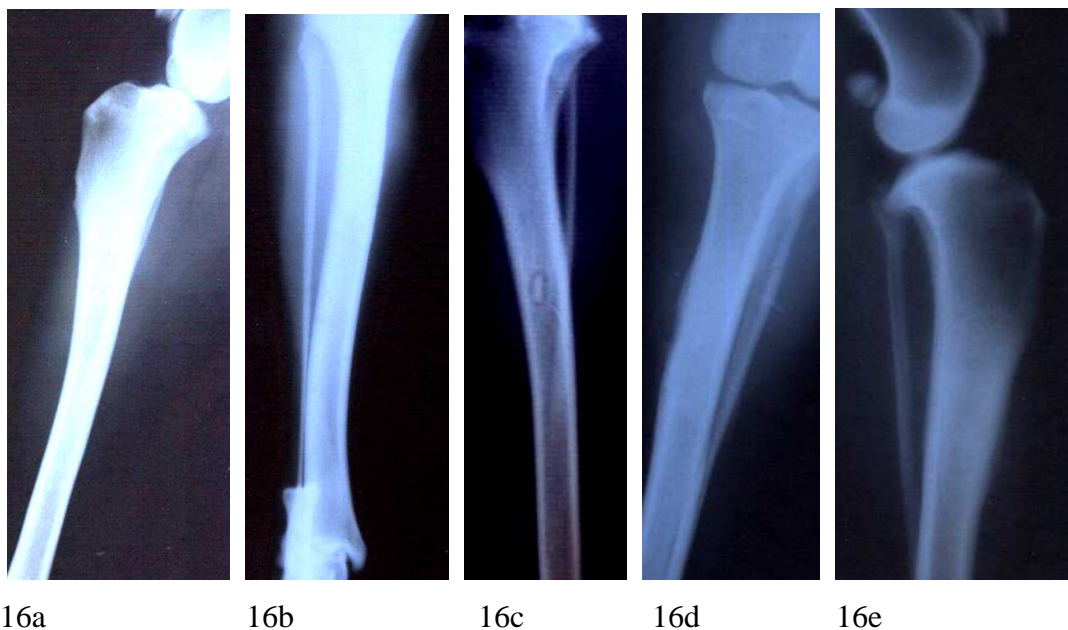
15d

15e

**Figura 15** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo II antibiótico ao 30º dia de pós-operatório –15a: animal de número 16 em exposição látero-lateral onde se observa linhas de osteotomias bem definidas. 15b: animal de número 17 em exposição látero-lateral observa-se uma pequena reação do periósteo. 15c: animal de número 18 em exposição látero-lateral se observa pequena reação periosteal. 15d: animal de número 19 em exposição antero-posterior onde se observa discreta reação periosteal. 15e: animal de número 20 em exposição látero-lateral onde observa-se uma pequena reação do periósteo.

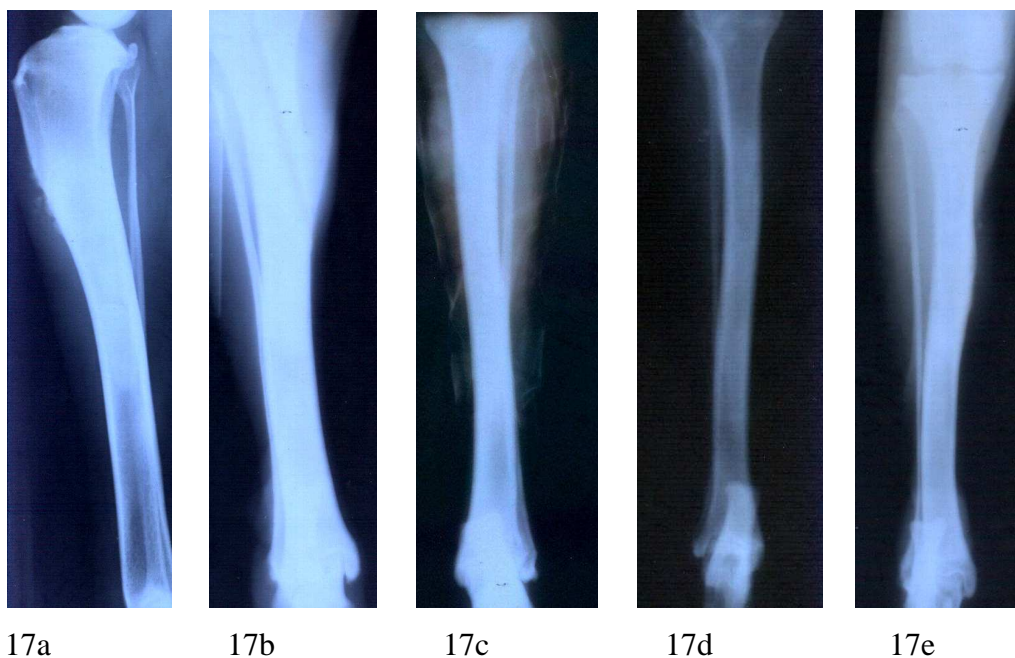
#### 4.2.4 RESULTADOS RADIOGRÁFICOS 45° DIA DE PÓS-OPERATÓRIO:

- Xenoplante: 1- grupo antiinflamatório + antibiótico: linha de osteotomia menos evidente. Início da formação do calo ósseo primitivo.



