

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

FERNANDO BORGES MIRANDA

**PLACA ÓSSEA BOVINA NA FIXAÇÃO *EX VIVO* DO
AVANÇO DA TUBEROSIDADE TIBIAL EM CÃES:
AVALIAÇÃO MECÂNICA, MICROSCÓPICA E
MICROBIOLÓGICA**

ALEGRE – ES

2010

FERNANDO BORGES MIRANDA

**PLACA ÓSSEA BOVINA NA FIXAÇÃO *EX VIVO* DO
AVANÇO DA TUBEROSIDADE TIBIAL EM CÃES:
AVALIAÇÃO MECÂNICA, MICROSCÓPICA E
MICROBIOLÓGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de **Mestre em Ciências Veterinárias**, linha de pesquisa em Cirurgia Experimental e Emergências em Animais.

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Maria Coletto Freitas

ALEGRE – ES

2010

À todos aqueles que expressaram seu amor sem palavras:
Chicão, Tasha, Nina, Cléu, Dinho, Tomaz, Raposinha, Chocolate e Preta

AGRADECIMENTOS

À força maior que move o universo, pelas constantes mudanças.

Aos meus pais, Roberto Moreira e Maria Dulce Borges, por todo o esforço, apoio e incentivo em todos os momentos desta caminhada – dos mais árduos e incertos, aos mais prazerosos.

Aos meus companheiros de mestrado em Cirurgia Experimental e Emergência, Edson Vilela, Ana Elisa Pato e Marilda Taffarel, pelos bons e maus momentos que dividimos nesta caminhada de dois anos, e a todos os colegas de mestrado: Milena Carneiro, Marcelo Carvalho, Leonardo Trivilin, Daniele Porcari, Betânia Almeida, César Otaviano Penna, Jacques Coimbra e Flavia Machado.

À minha orientadora Patricia Maria Coletto Freitas, por mais uma vez fazer parte da minha caminhada profissional, e pela eterna lição de como ser um médico veterinário.

Aos professores Dr. Marcelo Emílio Beletti e Dr. Marcos Massao Shimano, pela elucidação de questionamentos que outrora eram obscuros em meu conhecimento.

Ao meu grande companheiro e “irmão” Guilherme Cabral, o *Burro*, pelos grandiosos momentos de companheirismo, amizade, respeito e força. Fica a lembrança e a saudade de tempos iluminados em minha memória: - *Pé-de-muleque!!!*

Às grandes e inesquecíveis amizades que deixo para trás nesta cidade, mas que carrego comigo daqui em diante: Aguinaldo Mendes, o *Rayol*, e Leonardo Campos, o *Léozim*. Tenho eterna gratidão a Deus por vocês terem feito parte dessa história.

Ao professor e grande companheiro Marcos Franque, pela ajuda mais que providencial no momento em que menos portas estiveram abertas nesse tempo de mestrado. Também à família Franque, por todo respeito e acolhimento. Eternamente grato a vocês.

À, mais que professora, Lenir Porfirio, pelas palavras sempre mais que oportunas e encorajadoras... “*Se vi mais longe, foi porque subi no ombro de gigantes.*” Obrigado!

À Eli Moraes, o *Bigodones*, e Márcia Moraes, a *D. Márcia*, a quem eu considero minha família torta, e por todo acolhimento quando a distância de casa causava tanta dor. Ficarão em meu coração sempre!

A todos os funcionários do Hospital Veterinário de Alegre, que sempre mantiveram as portas abertas quando preciso.

A todos os professores do CCA/UFES, veterinários ou não, pela convivência pacífica e respeitosa.

A todos os alunos do curso de medicina veterinária, com os quais dividi bons momentos nesse período em Alegre.

A Universidade Federal do Espírito Santo e a CAPES, pelas condições oferecidas para realização desse trabalho, assim como a Universidade Federal de Uberlândia, Universidade de Uberaba, Metal Vet, Probac do Brasil e a Cofril LTDA.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Às pessoas que tornaram este experimento realmente possível, e que através da boa vontade, do bom humor e da simples vontade de ajudar, deram, além do auxílio, uma força providencial quando os obstáculos pareciam insuperáveis:

Hélio Alberto, o *Sr. Hélio*, técnico em patologia do Departamento de Patologia da Universidade de Uberaba;

Ruy Silva, o *Tio Ruy*, técnico em histologia do Departamento de Histologia da Universidade Federal de Uberlândia;

Marcelo Arantes Levenhagen, técnico em microscopia eletrônica do Departamento de Histologia da Universidade Federal de Uberlândia;

Fabício Faria Araújo, técnico em histologia do Departamento de Histologia da Universidade Federal de Uberlândia;

Chegamos ao fim!!!!

*“If you give, you begin to live
But you might die trying”*

RESUMO

Objetivou-se avaliar placas de osso bovino conservadas em solução saturada de sal, com ou sem tratamento químico, como estabilizador articular após desmotomia do ligamento cruzado cranial (LCCr) em cães *ex vivo*, sob os aspectos mecânicos, microbiológicos e microscópicos. Para tal, 34 placas foram usinadas e distribuídas em dois grupos: G_S (n=17) - foram conservadas em solução saturada de sal a 150% por 45 dias; G_{PS} (n=17) - foram submetidas a um tratamento químico anteriormente à conservação. Após, realizou-se desmotomia do LCCr, osteotomia da tuberosidade da tíbia, e avanço e fixação desta com as placas ósseas. Para a avaliação mecânica, realizou-se o ensaio de compressão nos espécimes (tíbia + placa). Observou-se presença de microorganismo nas placas do G_S. No G_{PS} verificou-se desnaturação do colágeno ósseo. Em ambos os grupos, as forças máximas suportadas excederam as forças fisiológicas estimadas para 110% do peso dos animais. Conclui-se que a solução saturada de sal promove lise nuclear sem afetar a disposição das fibras ósseas, sugerindo diminuição da antigenicidade do osso cortical bovino; o processamento químico é um método eficiente de esterilização de material cortical ósseo bovino; a placa óssea como estabilizador articular suporta a força vertical máxima de compressão calculada para 110% do peso vivo sobre a tuberosidade da tíbia após o seu avanço.

Palavras-chave: enxerto, osso, RLCCr, biomecânica.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate bovine cortical bone plates preserved in over-saturated salt solution associated or not with chemical treatment, as a joint stabilization method after desmotomy of the cranial cruciate ligament (CrCL) in dogs *ex vivo*, as for mechanics, microbiologic and microscopic aspects. For this proposal, 34 bone plates were manufactured and distributed in two groups: GS (n=17) – preserved in 150% over-saturated salt solution for 45 days; GPS (n=17) – underwent to chemical treatment before preservation. Later, the CrCL desmotomy, tibial tuberosity osteotomy and advancement and fixation of the tuberosity with the bone plates were performed. Then, compression tests of the specimes (tibia + bone plates) were performed for mechanical evaluation. Contamination was observed in group GS. It was observed collagen denaturation in GPS. In both groups the maximum supported force exceeded the physiologic load estimated in 110% of the living weight. We concluded that over-saturated salt solution may reduce cortical bone antigenicity; the chemical treatment is an effective sterilization method of cortical bone; and the bone plates as a joint stabilization method supports compressive forces applied on tibial tuberosity after its advancement.

Palavras-chave: graft, bone, CrCLR, biomechanics;

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 1

Figura 1. Tenoplastia do tendão calcâneo comum de coelho. Observe o peritônio bovino (P) fixado por meio de sutura ao tendão calcâneo comum (seta).....	30
Figura 2. Blefaroplastia em coelho. Observe a cartilagem auricular (seta) fixada a pálpebra inferior do coelho.....	33
Figura 3. Peritônio bovino (seta) sendo reidratado com solução de cloreto de sódio a 0,9% acrescida de enrofloxacin.....	37
Figura 4 (AB). Frasco contendo solução saturada de sal. A. Observe peritônio bovino (seta) mergulhado no meio conservante. B. Observe cartilagem auricular mergulhada (seta) no meio conservante.....	37

CAPITULO 2

Figura 1. A) Placa óssea confeccionada de osso cortical da diáfise femoral de bovino. B) Placa óssea (seta azul) fixada a tuberosidade da tíbia (seta vermelha) e a tíbia (seta verde). C) Posicionamento do espécime na máquina universal para realização do ensaio mecânico destrutivo de compressão. Observe a base de PVC fixada a uma morsa ajustável (seta amarela) acoplada à máquina de ensaios. D) Ensaio mecânico de compressão. Observe o pino (seta vermelha) posicionado sobre a tuberosidade tibial.....	51
Figura 2. A e B – Análise ultra-estrutural do osso cortical bovino após conservação em solução saturada de sal, com e sem tratamento químico prévio. A) Observe ausência quase total de conteúdo nuclear (seta amarela) e presença de cromatina desnaturada (seta vermelha), no osso do grupo conservado em solução saturada de sal (G _S). (3000x, 80 kV). B) Observe perda do contorno nuclear, e manutenção de parte do conteúdo citoplasmático, no osso do grupo tratado quimicamente e conservado em solução saturada de sal (G _{PS}). (3000x, 80 kV). C e D – Fotomicrografia osso	

cortical bovino após conservação em solução saturada de sal, com e sem tratamento químico prévio. Observe falhas na matriz de colágeno (círculo) no osso conservado em solução saturada de sal (G_{PS}). Picrosirius – 10x e 20x..... 54

ANEXOS

Figura 1. Placa óssea confeccionada de osso cortical da diáfise femoral de bovino.....	73
Figura 2. Técnica de estabilização articular após desmotomia do ligamento cruzado cranial com avanço da tuberosidade da tíbia em cães <i>ex vivo</i> . Observe a placa óssea (seta vermelha) fixada na tuberosidade da tíbia (seta azul) e na tíbia (seta lilás).....	74
Figura 3. Espécime (tíbia + placa) fixada em base de PVC (seta vermelha) preenchida com resina acrílica (seta rosa), a qual está acoplado a máquina universal de ensaios mecânicos. Observe o posicionamento do pino de força perpendicular (traço preto) à base o qual foi fixada a tíbia.....	75
Figura 4. Máquina universal de ensaios EMIC [®] , do Laboratório de Pesquisas em Materiais da Universidade de Uberaba.....	76
Figura 5. Posicionamento do espécime (tíbia + placa) na máquina universal de ensaios mecânicos. Observe a base de PVC fixada a uma morsa ajustável (seta amarela) acoplada à máquina de ensaios, e o pino de aplicação de força (seta vermelha) perpendicular a tuberosidade da tíbia (seta rosa).....	77
Figura 6. Ensaio mecânico destrutivo de compressão do espécime (tíbia + placa). Observe a posição perpendicular do pino de aplicação de força (seta azul) sobre a tuberosidade tibial deslocada (seta vermelha), a qual está fixada por meio de placa confeccionada de osso bovino (seta verde).....	78
Figura 7. Ensaio mecânico destrutivo de compressão da tíbia de cães <i>ex vivo</i> após avanço e fixação da sua tuberosidade por meio de placa de osso bovino. Observe deformação do parafuso cortical (seta verde), e deslocamento da tuberosidade no sentido lateral a placa óssea (seta azul)....	79
Figura 8. Aspecto ultra-estrutural do osso cortical bovino após conservação	