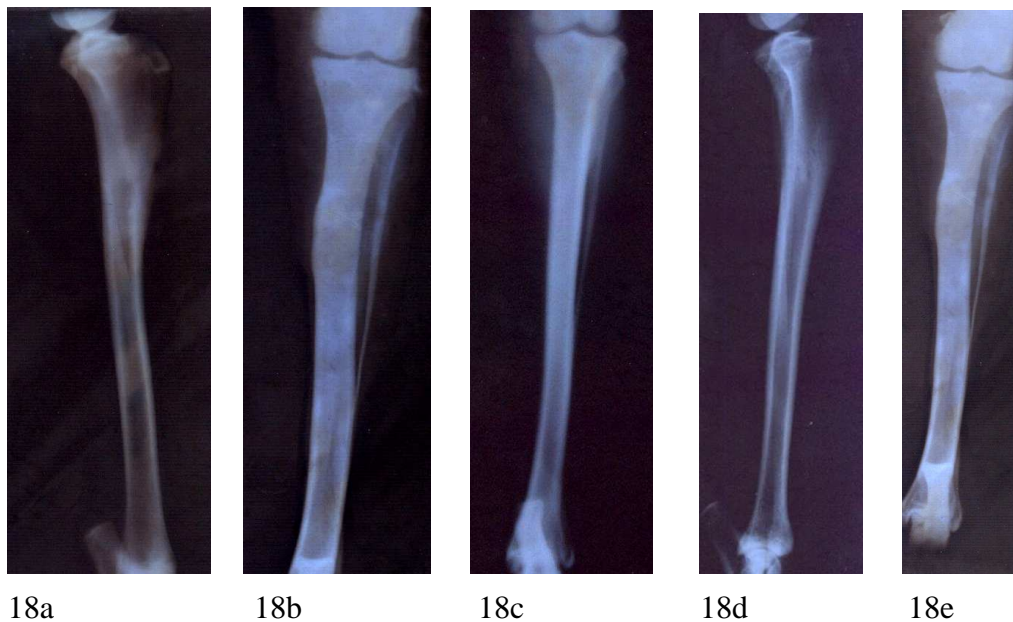
**Figura 16**– Imagens radiográficas dos animais do xenoplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 45° dia de pós-operatório – 16a: animal de número 1 em exposição látero-lateral onde observa-se reação do periósteeo. 16b: animal de número 2 em exposição antero-posterior observa-se reação do periósteeo com início de formação de calo ósseo. 16c: animal de número 3 em exposição látero-lateral linhas de osteotomia menos evidentes. 16d: animal de número 4 em exposição antero-posterior onde observa-se reação periosteal com iniciação da formação de calo ósseo. 16e: animal de número 5 em exposição látero-lateral onde se observa reação periosteal.

Xenoimplante: 2- grupo antibiótico: maior reação periosteal.



**Figura 17** – Imagens radiográficas dos animais do xenoimplante grupo II antibiótico ao 45º dia de pós-operatório – 17a: animal de número 6 em exposição látero-lateral onde se observa maior reação periosteal ao implante. 17b: animal de número 7 em exposição antero-posterior com moderada reação periosteal. 17c: animal de número 8 em exposição antero-posterior com discreta reação no periósteo. 17d: animal de número 9 em exposição antero-posterior onde se constata reação periosteal. 17e: animal de número 10 em exposição látero-lateral onde se observa reação periosteal.

- Aloimplante: 1- grupo antiinflamatório + antibiótico: verificaram-se linhas de osteotomia pouco perceptíveis. Percebe-se união óssea entre o implante e o osso hospedeiro.



**Figura 18** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 45º dia de pós-operatório – 18a: animal de número 11 em exposição látero-lateral onde observa-se reação do perióstio com linhas de osteotomias menos perceptíveis. 18b: animal de número 12 em exposição látero-lateral observa-se reação do perióstio com presença de calo ósseo com formação de ponte óssea. 18c: animal de número 13 em exposição antero-posterior nota-se linhas de osteotomias menos perceptíveis. 18d: animal de número 14 em exposição látero-lateral onde se observa implante sem linhas de osteotomias. 18e: animal de número 15 em exposição antero-posterior onde observa-se reação do perióstio mais acentuada que aos 30 dias de pós-operatório.

- Aloimplante: 2- grupo antibiótico: linhas de osteotomia menos evidentes.