- em solução saturada de sal (G_P). Observe contorno nuclear irregular (seta vermelha), presença de cromatina desnaturada (seta amarela), e canálculos celulares sem prolongamentos citoplasmáticos (seta verde) (3000x)..... 80
- Figura 9. Aspecto ultra-estrutural do osso cortical bovino após tratamento químico e conservação em solução saturada de sal (G_{PS}). Observe contorno nuclear irregular (seta vermelha), presença de cromatina desnaturada (seta amarela), e canálculos celulares sem prolongamentos citoplasmáticos (seta verde) (3000x, 80 kV)..... 81
- Figura 10. Fotomicrografia do osso cortical bovino após tratamento químico e conservação em solução saturada de sal (G_{PS}). Observe falhas na matriz de colágeno (círculo). Picosirius – 20x..... 82
- Figura 11. Fotomicrografia do osso cortical bovino após conservação em solução saturada de sal (G_S). Observe ausência de alteração na arquitetura da matriz óssea (círculo), com células apresentando mínimo conteúdo celular e citoplasma (seta vermelha). HE – 20x..... 83
- Figura 12. Fotomicrografia do osso cortical bovino após tratamento químico e conservação em solução saturada de sal (G_{PS}). Observe células com ausência de material celular (seta vermelha) e com material celular preservado (seta verde). HE – 20x..... 84
- Figura 13. Gráfico de dispersão dos espécimes que tiveram a tuberosidade da tibia reparada com placas do G_{PS} . Valores para construção dos espécimes relativos a 25, 50, 75, 100 e 110% do peso, força e deformação máximas..... 85
- Figura 14. Gráfico de dispersão dos espécimes que tiveram a tuberosidade da tibia reparada com placas do G_S . Valores para construção dos espécimes relativos a 25, 50, 75, 100 e 110% do peso, força e deformação máximas..... 85

LISTA DE TABELAS

ANEXOS

Tabela 1. Conversão do peso dos animais de quilograma (Kg) em Newtons (N).....	86
Tabela 2. Valores obtidos das curvas de força x deformação dos espécimes que tiveram a tuberosidade da tíbia reparada com placas do G _{PS} . Os valores percentuais (%) são relativos à porcentagem de peso do animal, calculado após o óbito. Valores de força expressos em Newtons (N), e deformação em milímetros (mm).....	87
Tabela 3. Valores obtidos das curvas de força x deformação dos espécimes que tiveram a tuberosidade da tíbia reparada com placas do G _S . Os valores percentuais (%) são relativos à porcentagem de peso do animal, calculado após o óbito. Valores de força expressos em Newtons (N) e deformação em milímetros (mm).....	87
Tabela 4. Valores de força e deformação máxima dos grupos G _{PS} e G _S , média e desvio padrão.....	88
Tabela 5. Análise microbiológica da solução de reidratação das placas ósseas e de amostras do sobrenadante do meio conservante, anterior (PC) e após 45 dias de conservação (AC) em solução saturada de sal (G _S) e após tratamento químico e conservação em solução saturada de sal (G _{PS})...	88

LISTA DE SIGLAS/ABREVIATURAS/SÍMBOLOS

v.	volume
p.	página
cap.	capítulo
ed.	edição
et al.	e colaboradores
BHI	infusão de cérebro e coração
cm	centímetro
mm	milímetro
mL	mililitro
°	grau
° C	grau centígrado
min	minuto
kgf	quilograma-força
kg	quilograma
g	grama
%	por cento
+	positivo
-	negativo
x	vezes
±	mais ou menos
LCCr	Ligamento Cruzado Cranial
RLCCr	Ruptura do Ligamento Cruzado Cranial
CTT	Cranial Tibial Thrust (<i>Port.</i> : Força Tibial Cranial)
TTA	Tibial Tuberosity Advancement (<i>Port.</i> : Avanço da Tuberosidade Tibial)
TPLO	Tibial Plateau Leveling Osteotomy (<i>Port.</i> : Osteotomia de nivelamento do platô tibial)
PVF	Peak Vertical Force (<i>Port.</i> : Força Vertical Máxima)
US\$	Dólar (Americano)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Ruptura do ligamento cruzado cranial: fisiopatologia e tratamento.....	18
2.2 Tecido ósseo.....	20
2.2.1 Enxertos e implantes ósseos.....	20
2.2.2 Métodos de conservação.....	21
2.2.3 Biomecânica óssea.....	23
3 CAPÍTULO 1.....	26
Membranas biológicas para uso em cirurgia reconstrutiva.....	27
RESUMO.....	27
ABSTRACT.....	28
INTRODUÇÃO.....	28
Membranas Biológicas.....	29
Meios de Conservação.....	34
COMENTÁRIOS.....	38
REFERÊNCIAS.....	38
4 CAPÍTULO 2.....	44
Placa óssea bovina na fixação <i>ex vivo</i> do avanço da tuberosidade tibial em cães: avaliação mecânica, microscópica e microbiológica.....	45
RESUMO.....	45
ABSTRACT.....	46
INTRODUÇÃO.....	46
MATERIAL E MÉTODOS.....	48
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS.....	56
5 CONCLUSÕES GERAIS.....	59
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
ANEXOS.....	73

1 INTRODUÇÃO

A ruptura do ligamento cruzado cranial (RLCCr) é uma das causas mais comuns de claudicação em cães, pois promove instabilidade rotacional e translacional da articulação do joelho (JOHNSON et al., 1994). Esta alteração ocorre mais comumente em cães jovens de raças grandes, de forma bilateral (DOVERSPIKE et al., 1993; ELKINS et al., 1991; VASSEUR e BERRY, 1992). Segundo Apelt e colaboradores (2007), essa afecção leva ao desenvolvimento de osteoartrite progressiva, além de poder resultar em dano secundário aos meniscos.

De acordo com Piermattei e colaboradores (2006), a intervenção cirúrgica é recomendada para a maioria dos cães com RLCCr, a fim de restabelecer a estabilidade da articulação e identificar quaisquer lesões meniscais. Segundo Wilke e colaboradores (2005), nos últimos 50 anos diversos procedimentos cirúrgicos têm sido descritos para o tratamento desta artropatia. Entretanto, entre procedimentos cirúrgicos e conservativos, estimou-se que no ano de 2003 nos Estados Unidos, houve um gasto de cerca de US\$ 1 bilhão para o tratamento de cães com algum tipo de lesão do RLCCr.

Técnicas cirúrgicas envolvendo a osteotomia e o deslocamento da tuberosidade da tíbia vêm sendo realizadas para reestabilizar a articulação do joelho, com a finalidade de neutralizar as forças tibiofemorais (BOUDRIEU, 2009; KIM et al., 2008). Entre elas encontram-se a osteotomia de nivelamento do platô tibial (TPLO) e o avanço da tuberosidade tibial (TTA) (BOUDRIEU, 2009). A TPLO altera a mecânica do joelho, promovendo a estabilização pela contenção ativa da articulação, ou seja, por meio de músculos e tendões. Além disso, promove uma redistribuição da pressão de contato femorotibial caudalmente à tíbia. Entretanto, esse mecanismo de contato anormal provavelmente contribua para a progressão da osteoartrite (KIM et al., 2009a). A TTA procura eliminar a compressão tibial pelo posicionamento do tendão patelar perpendicular às forças de cisalhamento do joelho. Esta técnica não afeta a congruência articular e parece resultar em menor inflamação do ligamento patelar (CAREY et al., 2005). Entretanto, de forma geral, essas técnicas requerem o uso de próteses de metal, de vários tamanhos e dimensões, que elevam o custo operacional dessas cirurgias (BOUDRIEU, 2009), inviabilizando muitas vezes sua execução.

O metal é um material classicamente utilizado na confecção de parafusos e placas ortopédicas. Biomateriais alternativos ao metal para confeccionar implantes cirúrgicos, como polímeros biodegradáveis, derivados do óleo de mamona, parafusos de ossos

bovinos, vêm sendo pesquisados, devido aos problemas originados pelos metais, nos processos de biocompatibilidade, osteointegração e módulo de elasticidade acima do ideal (HAJE e VOLPON, 2006; HAJE et al., 2007). Além disso, já foi demonstrado que implantes metálicos podem não ser fabricados de acordo com especificações estabelecidas nas normas de referência, causando assim problemas como baixa resistência à corrosão e fratura por fadiga (OLIVEIRA et al., 2004). Haje e Volpon (2006) desenvolveram parafusos de osso bovino, e verificaram que a confecção de parafusos de dimensões pré-estabelecidas é possível, apresentando padrão de qualidade dimensional comparável com modelo metálico similar. Haje e colaboradores (2007) avaliaram por meio de microscopia de varredura os efeitos da usinagem em parafusos de osso bovino, e observaram que esse método causou amalgamento das fibras da superfície óssea. Entretanto, concluíram que o desempenho mecânico do parafuso necessita de investigações.

Contudo, previamente ao uso desses materiais nas osteossínteses, estes necessitam ser conservados e esterilizados. Assim, vários métodos têm sido utilizados com esta finalidade. Giovani e colaboradores (2006) estudaram ossos conservados em glicerina 98% e congelados a -80°C e verificaram que estes métodos não alteraram a viabilidade de osteoclastos e osteoblastos. Castania e Volpon (2007) após esterilizarem blocos ósseos caninos em óxido de etileno e enxertarem, concluíram que este material apresentou boa atividade biológica, com alta taxa de integração ao leito receptor.

Além disso, segundo Macedo e colaboradores (1999), a análise da resistência de ossos conservados para a utilização futura como implante é de extrema importância, já que esse material deve proporcionar adequado suporte estrutural após implantado. Melo Filho (2010) após conservar placas ósseas corticais bovinas em solução de glicerina 98%, soluções saturadas de açúcar e sal, líquido de Dakin, nitrogênio líquido e óxido de etileno, relatou que o osso submetido à reidratação por seis horas não apresenta diferença biomecânica quando testadas em ensaios de torção, compressão, flexão e tração. Entretanto, segundo Wang e colaboradores (2001), os processos de esterilização e conservação óssea por meio do aumento de temperatura podem envolver a desnaturação do colágeno. Esses autores também relataram que a crescente taxa de desnaturação do colágeno orgânico e mineral influencia a resistência do osso, mas não exerce influência sobre sua dureza, após avaliarem a relação entre a desnaturação do colágeno e as propriedades biomecânicas de ossos corticais humanos.

Portanto, objetivou-se avaliar placas de osso bovino conservadas em solução saturada de sal, com ou sem tratamento químico, na fixação *ex vivo* do avanço da tuberosidade tibial em cães, sob os aspectos mecânicos, microbiológicos e microscópicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RUPTURA DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL: FISIOPATOLOGIA E TRATAMENTO

A ruptura do ligamento cruzado cranial (RLCCr) geralmente é decorrente de trauma, contudo, na maioria dos cães, essa ruptura somente ocorre quando há uma fadiga patológica e progressiva do ligamento (HAYASHI et al., 2004). Segundo Sandman e Harari (2001), a fadiga do ligamento é causada por diversos fatores, entre eles artropatia imunomediada, estenose intercondilar congênita, obesidade e excessiva angulação do platô tibial. Existe incidência mais elevada em fêmeas quando comparado aos machos (VASSEUR, 1998; ZELTZMAN et al., 2005), sendo os animais castrados os mais comumente atingidos, possivelmente em decorrência do excesso de peso e alterações no metabolismo do colágeno (VASSEUR, 1998; VASSEUR, 2003; ZELTZMAN et al., 2005). Entretanto, independente da causa, a RLCCr resulta em instabilidade rotacional e translacional da articulação do joelho, com progressão secundária para osteoartrite (APELT et al., 2007).