19a

19b

19c

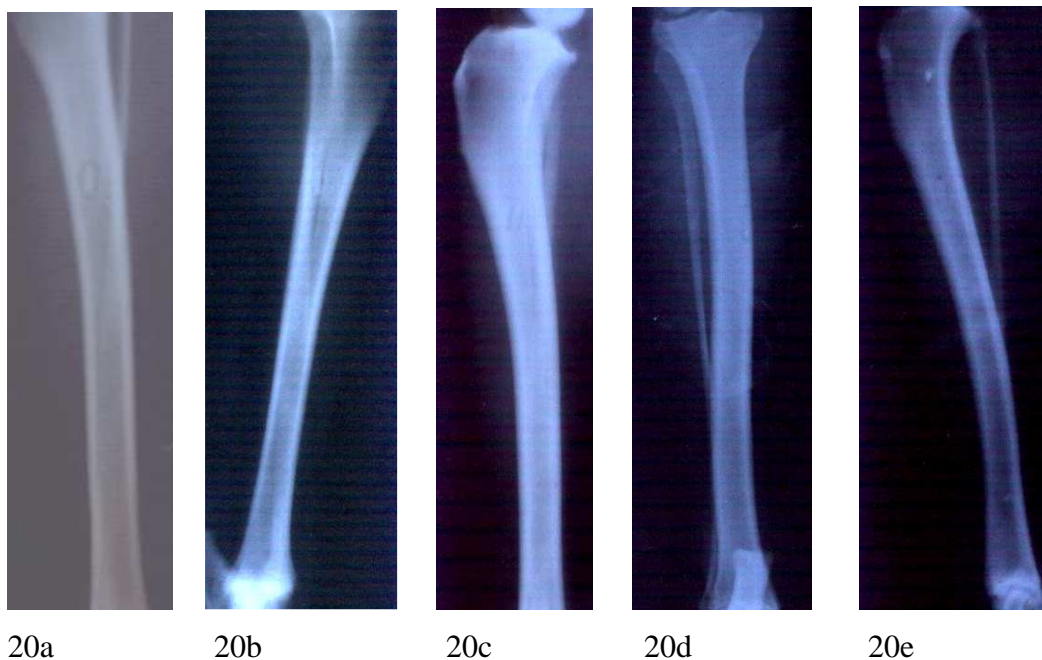
19d

19e

**Figura 19** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo II antibiótico ao 45º dia de pós-operatório –19a: animal de número 16 em exposição látero-lateral onde observam-se linhas de osteotomias menos evidentes. 19b: animal de número 17 em exposição látero-lateral observa-se reação do periósteeo. 19c: animal de número 18 em exposição antero-posterior se observa reação periosteal. 19d: animal de número 19 em exposição látero-lateral onde se observa reação periosteal com linhas de osteotomias menos evidentes. 19e: animal de número 20 em exposição antero-posterior onde observa-se reação do periósteeo.

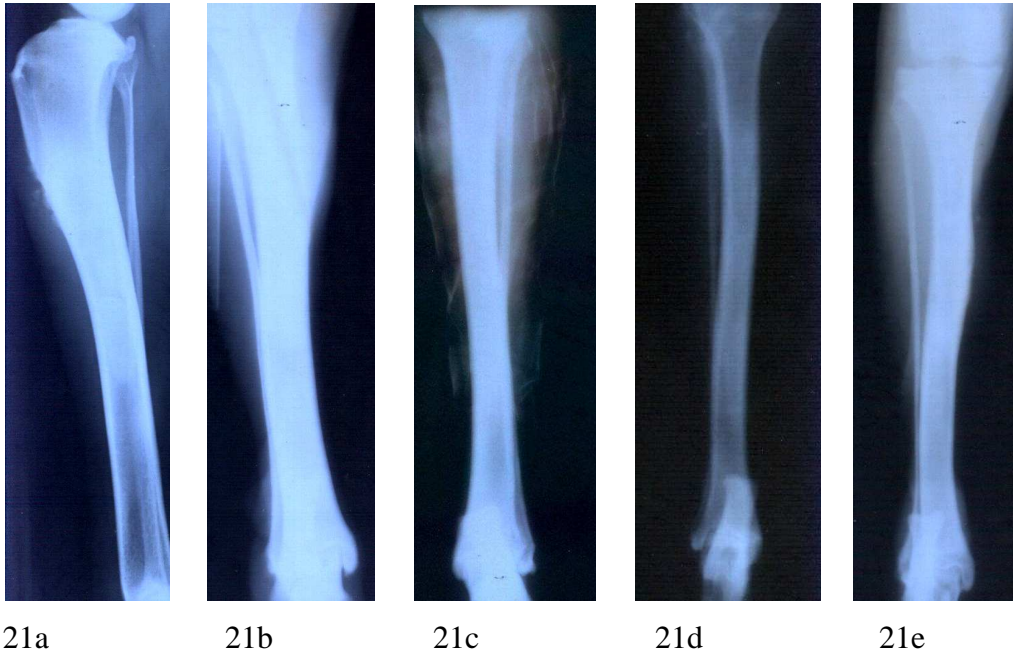
#### 4.2.5 RESULTADOS RADIOGRÁFICOS 60º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO:

- Xenoinplante: 1- grupo antiinflamatório + antibiótico: início da diminuição da densidade radiográfica do implante com menor distinção do mesmo.