Nos últimos 50 anos, uma gama de procedimentos cirúrgicos tem sido descritos para o tratamento desta alteração, refletindo assim a controvérsia a respeito do tratamento adequado de pacientes com RLCCr (CONZEMIUS et al., 2005; KIM et al., 2008). A terapia cirúrgica é dividida entre reconstrução intra e extra-capsular, osteotomia corretiva ou reparo primário com acréscimo (BIASI et al., 2005; BUQUERA et al., 2002; KIM et al., 2009a; KIM et al., 2009b; SELMI et al., 2007). Os procedimentos cirúrgicos intra e extra-capsulares objetivam a reconstrução das contenções passivas da articulação do joelho. Segundo Schulz (2008), as técnicas intra-capsulares possuem a vantagem de mimetizarem com maior perfeição a posição original e a biologia do ligamento cruzado cranial. Entretanto, além de serem técnicas invasivas, pode ocorrer afrouxamento ou até ruptura do material utilizado para esta reparação. As técnicas extra-articulares utilizam suturas ou fios metálicos periarticulares de grande calibre (GAMBARDELLA et al., 1981), ou a transposição de tecidos moles para reduzir a frouxidão da articulação (SMITH e TORG, 1985). Essas estabilizam a articulação pela alteração da posição de estruturas extra-articulares. Assim, são procedimentos menos invasivos quando comparados as intra-capsulares (RACKARD, 1996). Todavia, de acordo com Buquera e colaboradores

(2002), os materiais utilizados nestas técnicas podem provocar efusão e distensão da cápsula articular, além de poder ocorrer afrouxamento e até soltura do material utilizado para o reparo.

Técnicas cirúrgicas envolvendo a osteotomia e o deslocamento da tuberosidade da tibia vêm sendo realizadas para reestabilizar a articulação do joelho, com a finalidade de neutralizar as forças tibiofemorais (BOUDRIEU, 2009; KIM et al., 2008). Entre elas encontram-se a osteotomia de nivelamento do platô tibial (TPLO) e o avanço da tuberosidade tibial (TTA) (BOUDRIEU, 2009). A TPLO altera a mecânica do joelho, promovendo a estabilização pela contenção ativa da articulação, ou seja, por meio de músculos e tendões. Além disso, promove uma redistribuição da pressão de contato femorotibial caudalmente à tibia. Entretanto, esse mecanismo de contato anormal talvez possa contribuir para a progressão da osteoartrite (KIM et al., 2009a). A TTA procura eliminar a força tibial cranial (CTT - *cranial tibial thrust*) pelo posicionamento do tendão patelar perpendicular às forças de cisalhamento do joelho. Esta técnica não afeta a congruência articular e parece resultar em menor inflamação do ligamento patelar (CAREY et al., 2005). Entretanto, para se determinar a viabilidade biomecânica da técnica de TTA, os resultados obtidos são comparados às forças fisiológicas aplicadas ao membro (KOWALESKI et al., 2003; LIPTAK et al., 2006; VIDA et al., 2005). Para tal, a força vertical máxima (PVF - *peak vertical force*) pode ser estimada para os membros posteriores baseada no peso dos animais, conforme descrito por Ballagas e colaboradores (2004). Segundo Patterson e colaboradores (1991), as forças de carga geradas pelo peso do animal poderiam ser divididas nos quatro membros, onde cada membro recebe a carga média de 25% do peso quando em posição quadrupedal. Contudo, de acordo com Conzemius e colaboradores (2005), em cães saudáveis em locomoção, os membros pélvicos podem alcançar uma força de aproximadamente 100% do peso corporal. Damur (2005) relatou que a PVF nos membros pélvicos, após a realização da TTA em cães, foi de 64% do peso dos animais. Já Lins e colaboradores (2009), utilizando uma técnica modificada de TTA, descreveram uma carga suportada máxima superior ao dobro do valor da PVF estimada, em experimentos *ex vivo*.

2.2 TECIDO ÓSSEO

2.2.1 *Enxertos e implantes ósseos*

Os enxertos e implantes ósseos são utilizados na rotina clínico-cirúrgico quando ocorre perda de tecido ósseo que comprometa a função do membro. Sua aplicabilidade é vasta na cirurgia reconstrutiva, principalmente na área ortopédica, sendo empregados para o reparo decorrente de traumas, pseudoartroses, correção de deformidades, e após ressecção tumoral e estímulo a osteogênese (WOOD e BISHOP, 2007). Segundo Gioso e colaboradores (2002), os primeiros enxertos foram utilizados com o objetivo de proporcionar suporte mecânico. Além disso, de acordo com Stevenson (1998), estes promovem estabilidade mecânica por causarem estabilização óssea, e atuarem como suporte para crescimento de osso novo do hospedeiro (osteocondução), e como fonte de fatores indutivos (osteoindução).

Dhillon e colaboradores (2008) relataram que os implantes biodegradáveis têm sido utilizados experimentalmente como pinos, fios e placas para fixação interna das fraturas. Segundo Haje e Volpon (2006), implantes confeccionados a partir de osso provavelmente irão favorecer a cicatrização óssea, permitir micromovimentos na linha de fratura e diminuir a osteopenia peri-implante. Além disso, esses implantes oriundos de material biológico podem possuir a vantagem de serem confeccionados no formato e tamanho necessários. Assim, como relatado por Hovis e Bucholz (1997), os implantes bioabsorvíveis, comparativamente aos metálicos, proporcionam vantagens como promover menor reação adversa aos tecidos moles, além da ausência da necessidade de posterior remoção. Haje e Volpon (2006) desenvolveram parafusos de osso bovino, e verificaram que a confecção de parafusos de dimensões pré-estabelecidas é possível, apresentando padrão de qualidade dimensional comparável com modelo metálico similar. Padilha Filho e colaboradores (2008) fabricaram pinos ósseos quadrangulares a partir de osso cortical de bovinos, e constataram que o enxerto proporcionou estabilidade mecânica após ser aplicado em fraturas femorais de gatos, sem reações de rejeição. Melo Filho (2010) avaliou o comportamento mecânico de placas ósseas produzidas a partir da diáfise tibial de bovinos, e concluiu que diferentes meios de conservação não afetaram o comportamento mecânico do osso em testes de compressão, torção, flexão e tração. Entretanto, Haje e colaboradores (2007) avaliaram por meio de microscopia de varredura os efeitos da usinagem em parafusos de osso bovino e observaram que esse método

causou amalgamação das fibras da superfície óssea. Também, Castiglia e colaboradores (2009) relataram que ossos corticais de ratas tratados quimicamente e esterilizados em óxido de etileno apresentam, além de amalgamação das fibras ósseas, inatividade do conteúdo celular, atuando como osteocondutores no processo de estimulação de neoformação óssea. Wang e colaboradores (2001) após estudarem os efeitos do aquecimento sobre a desnaturação do colágeno ósseo, concluíram que o processo de desnaturação da fase mineral e orgânica do colágeno tem relação direta com as propriedades biomecânicas de ossos corticais da diáfise femural do homem, influenciando sua resistência.

2.2.2 Métodos de conservação

Previamente ao uso de enxertos e implantes ósseos, estes necessitam serem conservados e esterilizados. Os meios de conservação utilizados para manter os materiais biológicos devem possuir alto poder estabilizador, impedir a total decomposição dos tecidos e o crescimento de microorganismos, além de preservar a viabilidade do tecido, aumentar a resistência dos mesmos, e atuar por um período de tempo prolongado (ALVARENGA, 1992; MOTA et al., 2002). Segundo Stevenson (1998), os meios e métodos de conservação de ossos corticais visam diminuir a antigenicidade das células do doador a serem implantadas no hospedeiro, além de manter um estoque acessível de osso disponível. Urist (1965) descreveu que o enxerto ósseo conservado não atua como elemento osteogênico, pois o tratamento pode destruir todos os fatores biológicos que estimulam a neoformação óssea, principalmente representados pela proteína morfogênica óssea.

Vários métodos têm sido utilizados para conservação de ossos. Giovani e colaboradores (2006) estudaram ossos conservados em glicerina 98% e congelados a -80°C e verificaram que estes métodos não alteraram a viabilidade de osteoclastos e osteoblastos. Castania e Volpon (2007) após esterilizarem blocos de óssos caninos em óxido de etileno e enxertarem, concluíram que este material apresentou boa atividade biológica, com alta taxa de integração ao leito receptor. Volpon e Costa (2000) compararam ossos corticoesponjosos humano submetidos a tratamento químico e esterilização em óxido de etileno com ossos congelados a -14° C, e relataram que os ossos processados apresentaram integração ao leito receptor, sem sinais de contaminação. Haje e colaboradores (2007) após avaliarem parafusos corticais

produzidos da tíbia de bovinos constataram, por meio de avaliação em microscopia eletrônica de varredura, que os ossos conservados refrigerados a 4°C apresentaram contaminação bacteriana, e que a esterilização em óxido de etileno causou amalgamação das fibras ósseas sem a presença de contaminantes. Também Castiglia e colaboradores (2009) observaram amalgamação das fibras ósseas em ossos corticais de ratas submetidos à esterilização em óxido de etileno, e sugeriram que tal alteração foi decorrente do calor envolvido no processo de esterilização. Tais autores descreveram que a preparação química pré-esterilização aumentou a preservação do conteúdo celular, decorrente da utilização do álcool na fase inicial do procedimento. Além disso, sugeriram que as células ósseas estavam inativas após esse processo de esterilização. Entretanto, segundo Mazzanti e colaboradores (2001) e Guimarães e colaboradores (2007), o meio de conservação não precisa manter a vitalidade celular, pois a eficiência da cirurgia reparadora com material enxertado independe da sobrevivência dos elementos celulares do enxerto, estando mais relacionada com a reação biológica de reparação e regeneração tecidual. Todavia, Wang e colaboradores (2001) relataram que a desnaturação do colágeno orgânico e mineral causada pelo aquecimento, tem influência direta sobre a diminuição da resistência de osso cortical humano, embora tal processo não altere a dureza e força do osso. Rappeti e colaboradores (2007) conservaram costelas de gatos em solução hipersaturada de açúcar por um período mínimo 30 dias, e relataram taxas acima de 70% de incorporação do enxerto ao leito receptor. Também, Alievi e colaboradores (2007) descreveram que ossos corticais caninos conservados em mel apresentaram 79% de incorporação no leito receptor. Ziliotto e colaboradores (2003), após conservarem ossos corticais de cães por um período mínimo de 30 dias em glicerina 98% e aplicarem o material conservado, observaram diminuição da antigenicidade do material implantado, com reabsorção do implante e neoformação óssea. Segundo Brun e colaboradores (2002) e Brun e colaboradores (2004), a solução saturada de sal é um meio conservante, pois possui propriedades antissépticas pela criação de um ambiente de baixa atividade de água, o que inibe o crescimento das bactérias. Além disso, de acordo com esses autores, o iodo contido no sal comercial também pode atuar como um antisséptico. Este meio, de acordo com Brun e colaboradores (2004) e Freitas e colaboradores (2010), pode ser preparado com a adição de 1,5 g de sal comercial a um mililitro (1 mL) de água destilada, sendo posteriormente homogeneizado no liquidificador ou manualmente. Segundo Brun e colaboradores (2002), esta solução é capaz de manter as características estruturais do implante/enxerto nela conservada, sem desencadear

reações do tipo corpo estranho quando implantados. Contudo, Melo Filho (2010), relatou a presença de contaminação em placas ósseas corticais bovinas conservadas por 45 dias nesta solução, após serem reidratadas em solução de cloreto de sódio a 0,9% sem a adição de antibióticos.

2.2.3 Biomecânica óssea

As propriedades mecânicas do osso são influenciadas por fatores como densidade, orientação das fibras colágenas, porosidade, conteúdo mineral (RHO et al., 1998), anisotropia, temperatura, entre outros (DINGEE, 2005). Segundo Ashman (1989), os ossos são compostos pela fase mineral, representada pela hidroxiapatita, pelo colágeno e pela água. Algum tratamento que mude a natureza ou a composição relativa destes componentes pode alterar suas propriedades. Assim, métodos de conservação como secagem, congelamento, liofilização, irradiação gama e reidratação podem alterar suas propriedades mecânicas (DINGEE, 2005). De acordo com Del Carlo e colaboradores (1999), a maioria dos métodos de conservação óssea exerce efeito deletério sobre a resistência mecânica. Amendola (2007) verificou que diáfises femorais caninas conservadas em glicerina e reidratadas em solução de cloreto de sódio 0,9% por seis horas anteriormente à implantação, foram mais resistentes a forças compressivas quando comparada a amostras do mesmo osso à fresco. Também Salbego e Raiser (2006) relataram maior resistência de ossos corticais de cães reidratados em solução de cloreto de sódio 0,9% acrescido de iodopovidine, quando comparados a ossos não reidratados. Já Conrad e colaboradores (1993) e Duarte e Schaeffer (2000) não encontraram diferenças quanto à força de compressão em ossos corticais bovinos liofilizados reidratados ou não em solução de cloreto de sódio 0,9% por 24 horas e 90 minutos, respectivamente. Também, Melo Filho (2010) relatou que não houve diferença nos testes biomecânicos de torção, compressão, flexão e tensão de placas ósseas corticais bovinas conservadas em diferentes meios e reidratadas por seis horas em solução de cloreto de sódio 0,9%. Entretanto, este autor descreveu que a reidratação foi provavelmente responsável pelo bom desempenho desses ossos nos testes de compressão e tração.

Portanto, testes biomecânicos têm sido realizados em ossos, conservados ou não, visando analisar suas características estruturais. Segundo Macedo e colaboradores (1999), a análise da resistência de ossos conservados para a utilização futura como

implante é de extrema importância, já que esse material deve proporcionar adequado suporte estrutural após implantado.

O osso cortical diafisário é um material composto basicamente por hidroxiapatita, uma cerâmica de alta resistência, que lhe confere rigidez. Também possui uma matriz composta basicamente por colágeno, uma proteína responsável por suas propriedades elásticas e plásticas. Sua estrutura não homogênea, a existência de trabeculados ósseos com arquitetura bem definida e a interposição de fluídos, conferem características de anisotropia e de viscoelasticidade (MEARS, 1979). Estas características fazem com que o osso apresente uma resistência adaptada às tensões pontuais, variáveis ao longo do tempo (idade, por exemplo), posição (localização anatômica) e às solicitações externas (frequência e intensidade de forças e nível de atividade) (ASHMAN, 1989; CAMARGO et al., 2002).

Os ensaios mecânicos utilizados frequentemente para determinação das propriedades mecânicas de osso cortical são de tração, compressão, flexão em três ou quatro pontos, torção, cisalhamento puro, fadiga e micro ou nano penetração (DINGEE, 2005). O ensaio de compressão é comumente usado para testar as propriedades dos ossos corticais e esponjosos, porém a falta de acurácia axial pode ocorrer se o corpo de prova não for preparado de forma simétrica, com suas bases paralelas (GIBSON et al., 2008). Como descrito por Davis e colaboradores (1982), o ensaio de compressão é o oposto ao de tração, quando se avalia a direção ou o sentido da aplicação da tensão. Deve-se realizar uma centralização adequada na máquina de ensaio do corpo de prova, para que ocorra uma distribuição de tensão homogênea, evitando a flambagem do corpo de prova, comum em corpos de prova finos. De acordo Henderson e Milton (1978), o teste de compressão tibial é utilizado para se avaliar a força de sustentação de peso do animal sobre seus membros, gerando assim uma força de cisalhamento (ou tíbiofemoral) sobre a tíbia. Assim, este teste é indicado para se avaliar a integridade do ligamento cruzado cranial (LCCr) e conseqüentemente a estabilidade articular, já que o LCCr impede a translação cranioproximal da tíbia (KORVICK et al., 1994). Slocum e Devine (1983) descreveram que a força de cisalhamento cranioproximal, originada pela força tibial cranial (*cranial tibial thrust* - CTT) é dependente do grau da inclinação caudodistal do platô tibial, ângulo este formado entre a inclinação do côndilo tibial medial e eixo longitudinal da tíbia. Em cães sem alteração articular do joelho, este varia de 18 a 24° (MORRIS e LIPOWITZ, 2001; WILKE et al., 2002). Contudo, teorias biomecânicas recentes descrevem que as cargas tíbiais não estão dispostas ao longo do seu eixo. Assim, Tepic

(2002) sugeriu que as forças totais da articulação tibiofemoral *in vivo* são paralelas ao tendão patelar. Neste modelo, a CTT é dependente do ângulo formado entre o platô tibial e o tendão patelar (DENNLER et al., 2006).

3. CAPÍTULO 1

MEMBRANAS BIOLÓGICAS PARA USO EM CIRURGIAS RECONSTRUTIVAS

Artigo submetido à publicação no periódico Revista Brasileira de Saúde e Produção
Animal, sob protocolo 1921/2010

Membranas biológicas para uso em cirurgias reconstrutivas
Biological membranes for use in reconstructive surgeries

MIRANDA, Fernando Borges¹; FREITAS, Patricia Maria Coletto ²; EURIDES, Duvaldo³

1. Aluno do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (Mestrado). Bolsista CAPES. Universidade Federal do Espírito Santo/ UFES.

2. Professor Adjunto. Universidade Federal de Minas Gerais/ UFMG. Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/ UFES. Autor para correspondência: pcoletto@yahoo.com.br.

3. Professor Titular. Universidade Federal de Uberlândia/ UFU.

RESUMO

Os tecidos e órgãos do corpo estão sujeitos a doenças e lesões, que, se não tratadas, podem levar à dor, restrição dos movimentos e perda da função. Em muitos casos, o tratamento envolve a remoção do tecido ou órgão afetado e sua substituição por um enxerto de tecido vivo ou um análogo artificial. Para tal, podem-se empregar membranas biológicas, pois estas são de fácil obtenção, baixo custo, preparo simples, esterilização viável, fácil de estocagem, pouca e/ou nenhuma reação tecidual. As principais funções dessas membranas são fornecer arcabouço para a orientação e para o desenvolvimento de novos tecidos. Entretanto, busca-se ainda um método ideal para sua conservação. Essas soluções e processos devem possuir alto poder estabilizador, além de preservar ao máximo a integridade celular, aumentar a resistência e atuar por um período de tempo prolongado. Portanto, objetivou-se com esta revisão relatar as membranas mais comumente utilizadas em cirurgias reparadoras, bem como revisar os meios de conservação desses tecidos.

Palavras-chave: enxerto, implante, meios de conservação, animais.

ABSTRACT

Body's tissues and organs are exposed to illness and injuries, which if not treated can lead to pain, movement limitation and loss of function. In many cases treatment involves removal of the affected tissue or organ, and its replacement for a live tissue graft or an artificial analogous. For that purpose, biological membranes, as being easy to acquire, having low cost, simple preparation, viable sterilization, easily stockable, and leading to little and/or no tissue reaction, would be employed. The main function of these membranes is to provide flyover for the orientation and development of new tissues. However, the ideal method for their preservation is still being searched. Such solutions and preservation methods must have a highly stabiling force, besides preserving cellular integrity at best, increasing resistance and acting for a long period of time. Therefore, it was aimed with this review to report the mainly used membranes for reconstructive surgeries, as well as review the preservation solutions of theses tissues.

Key words: graft, implant, preservation solutions, animals.

INTRODUÇÃO

Os tecidos e órgãos do corpo estão sujeitos a lesões, que, se não tratadas, podem levar à dor, restrição dos movimentos e perda da sua função. Em algumas situações, o tratamento dessas lesões envolve a remoção do tecido lesado e sua substituição por um biomaterial (Williams, 1985). Segundo Williams (1999), o termo biomaterial refere-se a um material natural ou sintético destinado a interagir com sistemas biológicos para tratar, aumentar ou substituir um tecido. Nesse sentido, a membrana biológica vem sendo utilizada como biomaterial, pois possui baixo custo, preparo simples, esterilização viável, facilidade na estocagem, pouca e/ou nenhuma reação tecidual e facilidade em sua obtenção. Além disso, quando implantadas devem fornecer arcabouço para a orientação e para o desenvolvimento de novos tecidos (Batista et al., 1996).

A procura do método ideal para conservação desses materiais biológicos vem sendo constante, devido ao crescente uso dos transplantes homólogos e heterólogos em cirurgia restauradora (Leite et al., 1979). Além disso, segundo Rodgers et al. (1981), o emprego de membranas biológicas conservadas por longos períodos possui vantagens como a possibilidade de serem moldados de acordo com o tamanho da lesão.

Objetivou-se com esse estudo revisar os tipos de membranas biológicas mais comumente utilizadas em cirurgias reparadoras, bem como os processos de conservação desses tecidos.

MEMBRANAS BIOLÓGICAS

PERITÔNIO

O peritônio é uma camada fina de túnica serosa. Anatomicamente reveste a cavidade abdominal, a cavidade pélvica em partes, e as vísceras. Sua superfície livre tem aparência brilhante e lisa, composta de camadas de células mesoepiteliais planas e umedecida pelo líquido peritoneal. Já sua superfície externa é composta de tecido subseroso, e se insere na parede abdominal e nas vísceras. Além disso, forma as pregas (omentos, ligamentos, mesentério, mesocólon, mesoduodeno, mesorreto, entre outros), com quantidades variáveis de tecido conjuntivo, tecido adiposo, nodos linfáticos, músculo liso e tecido fibroso (Sisson, 1986).

Como citado por Lopes & Silva (2005), a coleta e utilização a fresco da membrana pode ser realizada por celiotomia mediana, retirando-se tecido constituído por fáscia e peritônio, e também fáscia, peritônio e parte do músculo reto do abdome.

O peritônio já foi utilizado para o reparo de hérnia perineal (Daleck et al., 1992), substituição de retalho diafragmático (Daleck et al., 1988) e na tenoplastia do tendão calcâneo comum (Costa Neto et al., 1999; Freitas et al., 2006) (Figura 1). Quando utilizada como enxerto, essa membrana forneceu suporte para o crescimento de tecido novo adjacente ao local implantado, sendo reabsorvido parcialmente, exercendo papel de arcabouço, sem sinais de rejeição (Daleck et al., 1992; Costa Neto et al., 1999).

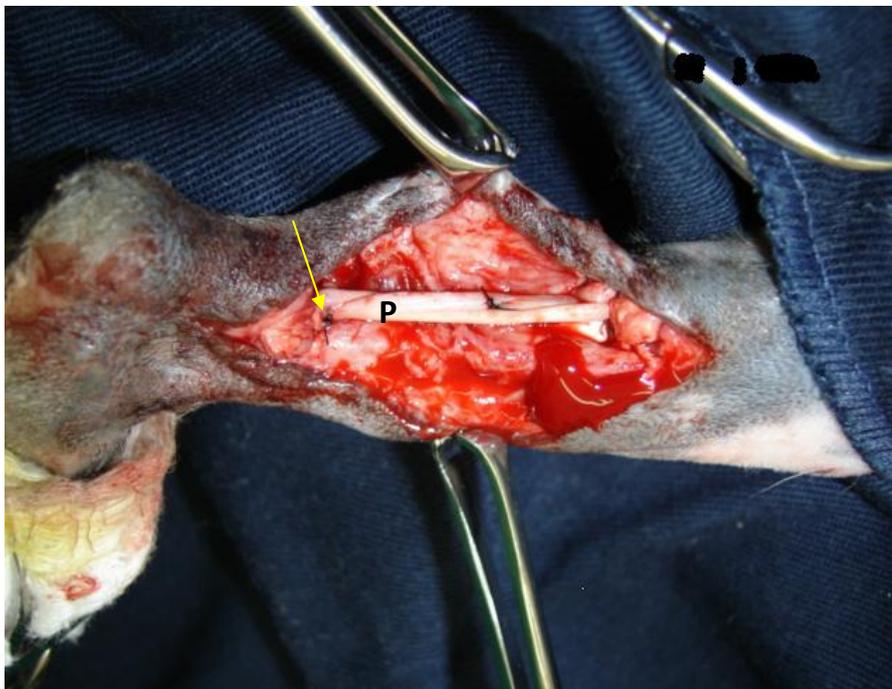


Figura 1. Tenoplastia do tendão calcanear comum de coelho. Observe o peritônio bovino (P) fixado por meio de sutura ao tendão calcanear comum (seta).