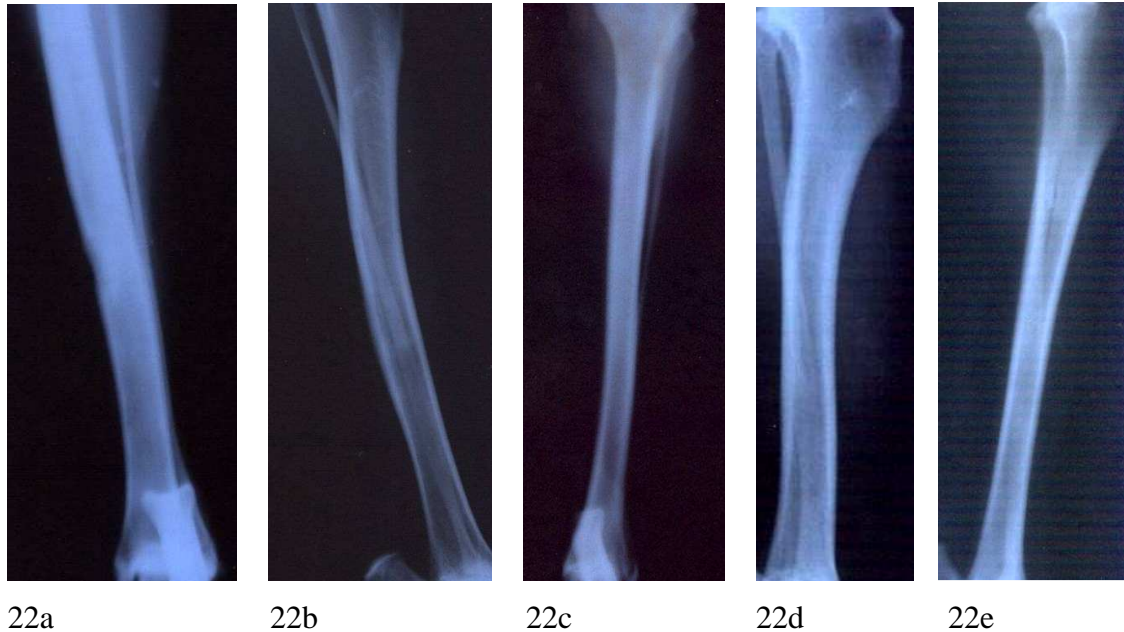
**Figura 20**– Imagens radiográficas dos animais do xenoinplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 60º dia de pós-operatório – 20a: animal de número 1 em exposição látero-lateral onde observa-se início da diminuição da densidade radiográfica do implante. 20b: animal de número 2 em exposição antero-posterior observa-se menor distinção do implante. 20c: animal de número 3 em exposição látero-lateral implante menos evidentes. 20d: animal de número 4 em exposição antero-posterior onde se observa reação periosteal com iniciação da formação de calo ósseo. 20e: animal de número 5 em exposição látero-lateral onde se observa menor distinção do implante.

- Xenoplante: 2- grupo antibiótico: sem alterações do que se observou aos 45 dias de pós-operatório.



**Figura 21** – Imagens radiográficas dos animais do xenoplante grupo II antibiótico ao 45º dia de pós-operatório – 21a: animal de número 6 em exposição látero-lateral onde se observa maior reação periosteal ao implante. 21b: animal de número 7 em exposição antero-posterior com moderada reação periosteal. 21c: animal de número 8 em exposição antero-posterior com discreta reação no perióstio. 21d: animal de número 9 em exposição antero-posterior onde se constata reação periosteal. 21e: animal de número 10 em exposição látero-lateral onde observa-se reação periosteal.

- Aloimplante: 1- grupo antiinflamatório + antibiótico: linhas de osteotomia pouco perceptíveis e possível início de incorporação óssea.



**Figura 22** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo I antibiótico + antiinflamatório ao 60º dia de pós-operatório – 22a: animal de número 11 em exposição látero-lateral onde observa-se reação do perióstio com linhas de osteotomias pouco perceptíveis. 22b: animal de número 12 em exposição látero-lateral observa-se reação do perióstio com presença de ponte óssea. 22c: animal de número 13 em exposição antero-posterior nota-se linhas de osteotomias menos perceptíveis. 22d: animal de número 14 em exposição látero-lateral onde se observa implante sem linhas de osteotomias. 22e: animal de número 15 em exposição látero-lateral onde observam-se linhas de osteotomia pouco nítidas.



- Aloimplante: 2- grupo antibiótico: presença de união óssea com diminuição da radiopacidade do implante.



23a

23b

23c

23d

23e

**Figura 23** – Imagens radiográficas dos animais do aloimplante grupo II antibiótico ao 60º dia de pós-operatório –23a: animal de número 16 em exposição antero-posterior onde observam-se linhas de osteotomias menos evidentes. 23b: animal de número 17 em exposição látero-lateral observa-se reação do periósteo. 23c: animal de número 18 em exposição antero-posterior se observa reação periosteal. 23d: animal de número 19 em exposição látero-lateral onde observa-se reação periosteal com linhas de osteotomias menos evidentes. 23e: animal de número 20 em exposição antero-posterior onde se observa reação do periósteo.

### **4.3 Resultados macroscópicos:**

Em todos os grupos não foram observadas alterações de aspectos indesejáveis ou surpreendentes no local dos implantes. Não houve evidências de rejeição aos implantes, estando melhor incorporados os aloimplantes onde quase não se distinguia o implante do osso hospedeiro, sendo que nos xenoimplantes esta distinção era maior.

## 5 DISCUSSÃO

Para realização do presente trabalho utilizou-se o cão como animal de experimentação, sendo o mesmo empregado por ALEXANDER (1983), BLOOMBERG et al. (1984), ROE et al. (1988), PINTO JR.(1990), WAGNER (1994), PINTO JR. (1995) e COSTA (1996). O animal em questão mostrou-se cooperativo e adequado para ensaios de resistência aos implantes, além de ser a espécie mais acometida por grandes perdas ósseas, o que permitiu concluir sobre a viabilidade da técnica.

Observou-se que os implantes conservados em solução de cefalotina sódica podem ser empregados com vantagens, em substituição ao enxerto autógeno, eliminando a necessidade de dois procedimentos cirúrgicos no mesmo indivíduo, diminuindo assim as possibilidades de complicações locais e sistêmicas. Os autores BURCHART et al. (1978), FRIEDLANDER (1982), MANKIN et al. (1983) e SCHWEIBERER et al. (1989) atribuíram as mesmas vantagens ao optarem pelo emprego do enxerto cortical alógeno.

Outro benefício que se verificou ao se empregar os implantes tanto homólogo quanto xenógeno foi a disponibilidade de implantes de vários tamanhos e formas, já que a obtenção de enxertos ósseo cortical autógeno, por exemplo, grande o suficiente para preencher falhas ósseas extensas representa uma dificuldade, coincidindo com as observações de FRIEDLAENDER (1982), MANKIN et al. (1983) e HANSON & MARKEL (1992).

ALEXANDER (1983) citou que em Medicina Veterinária existe facilidade em se obter doadores para enxertia a fresco e a manutenção de banco de ossos proporciona gastos desnecessários. No presente trabalho os implantes ósseos foram conservados com solução de cefalotina sódica tamponada a 0,5%, sendo o custo para manutenção de banco de ossos extremamente reduzido como também é observado por PINTO JR (1990), COSTA (1996) e DEL CARLO et al. (1999) e deve-se acrescentar que não se obtém doadores que preencham os requisitos mínimos necessários, como vir a óbito momentos antes do procedimento cirúrgico e não ter doença infecciosa aparente, a qualquer tempo o que contradiz a afirmação de ALEXANDER (1983).

Outros autores atribuíram mais algumas desvantagens em se empregar enxertos ósseos a fresco. JOHNSON & STEIN (1991) citaram que o enxerto ósseo conservado é

superior ao a fresco, uma vez que este último é muito imunogênico, necessitando de duas equipes cirúrgicas, dois procedimentos cirúrgicos simultâneos, podendo implicar no sacrifício de um doador a cada enxertia.

No presente trabalho observou-se que a conservação em solução congelada de cefalotina sódica tamponada a 0,5% diluída em soro fisiológico diminuiu a antigenicidade dos enxertos ósseos, uma vez que não foram encontrados sinais clínicos e radiográficos de rejeição frente aos implantes. Resultados que confirmam a afirmação de DEL CARLO et al (1999) que se refere a maior capacidade osteoindutiva e osteocondutora dos implantes conservados em tal solução. Questiona-se então a teoria de BRINKER et al. (1986) na qual os autores relatam a maior probabilidade dos implantes xenógenos de causar reação imunológica, em comparação aos autógenos e alógenos.

Da mesma forma, FOSSUM (1997) relaciona a histocompatibilidade entre o sistema imune do animal receptor e do doador para o desenvolvimento do fenômeno de rejeição. A rejeição pode não ter ocorrido porque os implantes corticais são praticamente acelulares, como cita FOSSUM (1997) que relata a não contribuição deste tipo de implante para a osteogênese, assim como COSTA (1996). Além disto, os implantes corticais do presente trabalho passaram por um método de conservação, o que promove a perda da atividade celular e a queda da antigenicidade, como foi também observado por JOHNSON (1995) e PINTO JR (1995).

O implante cortical colhido dos ossos longos dos fetos bovinos e do cão doador atuou como suporte mecânico para o periósteo. Corroborando com EIMANTAS (1997), a função de osteoindução é ativada pela proteína BMP, presente nos ossos conservados em solução de cefalotina como afirma DEL CARLO et al. (1999), por ser um método que não promove a desnaturação óssea dos ossos colhidos, como a autoclavagem, técnica não apropriada como afirma STEVENSON (1990), apesar de alguns autores alcançarem a união clínica de fraturas tratadas com implantes autoclavados, como ROSS (1986), BISLA et al. (1994), SINGH et al. (1994) e PINTO JR (1995).

Neste trabalho a colheita dos ossos foi realizada de forma limpa, porém sem cuidados assépticos até a colocação do material na solução conservadora, o que tornou o procedimento mais simples e de fácil execução corroborando com COSTA (1996).

Ao contrário do que é relatado por REYNOLDS et al. (1951) e PINTO JR. (1990 e 1995) onde estes utilizaram meios químicos para conservação de ossos e recomendaram a imersão dos implantes em solução fisiológica para a reidratação e

remoção do meio de conservação, neste experimento foi somente lavado o implante com solução fisiológica, pois não há necessidade de se retirar o meio conservante do implante deste.