PERICÁRDIO

O pericárdio é um saco fibroso que envolve o coração e assume uma forma semelhante à do órgão em seu interior. É composto de uma lâmina fibrosa (*pericardium fibrosum*), que é uma camada fina, forte e inelástica; e de uma lâmina serosa (*pericardium serosum*), que é um saco fechado, circundado pelo pericárdio fibroso, invaginado pelo coração, e que contém um líquido seroso claro, composta de tecido conjuntivo membranoso, rico em fibras elásticas e recoberta por camadas de células mesoteliais. Esta última lâmina também é dividida em camada parietal que reveste a lâmina fibrosa a qual está ligada, e camada visceral que reveste o coração (Getty, 1986).

Para ser utilizada como enxerto, a membrana deve ser coletada por dissecação cirúrgica, dependendo das necessidades envolvidas no procedimento. Segundo Brun et al. (2002), sua colheita pode ser realizada de forma séptica e asséptica.

Essa membrana já foi amplamente utilizada para reconstrução tecidual como no reparo da parede abdominal de ratos (Brun et al., 2002), hernioplastias diafragmáticas em cães (Mazzanti et al., 2003) e como curativo biológico em cães (Aceto et al., 2007).

Segundo Brun et al. (2002), após enxertado o pericárdio serviu como arcabouço para crescimento de tecido vivo. Além disso, de acordo com Aceto et al. (2007), agiu como acelerador da reepitelização e da regeneração cicatricial.

TENDÃO

O tendão é uma fita densa de tecido conjuntivo fibroso que age como intermediário na inserção do músculo ao osso. Como reflexo das exigências mecânicas desta estrutura, os tendões são compostos de tecido conjuntivo denso e regular em um arranjo específico (Aron, 1996). Os constituintes principais dessa membrana são feixes paralelos, espessos e bem compactos de colágeno orientado longitudinalmente. A unidade básica da estrutura tendínea, o feixe tendíneo primário, pode ser definido como feixes conexos de fibrilas colagenosas localizadas entre fileiras de fibroblastos e envolvidas por seus processos anastomóticos. As fibrilas colagenosas no interior de um feixe primário estão dispostas de maneira paralela, mas tem um curso helicoidal ao longo do comprimento do tendão (Evans & De Lahunta, 1994). O tendão recebe irrigação sanguínea da junção miotendínea e óssea. Somente 25% da irrigação tendínea é de origem muscular ou óssea, tanto distal como proximal ao tendão. O paratendão, bem como o mesotendão, associados às bainhas tendíneas, contribuem de maneira significativa com a irrigação sanguínea (McIlwraith, 1994).

Os tendões utilizados para enxerto ou implante são coletados através de dissecação e exereses cirúrgica, tendo sido utilizados os tendões flexores dos dedos e tendão calcâneo comum (Magnaghi et al., 1994), tendão do músculo flexor superficial dos dedos (Eurides et al., 2007), sendo posteriormente à coleta, utilizados imediatamente ou conservados. A utilização do tendão já foi relatada na reconstrução do tendão calcâneo comum em coelhos (Magnaghi et al., 1994) e no reparo de desvio peniano em bovinos (Eurides et al., 2007). Após enxertado, essa membrana pode sofrer integração ao leito receptor (Magnaghi et al., 1994), ou segundo Eurides et al. (2007) ser reabsorvido, mantendo a função de arcabouço durante o processo de reparação.

CARTILAGEM

A cartilagem é uma forma de tecido conjuntivo, podendo se apresentar na forma de cartilagem hialina, elástica e fibrosa. A cartilagem hialina está presente em grandes partes do esqueleto vertebrado em desenvolvimento, discos epifisários, cartilagem articular, traquéia e brônquios. É formada por matriz interterritorial e territorial, com condrócitos

confinados na matriz, a qual é revestida por pericôndrio. Este é internamente constituído de uma camada condrogênica e externamente de tecido conjuntivo irregular denso. A cartilagem elástica apresenta estrutura semelhante, mas com presença de grande quantidade de fibras elásticas incrustadas. É encontrada na epiglote, laringe e pavilhões auriculares. Já a cartilagem fibrosa é formada de tecido conjuntivo denso, com agrupamentos lineares de condrócitos incrustados em pouca matriz. Está presente nos discos intervertebrais, esqueleto cardíaco e alguns tendões, próximo à inserção óssea (Bacha Jr. & Bacha, 2003).

Para ser utilizada em enxertia, a cartilagem é coletada de acordo com o tipo de tecido a ser enxertado, dependendo das características desejáveis do tecido, podendo ser retirada da traquéia e pavilhão auricular externo (Contesini et al., 2004; Baungarten et al., 2007).

A cartilagem como membrana biológica foi descrita para reparo da artéria femoral de cães com traquéia de galo doméstico (Contesini et al., 2004), na blefaroplastia em coelhos com cartilagem auricular (Baungarten et al., 2007) (Figura 2), e na reconstrução da parede torácica de coelhos (Freitas, 2003). As reações observadas entre tecido nativo e esse material após o reparo foram classificadas como de integração tecidual por Contesini et al. (2004) e reepitelizante por Baungarten et al. (2007).

LÁTEX

O látex é constituído por uma cadeia de poliisoprenóis, encontrados nos tecidos dos animais superiores, na forma de cadeias maiores, tais como esqualeno, ubiquinona e dolico, altamente purificada de proteínas (Sader et al., 2000). A polilisina encontrada na sua constituição é um polication que aumenta a permeabilidade e o fluxo microvascular, permitindo melhor aderência protéica e celular, estimulando os agentes celulares envolvidos na cicatrização. As proteínas alérgicas são diminuídas por um processo de centrifugação após a coleta do látex, o que a torna um material inócuo e com menores chances de rejeição quando utilizado em órgãos e tecidos (Quege, 2005 – comunicação pessoal). Este polímero se apresenta como uma membrana fina, elástica, translúcida e de fácil manuseio. Após estudo com esta biomembrana, Mrué (1996) descreveu que esta apresenta propriedades biológicas, tais como atividade neoangiogênica, promoção de adesão celular e formação de matriz extracelular; além de ser de origem vegetal, não apresentando o potencial de transmissão de doenças infecciosas como outras membranas (Pinho et al., 2004).

A membrana de látex já foi utilizada como substituta parcial do pericárdio de cães (Sader et al., 2000) e para reparação da conjuntiva de coelhos (Pinho et al., 2004). Segundo Sader et al. (2000), após a utilização desta membrana em pericárdio não observou-se aderência desta a vísceras adjacente. Além disso, descreveram que esta atuou como arcabouço para o crescimento do tecido e manteve suas propriedades elásticas. Também de acordo Pinho et al. (2004), este biomaterial favoreceu a cicatrização e a neoangiogênese.



Figura 2. Blefaroplastia em coelho. Observe a cartilagem auricular (seta) fixada a pálpebra inferior do coelho.

MEIOS DE CONSERVAÇÃO

GLICERINA

Trata-se de um álcool triídrico que apresenta acentuada hidrofília devido à sua polaridade (Leite et al., 1979). Ao tornar-se livre, é capaz de atrair átomos de hidrogênio das moléculas vizinhas sem, contudo, promover uma reação química, preservando assim a arquitetura dos tecidos nela conservados. Entretanto, tanto a glicerina quanto a água, moléculas polares, apresentam o fenômeno físico-químico de atração mútua. Este fato promove a condensação do volume caracterizando uma ação desidratante, que consiste em redução de volume exercido pela glicerina nas amostras que nela forem conservadas. Esta propriedade é fundamental para explicar tanto a ocorrência da delaminação, ou seja, do deslocamento das camadas de colágeno, quanto ao evento da retração dos núcleos (Pigossi et al., 1971). Ela apresenta como vantagens baixo custo e propriedade antisséptica (Alvarenga, 1992), preservar a textura do tecido (Pigossi, 1967), além de reduzir a antigenicidade (Pigossi, 1967; Ziliotto et al., 2003), aumentar a resistência à tração, sem alterar o grau de elasticidade (Pigossi, 1967).

Para conservação, após a colheita de membranas, estas devem ser devidamente lavadas em água corrente para retirada de resíduos. Após o acondicionamento do material em frascos contendo a solução de glicerina, este é mantido à temperatura ambiente, como descrito por Ziliotto et al. (2003) e Aceto et al. (2007). A proporção “glicerina/membrana” utilizada pode ser de 20:1, ou até que o material fique coberto pela solução (Oliveira & Alvarenga, 1998). Para não estimularem reação imunológica, estas membranas devem permanecer conservadas por um período mínimo de 30 dias em glicerina (Daleck et al., 1992). Alguns dos relatos acerca do tempo de conservação do material na solução descritos na referência decorrem de sete dias (Melo, 1997) até nove anos (Gioso et al., 2002). Antes de serem utilizadas, as membranas conservadas nesta solução devem ser reidratadas, utilizando para tal solução de cloreto de sódio a 0,9%, de cinco minutos até 30 minutos, dependendo do tecido a ser hidratado (Oliveira & Alvarenga, 1998). Ainda há a possibilidade de se acrescentar outras substâncias à solução de cloreto de sódio a 0,9%, como antibióticos e antissépticos (Contesini et al., 2004).

Diversas membranas foram conservadas neste meio, como peritônio (Costa Neto et al., 1999), cápsula esplênica (Eurides et al., 2006), tendões (Raiser, 2000), traquéia (Contesini et al., 2004) e cartilagem auricular (Freitas, 2003).

AÇÚCAR

O açúcar comum ou sacarose de cana-de-açúcar possui propriedades cicatrizantes, por participar no desenvolvimento e maturação precoce de tecido de granulação e favorecimento rápido da regeneração epitelial (Prata et al., 1988). Além disso, quando em concentrações acima de 250% (Costa Neto et al., 1997), possui poder antimicrobiano sobre alguns tipos de bactérias (Raiser & Badke, 1987; Costa Neto et al., 1997). Isto se deve à sua hiperosmolaridade, tornando assim este meio inadequado para o crescimento e sobrevivência bacterianas, além de seu poder higroscópico, que contribui para a redução do edema (Weiss et al., 1984) e desidratante de membranas biológicas (Mazzanti et al., 2001).

Como meio conservante, o açúcar é utilizado em concentração de 300%, sendo adicionados 100 mililitros de água destilada à 300 gramas de açúcar cristalizado, homogeneizando a mistura e gerando uma concentração de 3:1 (Mazzanti et al., 2001). A membrana para ser conservada neste meio deve ser coletada de forma asséptica, realizando posteriormente a lavagem da membrana em água corrente, posterior imersão em solução de cloreto de sódio a 0,9%, e alocado em frasco estéril com a solução. Após as 48 horas de armazenamento, a membrana biológica deve ser retirada deste meio e colocada novamente em uma outra solução hipersaturada de açúcar. Neste meio, o biomaterial deve ficar imerso por um período superior a 30 dias. Antes de se utilizar o material conservado, este deve ser lavado com de solução de cloreto de sódio a 0,9%, e posteriormente imerso em cuba estéril contendo na mesma solução para hidratação (Mazzanti et al., 2001), ou solução ringer acrescida de polivinilpirrolidona iodo em proporção 50:1, 24 horas antes do seu uso (Rappeti et al., 2007).

Membranas como o músculo diafragma canino (Mazzanti, 1999), pericárdio bovino (Mazzanti et al., 2003) e costela de gatos (Rappeti et al., 2007) já foram conservados neste meio, o qual manteve as características teciduais da membrana conservada.

SAL

A solução saturada de sal possui propriedades anti-sépticas, pela criação de um ambiente de baixa atividade de água, o que inibe o crescimento das bactérias. Segundo Brun et al. (2004), esse meio também pode promover a conservação de membranas biológicas devido à presença de iodo no sal comercial, além de poder possuir função antiimunogênica.

A solução saturada de sal é preparada com a adição de 1,5 gramas de sal comercial a um mililitro de água destilada ou tridestilada, sendo posteriormente homogeneizado no liquidificador ou manualmente. Antes de ser utilizado, o biomaterial deve ser lavado e hidratado em solução de cloreto de sódio a 0,9% por 15 minutos (Brun et al., 2004), ou 30 minutos com a mesma solução acrescida de antibiótico enrofloxacina (Freitas et al., 2006; Baungarten et al., 2007) (Figura 3). A membrana biológica coletada de forma não asséptica e alocada nessa solução foi conservada por 90 dias sem apresentar sinais de contaminação (Brun et al., 2004).

Esta solução foi utilizada para conservação de pericárdio canino (Brun et al., 2002), peritônio bovino (Freitas et al., 2010) (Figura 4A) e cartilagem auricular de coelhos (Baungarten et al., 2007) (Figura 4B). Segundo Brun et al. (2002), a solução de sal foi capaz de manter as características estruturais do implante/enxerto nela conservada, com integração desse material ao leito receptor (Baungarten et al., 2007).



Figura 3. Peritônio bovino (seta) sendo reidratado com solução de cloreto de sódio a 0,9% acrescida de enrofloxacina.

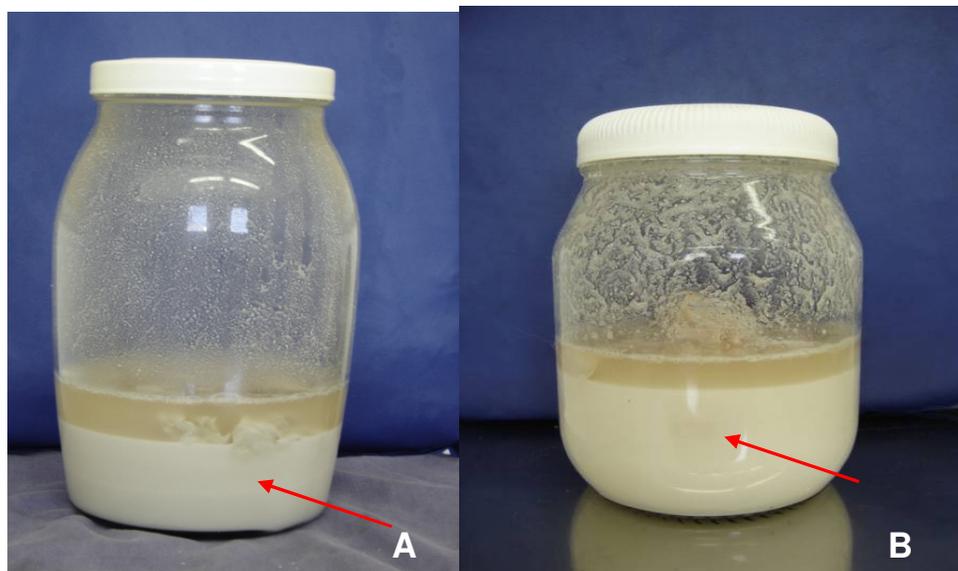


Figura 4 (AB). Frasco contendo solução saturada de sal. A. Observe peritônio bovino (seta) mergulhado no meio conservante. B. Observe cartilagem auricular mergulhada (seta) no meio conservante.

COMENTÁRIOS

As membranas biológicas são uma ferramenta de valor no campo da cirurgia reparadora. Além das vantagens de fácil obtenção, manuseio e conservação, podem ser consideradas como uma escolha a mais no tratamento de defeitos, onde o tecido natural está vastamente comprometido ou ausente. O processo de incorporação ou integração desses materiais sem reações de rejeição aceleram processo de reparação tecidual e fornecem ao organismo um apoio durante a restauração.

Os meios de conservação são capazes de manter as membranas viáveis por períodos de tempo variáveis, excluindo a necessidade e a limitação do uso imediato pós-coleta. Entretanto, a busca pela membrana e meio de conservação ideais trás à referência alguma discordância entre os autores, embora todos concordaram no sentido dessas membranas biológicas serem uma opção na campo da cirurgia reparadora.

Espera-se que com a disseminação da informação, mais cirurgiões possam se familiarizar com este recurso, utilizando-se das membranas biológicas e meios de conservação como um arsenal de fácil obtenção, manutenção e de resultados satisfatórios, a um custo reduzido.

REFERÊNCIAS

- ACETO, M. L.; COELHO, M. C. O. C.; MONTEIRO, V. L. C.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; MELO-JÚNIOR, M. M. Membrana amniótica e pericárdio canino como curativos biológicos na preparação do leito receptor para enxertia cutânea autógena. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 358-362, 2007.
- ALVARENGA, J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. IN: DALECK, C. R.; BAPTISTA, L. C.; MUKAI, L. S. **Tópicos em cirurgia de cães e gatos**. Jaboticabal: FUNEP-UNESP, 1992. p. 33-42.
- ARON, D. N. **Técnicas de reparo de tendões**. In: BOJRAB, M.J. Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais. 3.ed., São Paulo:Roca, 1996. cap.40, p.516-527.
- BACHA JR, W. J.; BACHA, L. M. **Cartilagem**. IN: BACHA JR, W. J.; BACHA, L. M. Atlas Colorido de Histologia Veterinária. 2. ed., São Paulo: Roca, 2003. cap.4., p. 27-30.
- BATISTA, L. C.; DALECK, C. R.; SHIMANO, A. C.; ALESSI, A. C.; ABRAHÃO, M. S. Estudo comparativo da resistência à tração do peritônio (bovino, eqüino, suíno e canino) a fresco e conservado em glicerina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 33, p. 305-312, 1996.

BAUNGARTEN, L. B.; FREITAS, P. M. C.; EURIDES, D.; SALGADO, A. E. P.; NUNES, L. C.; BELETTI, M. E. Blefaroplastia em coelhos por meio de cartilagem auricular alógena conservada em solução saturada de NaCl. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 59, n. 5, p. 1219-1223, 2007.

BRUN, M. V.; PIPPI, N. L.; DRIEMEIER, D.; CONTESINI, E. A.; BECK, C. A. C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S. T. L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R. Solução hipersaturada de sal como conservante de pericárdio canino utilizado na reparação do músculo reto abdominal de ratos Wistar. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 1019-1025, 2002.

BRUN, M. V.; PIPPI, N. L.; DRIEMEIER, D.; CONTESINI, E. A.; BECK, C. A. C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S. T. L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R.; SILVA, T. F. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 147-153, 2004.

CONTESINI, E. A.; PIPPI, N. L.; BECK, C. A. C.; BRUN, M. V.; GODOY, C. L. B.; GRAÇA, D. M.; SILVA FILHO, A. P. F.; BONFADA, A. T.; STEDILE, R.; COLOMÉ, L. M.; GOMES, K.; BRAGA, F. V. A. Implante de traquéia de *Gallus domesticus* *Gallus domesticus* na microanastomose arterial em case. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 32, n. 2, p. 89-95, 2004.

COSTA NETO, J. M.; DALECK, C. R.; ALESSI, A. C.; BRAECIALLI, C. S. Tenoplastia experimental do calcâneo em cães com peritônio bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, v. 29, n. 4, p.697-703, 1999.

COSTA NETO, A. A. C.; PAES, J. L. L.; CARVALHO, R. G.; et al. Concentração bactericida do açúcar em culturas de *Escherichia coli*. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**, v. 24, p. 151-154, 1997.

DALECK, C. R.; DALECK, C. L. M.; PADILHA FILHO, J. G.; COSTA NETO, J. M. Reparação de hérnia perineal em cães com peritônio de bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, v. 22, n. 2, p.179-183, 1992.

EURIDES, D.; DALECK, C. R.; SILVA, M.; SILVA, L. A. F.; GONÇALVES, G. F.; PRIETO, L. A.; BORREZZI, C. Utilização da cápsula esplênica de bovino na ceratoplastia lamelar em coelhos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia Unipar**, v.9, n. 2, p. 117-121, 2006.

EURIDES, D.; BENTO, L. R. T.; SILVA, L. A. F.; DALECK, C. R. Implante de tendão autógeno do músculo flexor superficial dos dedos no reparo de desvio do pênis de

bovines. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 44, n. 6, p. 415-421, 2007

EVANS, H.E ; DE LAHUNTA, A. **Miller guia para dissecação do cão**. 3. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 206p.

FREITAS, P.M.C. **Reparo da parede torácica de coelhos com cartilagem auricular de cães e pedículos dos músculos grande dorsal e serrátil ventral**. Uberlândia, 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Uberlândia, 2003. 56p.

FREITAS, P. M. C.; DALECK, C. R.; MELO, M. S.; EURIDES, D.; MARTINS FILHO, F.; BAUNGARTEN, L. B. Eletroacupuntura aplicada nas fases precoce e tardia da cicatrização do tendão calcâneo comum de coelhos após reparo tardio com peritônio bovino conservado em solução supersaturada de sal: aspectos clínicos. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1830-1836, 2006.

FREITAS, P.M.C.; DALECK, C.R.; NUNES, L.C.; EURIDES, D.; BELETTI, M.E.; MELO, M.S. Eletroacupuntura no reparo do tendão calcâneo comum em coelhos após enxertia com peritônio bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p. 324-331, 2010.

GETTY, R. **Generalidades sobre o coração e os vasos sanguíneos**. IN: SISSON, S.; GROSSMAN, J.D.; GETTY, R. Sisson/Grossman Anatomia dos Animais Domésticos Getty, 5.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 153-162p.

GIOSO, M. A.; BENITES, N. R.; KAMPF, G. Análise microbiológica de ossos de cães conservados por longo período de tempo na glicerina a 98% à temperatura ambiente, objetivando a enxertia óssea. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 242-246, 2002.

LEITE, J. B. F.; MARQUES, A. F.; GOMES, O. M.; PIGOSSI, N. A glicerina e a preservação de tecidos. **Revista Paulista de Medicina**, v. 93, n. 3-4, p. 81-84, 1979.

LOPES, F.B.; SILVA, A.L. Enxerto autólogo de peritônio-fáscia-músculo, no canal inguinal de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 1 p. 88-92, 2005.

MAGNAGHI, A.; MATTAR JR., R.; AZZE, R. J.; OLIVEIRA, N. R. B.; CANEDO, A.; RESENDE, M. U.; PRADO, J. A. Estudo experimental sobre as propriedades histológicas dos enxertos de tendões liofilizados. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 29, p. 205-10, 1994.