MANKN et al. (1983) desenvolveram um sistema de avaliação clínica para as enxertias ósseas, com as classificações: excelente, bom, satisfatório e fracasso. Analisando-se os resultados obtidos no presente trabalho, baseado nesta classificação, observou-se que 100% dos animais evoluíram de forma excelente, ou seja, o membro operado apresentou função normal e não foram verificados sinais de dor ou infecção.

Aos 60 dias do procedimento cirúrgico verificou-se em análise radiográfica e macroscópica maior reabsorção dos aloimplantes do que dos xenimplantes no osso hospedeiro, esta diferença é atribuída por EIMANTAS (1997) pela distancia entre códigos genéticos das espécies utilizadas. Fato este que deve ser comprovado.

Devido ao alto custo dos implantes biodegradáveis (BÖSTMAN, 1991; EIMANTAS, 1997), implantes confeccionados a partir de tecido ósseo preservado poderiam ser utilizados evitando um segundo procedimento cirúrgico para subsequente remoção, havendo possibilidade de confecção de diversos tipos de implantes, como parafusos, placas, hastes e pinos para utilização em qualquer espécie animal (EIMANTAS, 1997). Visto que, os resultados obtidos permitem a utilização de material ósseo xenógeno e alógeno de forma eficaz sem infecção ou rejeição.

A união óssea, entre o fragmento implantado e o osso hospedeiro, dos animais deste experimento se deu em tempo superior ao descrito por BRINKER et al. (1986), principalmente ao que se refere à implantação xenógena que ao final dos 60 dias de observação ainda não havia se dado por completo, porém estando de acordo com DENNY (1993), que afirma que a união óssea envolvendo implantação xenógena se dá em maior tempo que a alógena.

Comparando os grupos entre si, tem-se que os melhores resultados foram obtidos no grupo I aloimplante, este fato talvez se deva pela maior afinidade dos animais, sendo da mesma espécie, mesmo com o uso do nimesulide, que não influenciou de forma negativa na consolidação óssea e da ferida cirúrgica. Pode-se dizer o mesmo do grupo I xenimplante onde também não se observou a diminuição da velocidade de cicatrização.

Já com relação aos grupos II aloimplante e II xenimplante, estes sofreram com uma resposta inflamatória do tecido hospedeiro, de forma a influenciar negativamente nos seus resultados morfométricos. O tempo de cicatrização da ferida cirúrgica bem

como da consolidação óssea não diferiram de forma significativa dos grupos I aloimplante e I xenoimplante.

Os resultados morfométricos obtidos neste experimento, não têm como serem discutidos com outros autores, porque os mesmos não os mensuraram. Estão vinculados os resultados morfométricos com a utilização ou não de nimesulide no pós-operatório dos animais, na medida que, com a modulação do processo inflamatório o edema observado na região adjacente ao local da implantação óssea era inexpressível não tendo influência nos resultados morfométricos.

Pode-se dizer que ao final deste experimento os objetivos principais foram alcançados, na medida que o método demonstrou ser eficiente, a formulação de um banco de ossos funcional é possível, a ação do nimesulide como antiinflamatório para situações de abordagem ortopédica foi satisfatória e a eficácia da gentamicina na dose de 1 mg/Kg para a prevenção de infecções no pós-operatório foi comprovada.

## 6 CONCLUSÃO

As observações realizadas durante o desenvolvimento deste trabalho nos permitem chegar às seguintes conclusões:

- os ossos não precisam ser colhidos sob cuidados assépticos extremamente rigorosos, uma vez que a solução de cefalotina tem ação bactericida, o que simplifica o procedimento.

- a manutenção de banco de ossos em solução de cefalotina apresentou baixíssimo custo e o protocolo para seu desenvolvimento foi extremamente simples, em comparação a outros métodos existentes.

- os ossos conservados em solução de cefalotina não produziram fenômenos compatíveis com rejeição.

- os aloimplantes do grupo antibiótico mais antiinflamatório foram melhor absorvidos e integrados ao osso hospedeiro.

- os resultados clínicos e radiográficos foram positivos, o que possibilita o emprego da técnica de implantação óssea, tanto aloimplante como xenoimplante.

- a utilização de gentamicina, na dose empregada, demonstrou resultados satisfatórios à medida que não foi constatado sinal de infecção nos animais.

- o uso do antiinflamatório (nimesulide) demonstrou bons resultados podendo então se fazer uso deste em procedimentos cirúrgicos, como deste experimento.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**ALEXANDER, J.W.** *Use of a combination of cortical bone allografts and cancellous bone autografts to replace massive bone loss in fresh fractures and selected nonunions.* Journal of the American Animal Hospital Association. Lakewood, v.19, 671-678p., 1983.

**ALEXANDER, J.W.** *Bone grafting.* Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. Philadelphia, v.17, 811-819p., 1987.

**ASPENBERG, P.; JOHNSON, E.; THORNGUN, K.G.** *Dose dependent reduction of bone inductive properties by ethylene oxide.* The Journal of Bone and Joint Surgery. Boston, n.72, 1036-1037p., 1990.

**ALVARENGA, J., JÚNIOR, H.S.P., IWASAKI, M.** *Enxertos ósseos homólogos preservados em glicerina a 98%. Técnica de enxertia e avaliação clínico-cirúrgica.* A hora veterinária. n.92, 1996.