MAZZANTI, A.; PIPPI, N. L.; RAISER, A. G.; GRAÇA, D. L.; FARIA, R. X.; OLIVEIRA, L. O.; GUIMARÃES, L. D. Reparação do diafragma de cães com segmento muscular

homólogo ortotópico conservado em solução supersaturada de açúcar. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 1, p. 21-26, 2001.

MAZZANTI, A.; RAISER, A. G.; PIPPI, N. L.; ALVES, A. S.; FARIA, R. X.; ALIEVI, M. M.; BRAGA, F. A.; SALBEGO, F. Z. Hernioplastia diafragmática em cão com pericárdio bovino conservado em solução supersaturada de açúcar. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 55, n. 6, p. 677-684, 2003.

McILWRAITH, W. **Doenças das articulações, tendões, ligamentos e estruturas relacionadas**. IN: STASHAK, T. S. Claudicação em equinos segundo Adams. 4 ed, São Paulo: Roca, 1994. 465-478p.

MRUÉ, F. **Substituição do esôfago cervical por prótese biosintética de látex. Estudo experimental em cães**. Ribeirão Preto: 1996. 86f. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. 1996.

OLIVEIRA, A.O.; ALVARENGA, J. Membrana amniótica preservada em glicerina no reparo de feridas cutâneas de membros locomotores de eqüinos. **Ciência Rural**, v. 28, n.4, p.623-628, 1998.

PIGOSSI, N. **A glicerina na conservação de dura-máter: estudo experimental**. 83 f. Tese (Livre Docência). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 1967.

PIGOSSI, N.; RAI, A.; LEX, A.; GAMA, A. H.; SIMONSEN, O.; HADDAD, J.; STOLF, N.; ZERBINI, E. J.; MINITI, A.; TENUTO, R. Estudo experimental e clínico sobre o emprego como implante da dura-máter homogênea conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 17, n. 8, p. 263-278, 1971.

PINHO, E. C. C. M.; FARIA E SOUSA, S. J.; SCHAUD, F.; LACHAT, J. J.; COUTINHO-NETTO, J. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 67, n. 1, p. 27-32, 2004.

PRATA, M. B.; HADDAD, C. M.; GOLDENBERG, S. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea. Estudo experimental em rato. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 3, n. 2, p. 43-48, 1988.

RAISER, A. G.; BADKE, M. R. Terapia de infecções cirúrgicas com jatos de solução salina e açúcar granulado. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, v. 9, n. 6, p. 125-128, 1987.

RAISER, A.G. **Homoimplante ortotópico de tendão cacâneo comum, preservado em glicerina a 98%, e tratado com radiação laser arseneto de gálio em cães**. 80f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2000.

RAPPETI, J. C. S.; PIPPI, N. L.; BRAGA, F. V. A.; SOUZA, G. S.; D'AVILA COELHO, G.; PIGATTO, G. M.; NOVOSAD, D.; HECKLER, M. C. T.; KROLIKOWSKI, G.; AMÊNDOLA, G.; GODOY, C.; CARDONA, R. O. C. Homoimplante de costela conservada em solução supersaturada de açúcar a 300% ou em açúcar in natura na reconstituição experimental de costelas em gatos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1712-1718, 2007.

RODGERS, B. M.; MAHER, J. W.; TALBERT, J. L. The use of preserved human dura for closure of abdominal wall and diaphragmatic defects. **Annals Surgery**, v. 193, n. 5, p. 606-611, 1981.

SADER, S. L.; COUTINHO NETTO, J.; BARBIERI NETO, J., MAZZETTO, S. A.; ALVES JR., P.; VANNI, J. C.; SADER, A. A. Substituição parcial do pericárdio de cães por membrana de látex natural. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 15, n. 4, p. 338-344, 2000.

SISSON, S. **Esplancnologia Geral**. IN: SISSON, S.; GROSSMAN, J.D.; GETTY, R. Sisson/Grossman Anatomia dos Animais Domésticos Getty. 5.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 94-99p.

WEISS, R. G.; NECTOUX FILHO, J. L.; FALLEIRO, R. P. T. et al. Tratamento da ferida operatória infectada: açúcar, uma nova opção. **Revista AMRIGS**, v. 28, p. 337-342, 1984.

WILLIAMS, D.F. **Biocompatibility of tissue analogs**. Boca Raton: CRC Press, 1985. 166p.

WILLIAMS, D.F. **Dictionary of biomaterials**. Liverpool: Liverpool University Press, 1999. 42p.

ZILLOTTO, L.; FANTINATTI, A. P.; DALECK, C. R.; PADILHA FILHO, J. G.; SOUZA, A. P.; DINIZ, P. P. V. P. Utilização de implante ósseo cortical alógeno conservado em glicerina para preservação de membro torácico: estudo experimental em cães. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 107-114, 2003.

4 CAPÍTULO 2

PLACA ÓSSEA BOVINA NA FIXAÇÃO *EX VIVO* DO AVANÇO DA TUBEROSIDADE TIBIAL EM CÃES: AVALIAÇÃO MECÂNICA, MICROSCÓPICA E MICROBIOLÓGICA

PLACA ÓSSEA BOVINA NA FIXAÇÃO *EX VIVO* DO AVANÇO DA TUBEROSIDADE TIBIAL EM CÃES: AVALIAÇÃO MECÂNICA, MICROSCÓPICA E MICROBIOLÓGICA

BOVINE CORTICAL BONE PLATE IN *EX VIVO* FIXATION OF THE TIBIAL TUBEROSITY
ADVANCEMENT IN DOGS: MECHANICAL, MICROSCOPIC AND MICROBIOLOGIC
EVALUATION

Fernando Borges Miranda – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (PPGCV/CCA-UFES).

Edson Vilela de Melo Filho – PPGCV/CCA-UFES

Ana Elisa Pato Salgado - PPGCV/CCA-UFES

Marilda Onghero Taffarel– PPGCV/CCA-UFES

Jamili Maria Suhel Mussi – Curso de Medicina Veterinária / CCA-UFES

Marcelo Emílio Beletti – Prof. Adjunto. Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Marcos Massao Shimano - Laboratório de Pesquisa em Materiais da Universidade de Uberaba (UNIUBE)

Duvaldo Eurides – Prof. Titular. FAMEV/UFU

Patricia Maria Coletto Freitas – Profa. Adjunto. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias. UFMG. Docente do PPGCV/UFES. [Escola de Veterinária- DCCV –](#)

[Av: Antônio Carlos, n. 6627 - Caixa Postal 567 - Bairro Pampulha. Cep: 31.270-901 - Belo Horizonte - \(31\) 34092229 , Fax: \(31\) 34092230 - pcoletto@yahoo.com.br](#)

RESUMO

Objetivou-se avaliar placas de osso bovino conservadas em solução saturada de sal, com ou sem tratamento químico, como estabilizador articular após desmotomia do ligamento cruzado cranial (LCCr) em cães *ex vivo*, sob os aspectos mecânicos, microbiológicos e microscópicos. Para tal, 34 placas foram usinadas e distribuídas em dois grupos: G_S (n=17) - foram conservadas em solução saturada de sal a 150% por 45 dias; G_{PS} (n=17) - foram submetidas a tratamento químico anteriormente à conservação. Após, realizou-se desmotomia do LCCr, osteotomia da tuberosidade da tíbia, e avanço e fixação desta com as placas ósseas. Para a avaliação mecânica, realizou-se o ensaio de compressão nos espécimes (tíbia + placa). Observou-se presença de microorganismo nas placas do G_S.

No G_{PS} verificou-se desnaturação do colágeno ósseo. Em ambos os grupos, as forças máximas suportadas excederam as forças fisiológicas estimadas para 110% do peso dos animais. Conclui-se que a solução saturada de sal promove lise nuclear sem afetar a disposição das fibras ósseas, sugerindo diminuição da antigenicidade de osso cortical bovino; o processamento químico é um método eficiente de esterilização de material cortical ósseo; e a placa óssea como estabilizador articular suporta a força vertical máxima de compressão calculada para 110% do peso vivo sobre a tuberosidade da tíbia após seu avanço.

Palavras-chave: enxerto, osso, RLCCr, biomecânica.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate bovine cortical bone plates preserved in over-saturated salt solution associated or not with chemical treatment, as a joint stabilization method after desmotomy of the cranial cruciate ligament (CrCL) in dogs *ex vivo*, as for mechanics, microbiologic and microscopic aspects. For this proposal, 34 bone plates were manufactured and distributed in two groups: GS (n=17) – preserved in 150% over-saturated salt solution for 45 days; GPS (n=17) – underwent to chemical treatment before preservation. Later, the CrCL desmotomy, tibial tuberosity osteotomy and advancement and fixation of the tuberosity with the bone plates were performed. Then, compression tests of the specimens (tibia + bone plates) were performed for mechanical evaluation. Contamination was observed in group G_S. It was observed collagen denaturation in G_{PS}. In both groups the maximum supported force exceeded the physiologic load estimated in 110% of the living weight. We concluded that over-saturated salt solution may reduce cortical bone antigenicity; the chemical treatment is an effective sterilization method of cortical bone; and the bone plates as a joint stabilization method supports compressive forces applied on tibial tuberosity after its advancement.

Palavras-chave: graft, bone, CrCLR, biomechanics;

INTRODUÇÃO

A ruptura do ligamento cruzado cranial (RLCCr) é uma das causas mais comuns de claudicação em cães, pois promove instabilidade rotacional e translacional da articulação do joelho (Johnson et al., 1994). De acordo com Piermattei et al. (2006), a intervenção cirúrgica é recomendada para a maioria dos cães com RLCCr, a fim de restabelecer a

estabilidade da articulação e identificar quaisquer lesões meniscais. Segundo Wilke et al. (2005), nos últimos 50 anos diversos procedimentos cirúrgicos têm sido descritos para o tratamento desta artropatia. Entretanto, entre procedimentos cirúrgicos e conservativos, estimou-se que no ano de 2003 nos Estados Unidos, houve um gasto de cerca de U\$ 1 bilhão para o tratamento de cães com algum tipo de lesão desse ligamento.