**BISLA, R.S.; SINGH, K.; CHAWLA, S.K.; SINGH, J.T.; SINGH, S.** *Osteomedullographic and angiographic observations following entire segment cortical grafting in goat (Capra hircus). An experimental study.* Indian Journal of Animal Sciences, Haryana, v.64, n.5, 450-454p., 1994.

**BLOOMBERG, N.S.; CORING, R.L.; BORN, F.** *Frozen diaphyseal bone allografts combined with external and internal pin splintage in small animal orthopedic surgery.* Journal of the American Animal Hospital Association, v.20, 393-402p., 1984.

**BÖSTMAN, O.** *Current concepts review-absorbable implants for the fixation of fractures.* The Journal of Bone and Joint Surgery. Boston, v.73-A, n.1, 148-153p., 1991.

**BRINKER, W.O.; PIERMATEI, D.L.; FLO, G.L.** *Manual de ortopedia e tratamento das fraturas dos pequenos animais.* São Paulo. Ed. Manole, 45-49p., 1986.

**BROWN, K.L.B. & CRUESS, R.L.** *Bone and cartilage transplantation in orthopedic surgery.* The Journal of Bone and Joint Surgery, Boston, v.64-A, 270-279p., 1982.

**BURCHART, H.** *Freeze-dried allogeneic segmental cortical bone graft in dogs.* The Journal of the Bone and Joint Surgery, Boston, v.60-A, 1082-1090p., 1978.



CARNEIRO, R. & MALININ, T. *Vascularized bone allografts: an experimental study in dogs*. Journal Reconstruct Microsurgery. Florida, v.7, n.2, 101-103p., 1991.

COSTA, J.L.O. Reconstrução de grandes falhas ósseas com enxerto cortical alógeno conservado em glicerina, fixado com placa e parafusos de aço inoxidável da série 304. Estudo experimental em cães (Canis familiaris). Jaboticabal, 1996. 100p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

DEL CARLO, R.J.; GALVÃO, S.R.; VILORIA, M.I.V.; SOUZA, T.D.; FILHO, A.M. *Aloenxertos ósseos caninos diferentemente preservados*. Revista Brasileira de Ciência Veterinária., v.6, n.3, p.121-126, 1999.

DENNY, R.H. *Bone grafts. In: A guide to Canine and Feline Orthopedic Surgery*. 3ed. London: Oxford, 22-27p., 1993.

DUBEY, I.K. *Repair of transverse femoral fractures in canines using intramedullary nails prepared from bovine horn – An experimental study*. Indian Veterinary Journal. Madras, v. 70, 445-448 p., 1993.

EIMANTAS, G.C. Utilização de fíbula de cão conservada em glicerina na reparação e estabilização de fraturas femorais distais em cães e gatos jovens. Jaboticabal, 1997. 112p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista.

FOSSUM, T.W. *Small Animal Surgery*. Missouri. Ed. Mosby, 1193p., 1997.

FRIEDLAENDER, G.E. *Current concepts review. Bone Banking*. Journal Bone Joint Surgery. v.64A, p.307-311, 1982.

GOLDBERG, V.M.; STEVENSON, S. *Natural history of autografts and allografts*. Clinical Orthopedics and Related Research, Hagerstown, n.225, 7-21p., 1987.

HAM, A. W. *Histologia*. 7<sup>a</sup>.ed. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan, 318-322p. 1977.

HANSON, P.D.; MARKEL, M.D. *Bone and cartilage transplantation*. Veterinary Clinical Orthopedics and Traumatology, New York, n.5, 163-169p., 1992.

**HENRY, W.B.; WADSWORTH, P.L. Diaphyseal allografts in the repair of long bone fractures.** Journal of the American Animal Hospital Association, Lakewood, v.17, 525-534 p., 1981.

**HENRY JR, W.B. Enxertos ósseos em pequenos animais.** In: **BOJRAB, M.J.** Cirurgia dos pequenos animais. 2ed. São Paulo. Ed. Rocca, 1991.

**JOHNSON, A.L. Bone grafting.** In: **OLMSTEAD, M.L.** Small animal orthopedics. St. Louis. Ed. Mosby, 146-151p. 1995.

**JOHNSON, A.L.; STEIN, L.E. Morphologic comparison of healing patterns in ethylene oxide sterilized cortical allografts and untreated cortical autografts in the dog.** American Journal Veterinary Research. Schaumburg, v.49, n.1, 101-105p., 1991.

**JOHNSON, A.L.; ROE, S.C.; HARARI, J. Ethylene oxide sterilization of cortical bone for bone banking. Technique and results in three dogs and one cat.** Veterinary Surgery. v.15, n.1, 49-54p., 1986.

**JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. 8ª.ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan. 108-122p. 1995.**

**KERWIN, C.S.; LEWIS, D.D.; ELKINS, A.D. Bone grafting and banking.** Compendium Continuing Education for the Practicing Veterinarian. v.13, n. 10, 1558-1567 p., 1991.

**LEITE, J.B. et al. A glicerina e a preservação dos tecidos.** Revista Paulista de Medicina de São Paulo. v.93, 81-83p., 1979.

**MANKIN, H.J.; DOPPELTS, J.; TOMFORD, W. Clinical experience with allograft implantation. The first ten yards.** Clinical Orthopedics, v.174, 69-86p., 1983.

**MARQUES, A.F. Avaliação da dura-máter homóloga como substituto aponeurótico abdominal.** Anais Hospital Sid. Nacional, 1978.

**MASSONE, F. Anestesiologia Veterinária. Ed. Guanabara Koogan, 2ª ed., Rio de Janeiro, 252p., 1994.**

**MORGAN, J.P., SILVERMAN, S., ZONTINE, W.J. Techniques of veterinary radiography, 2ª ed. Davis, Veterinary Radiography Associates, 1977.**

PELKER, R.R.; FRIEDLAENDER, G.E.; MARKHAM, T.C. *Biomechanical properties of bone allografts*. Clinical Orthopaedics. Philadelphia, v. 174, 54-57p., 1983.

PIERMATEI, D.L.; FLO, G.L. *Bone grafting*. In: Handbook of small animal orthopedics and fracture repair. 3ed. Philadelphia. Ed. W.B. Saunders, 147-153p., 1997.

PIGOSSI, N. *Implantação de Dura-máter homóloga conservada em glicerina. Estudo experimental em cães*. São Paulo, 1964. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

PINTO JUNIOR, H.S. *Utilização de enxertos ósseos homólogos preservados na reparação de fraturas cominutivas de ossos longos em cães*. São Paulo, 1990. 54p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

PINTO JUNIOR, H.S. *Utilização de enxerto ósseo cortical homólogo preservado em tintura de iodo a 2% na reparação de fraturas cominutivas de ossos longos de cães*. São Paulo, 1995, 75p. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

REYNOLDS, F.D.; OLIVER, D.R.; RAMSEY, R. *Clinical evaluation of the Merthiolate bone bank and homogenous bone graft*. The Journal of Bone and Joint Surgery, Boston, v.33, 873-877p., 1951.

ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S.; KUMAR, V. Fundamentos da Patologia Estrutural e Funcional. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan. 207-209p., 1992.

ROE, S.C.; PIJANOWSKI, G.J.; JOHNSON, A.L. *Biomechanical properties of canine cortical bone allografts: Effects of preparation and storage*. American Journal Veterinary Research. v.49, n.6, 1988.

ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. Imunologia. 2 ed. São Paulo. Ed. Manole, 1992.

ROSS, H.C. *The use of cortical xenografts in surgical bone repair*. Canine Practice. v.13, n.4, 23-26p., 1986.

SCHEINA III, C.J.; MITTEN, R.W.; HOEFLE, W.D. *Segmental freeze-dried and fresh cortical allografts in the canine femur. A sequential radiographic comparison over a one-year time interval*. Journal of the American Animal Hospital Association. v.20, 1994.

SCHWEIBERER, L.; STUTZLE, H. & MANDELKON, H.K. *Bone Transplantation*. Archives Orthopedics and Trauma Surgery, Heidelberg, n.109, 1-8p., 1989.

SINGH, J.P.; CHAWLA, S.K.; SINGH, J.T.; SINGH, A.P. *Plain radiographic evaluation of autoclaved and decalcified segmental cortical bone allografts in goats*. Indian Journal of Animal Sciences. v.64, n.3, 233-236p., 1994.

SINGH, G.R.; MOGHA, I.V. *A comparative radiological evaluation of xenogenic bone plates of bovine and equine origin in sheep – An experimental study*. Indian Journal Animal Science. v.54, n.9, 858-862p., 1984.

STEVENSON, S. *Bone grafting*. In: BOJRAB, M.J. Currents techniques in small animal surgery. 3ed. Philadelphia. Lea & Febiger, 836-843p.,1990.

STEVENSON, S. & HOROWITZ, M. *Current concepts review the response to bone allografts*. Journal Bone Joint Surgery., v. 74A, n.6, p. 939-950, 1992.

TSHMALA, M. *La greffe osseuse*. American Médecine Vétérinaire. Paris, v.137, 415-424p., 1993.

TULI, M.S.; SHING, A.D. *The osteoinductive property of decalcified bone matrix. An experimental study*. The Journal of Bone Joint Surgery. Boston, v.60, n.1, 116-122p. 1978.

VASSEUR, P.B. & STEVENSON, S. *Osteosarcoma at the site of a cortical bone allograft in a dog*. Veterinary Surgery. v.16, n.1, 70-74p., 1987.

WAGNER, S.D.; MANLEY, P.A.; RADASCH, R.M.; HOEFLE, W.D.; HAYNES, J.S. *Failure of ethylene oxide-sterilized cortical allografts in two dogs*. Journal of the American Animal Hospital Association. v.30, n.2, 181-189p., 1994.

WEIGEL, J.P. Bone grafting. In: BOJRAB, M.J. **Disease mechanisms in small animal surgery**. 2 ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 678-84p., 1993.

WHITTICK, W.G. *Traumatologia y ortopedia canina*. Espanha. Editorial Aedos, v.1,127p., 1977.

WILSON, J.W., RHINELANDER, F.W., STEWART, C.L. *Vasculature of cancellous chip bone grafts*. American Journal Veterinary Research, v.46, 1691-1699p., 1985