Técnicas cirúrgicas envolvendo a osteotomia e o deslocamento da tuberosidade da tibia vêm sendo realizadas para reestabilizar a articulação do joelho (Boudrieau, 2009; Kim et al., 2008). Entre elas encontram-se a osteotomia de nivelamento do platô tibial (TPLO) e o avanço da tuberosidade tibial (TTA) (Boudrieau, 2009). Entretanto, de forma geral, essas técnicas requerem o uso de próteses de metal, de vários tamanhos e dimensões, que elevam o custo operacional dessas cirurgias (Boudrieau, 2009). Biomateriais alternativos ao metal para confeccionar implantes cirúrgicos, como polímeros biodegradáveis, derivados do óleo de mamona, parafusos de ossos bovinos, vêm sendo pesquisados, devido aos problemas originados pelos metais, nos processos de biocompatibilidade, osteointegração e módulo de elasticidade acima do ideal (Haje e Volpon, 2006; Haje et al., 2007). Haje e Volpon (2006) desenvolveram parafusos de osso bovino, e verificaram que a confecção de parafusos de dimensões pré-estabelecidas é possível, apresentando padrão de qualidade dimensional comparável com modelo metálico similar. Entretanto, previamente ao uso desses materiais nas osteossínteses, estes biomateriais necessitam ser conservados. Assim, vários métodos têm sido utilizados com esta finalidade. Castania e Volpon (2007) após esterilizarem blocos ósseos caninos em óxido de etileno e enxertarem, concluíram que este material apresentou boa atividade biológica, com alta taxa de integração ao leito receptor. Contudo, conforme descrito por Macedo et al. (1999), a análise da resistência de ossos conservados para a utilização futura como implante é de extrema importância, já que esse material deve proporcionar adequado suporte estrutural após implantado. Assim, objetivou-se avaliar placas de osso bovino conservadas em solução saturada de sal, com ou sem tratamento químico, na fixação *ex vivo* do avanço da tuberosidade tibial em cães, sob os aspectos mecânicos, microbiológicos e microscópicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para este estudo foram utilizadas 34 placas, produzidas a partir de amostras de tíbias bovinas frescas, da porção medial – terço médio longitudinal -, oriundas de matadouro frigorífico comercial, coletadas de forma não asséptica. O transporte das tíbias do local da coleta para o local de usinagem das placas foi realizado em sacos plásticos com intervalo de cerca de uma hora. O processo de produção das placas durou cerca de duas horas, sendo os ossos mantidos refrigerados em caixa de isopor contendo gelo desde a coleta até o final da usinagem das placas. As placas foram padronizadas com as seguintes dimensões: 5,0cm de comprimento e 0,5cm de espessura, com formato heptagonal, onde a base do triângulo media 4,5cm (Fig. 1). Após usinagem, as placas foram higienizadas em água corrente. Para se determinar a presença de microorganismos nas placas ósseas após a usinagem, estas (n=34) foram colocadas em um recipiente de vidro estéril contendo três litros de solução de cloreto de sódio a 0,9% (na proporção de 100 mL por placa óssea), e mantidas sob refrigeração (4-8°C) por 24 horas. Coletaram-se amostras do meio, as quais foram semeadas em Agar BHI e Agar Sabouraud. Após 48 horas, procedeu-se a leitura das placas de Agar BHI em aerobiose e anaerobiose. As leituras das placas de Agar Sabouraud foram realizadas após 14 dias.

As placas confeccionadas (n=34) foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos, a saber: 1) Grupo Sal (G_S) (n=17) – foram imersas em recipiente de vidro estéril contendo 1500mL de solução saturada de sal comercial, na proporção de 1,5g de sal para 1,0mL de água destilada; 2) Grupo processamento e sal (G_{PS}) (n=17) - foram submetidas a um tratamento químico com álcool absoluto por 48 horas (para fixação), água oxigenada por 24 horas (para clareamento), éter etílico por 24 horas (para remoção da gordura), álcool absoluto por 48 horas (para desidratação) e secagem em estufa a 39°C durante 24 horas; após foram imersas na mesma solução conservante do G_S . As placas do grupo G_{PS} foram avaliadas quanto à presença de microorganismos (leitura em Agar BHI e Agar Sabouraud) após o processamento químico, antes de serem submetidas à conservação.

Decorridos 45 dias de conservação, realizou-se análise microbiológica das placas e do meio conservante. Para a análise qualitativa, duas placas ósseas de cada grupo (G_S e G_{PS}) foram retiradas do meio conservante e submersas em BHI caldo, procedendo-se a leitura após 48 horas. Para leitura quantitativa, foram coletadas amostras do sobrenadante da solução de conservação e três placas de cada grupo. As placas foram então submetidas a duas lavagens de cinco minutos em solução de cloreto de sódio a

0,9% e subsequente reidratação por seis horas nesta mesma solução, na proporção de 100mL de solução por placa. O sobrenadante da solução de conservação e da solução de reidratação foram semeadas em Agar BHI e Agar Sabouraud, conforme descrito anteriormente.

Para avaliação microscópica, cinco placas ósseas de cada grupo foram retiradas do meio conservante e reidratadas por um período de seis horas em solução de cloreto de sódio a 0,9%, na proporção de 100mL de solução por placa. Após, cada placa foi serrada, originando dois fragmentos por placa, em um total de 10 fragmentos de cada meio conservante. Ato contínuo, cinco fragmentos de cada grupo foram colocados em solução EDTA 5% para descalcificação, durante 10 dias e em seguida foram processados conforme rotina para avaliação em microscopia eletrônica de transmissão, onde se avaliou a integridade do material celular e da matriz óssea. Os demais cinco fragmentos de cada grupo foram colocados também em solução EDTA 5% para descalcificação, permanecendo nesta por 54 dias. Posteriormente, esses fragmentos foram processados conforme rotina de avaliação em microscopia de luz, sendo as lâminas coradas por Hematoxilina-Eosina e Picrosirius, para avaliar a disposição e integridade da matriz óssea, e também integridade da matriz celular. Para fins comparativos, amostras não submetidas à descalcificação foram produzidas para avaliação em microscopia eletrônica de transmissão. Também para fins comparativos, um grupo controle (G_F), composto de cinco amostras coletadas a fresco de diferentes tíbias de bovino (da mesma porção tibial que se coletou para a fabricação das placas), foram processados de forma idêntica a descrita para os grupos G_S e G_{PS} .

Para a realização da técnica de estabilização articular, coletaram-se 14 membros pélvicos (espécimes) de sete cães que vieram a óbito da rotina clínico hospitalar, com peso entre 21 e 41 Kg. Realizou-se dissecação da tíbia e fêmur, retirando-se todos os tecidos moles que os envolviam, ficando preservados apenas a estrutura articular, tendão patelar e patela. Posteriormente, foi realizado exame radiográfico para verificação da articulação fêmoro-tíbio-patelar, com incidências médio-laterais, posicionando-se a articulação paralela ao filme radiográfico, em ângulo de 90° de flexão e em extensão total. Somente os membros considerados dentro do padrão normal para a espécie foram utilizados no estudo. Ato contínuo, realizou-se a desmotomia do ligamento cruzado cranial (LCCr) por meio de acesso parapatelar, sendo esta confirmada pela ruptura macroscópica do ligamento e pela presença do movimento de gaveta cranial. Ao final deste procedimento, os membros foram radiografados em posição médio-lateral, com a

articulação em 135° de extensão. O ângulo da inclinação do tendão patelar foi determinado seguindo a descrição de Montavon (2002) citado por Selmi et al. (2003). Após, realizou-se em todos os espécimes (n=14) osteotomia da tuberosidade tibial com auxílio de uma serra circular, com posterior avanço da tuberosidade (conforme ângulo pré-determinado segundo a técnica de TTA original)(Montavon, 2002, citado por Selmi et al.; 2003), e fixação à tibia por meio das placas ósseas previamente conservadas. Nos membros pélvicos direitos (grupo G₁) foram implantadas as placas do G_{PS}, e nos membros esquerdos (grupo G₂) foram implantadas as placas do G_S. A fixação das placas à tibia foi por meio de dois parafusos corticais de 4,5mm; e na tuberosidade, por meio de dois parafusos corticais de 2,0mm, todos de aço inoxidável (Cr Ni Mo – ASTM F-138), em orifício previamente feito com broca de diâmetro inferior aos parafusos. Essas placas foram fixadas na porção proximal medial da tibia, de forma que a porção mais larga da placa ficasse próxima a articulação do joelho (Fig. 1). Anteriormente ao seu uso, as placas de ambos os grupos foram retiradas do meio conservante e lavadas em solução de cloreto de sódio a 0,9%, sendo posteriormente colocadas nessa mesma solução para serem reidratadas durante seis horas. No final do procedimento cirúrgico, os membros foram radiografados para confirmação do ângulo do avanço da tuberosidade. Posteriormente, os membros foram mantidos congelados a -20°C.

Para realização dos ensaios biomecânicos, as tíbias foram descongeladas por 24 horas à temperatura ambiente, e após tiveram sua extremidade distal serrada obliquamente a 4,5cm de distância da epífise. Ato contínuo, foram fixadas em uma base de PVC com 10cm de diâmetro e 5,0cm de altura, por meio de resina acrílica. Essa base foi fixada a uma morsa, a qual estava acoplada na máquina universal de ensaios (Fig. 1). Todos os ensaios mecânicos foram realizados na máquina universal de ensaio EMIC® modelo DL-3000 (capacidade máxima de 500 kgf), com aplicação da força sendo realizada por meio de um pino (face inferior plana e lisa) posicionado perpendicular a tuberosidade da tibia (Fig. 1). Aplicou-se uma força vertical no osso (força de compressão), na velocidade de 50mm/min, até a falência total do sistema, onde se observava deformação dos parafusos que fixavam a placa na tuberosidade da tibia. As deformações foram captadas pelos sensores internos de deslocamento da máquina, sendo obtidos gráficos força x deformação, dos quais avaliaram-se força máxima, deformação até a força máxima (falência do sistema), energia absorvida até a força máxima e a rigidez. Os resultados obtidos de força máxima foram comparados aos valores estimados a 110% do peso dos animais, conforme descrito por Lins et al. (2009).

A análise estatística foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA), seguido de avaliação por teste de Tukey ($P < 0,05$).

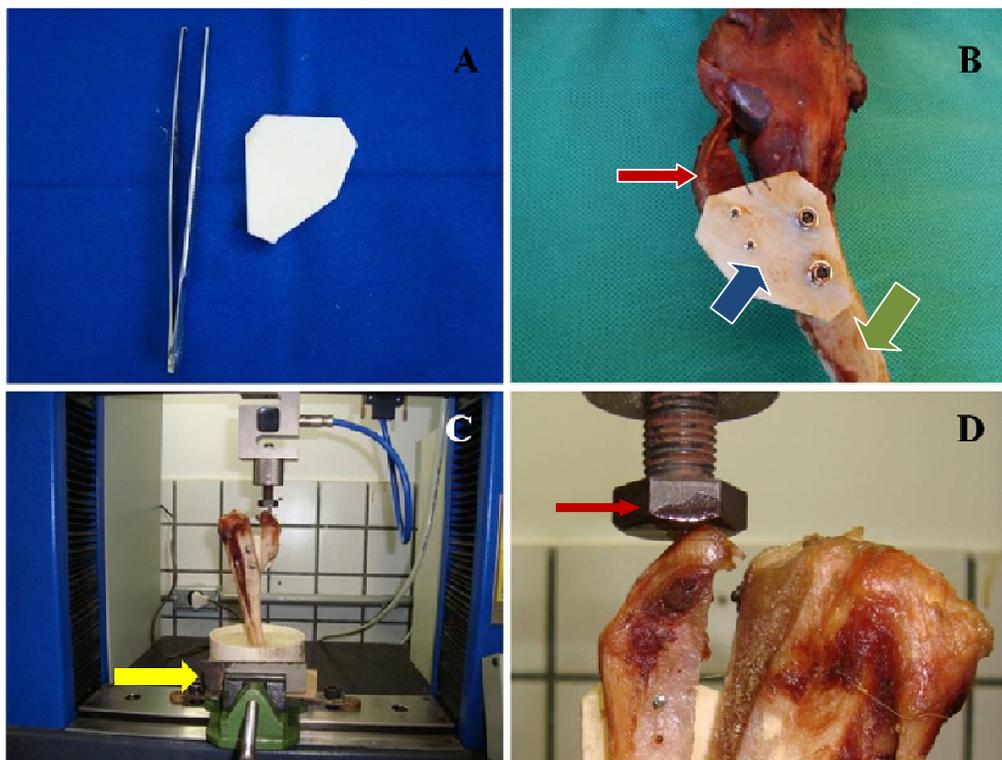


Figura 1. A) Placa óssea confeccionada de osso cortical da diáfise femoral de bovino. B) Placa óssea (seta azul) fixada à tuberosidade da tíbia (seta vermelha) e a tíbia (seta verde). C) Posicionamento do espécime na máquina universal para realização do ensaio mecânico destrutivo de compressão. Observe a base de PVC fixada a uma morsa ajustável (seta amarela) acoplada à máquina de ensaios. D) Ensaio mecânico de compressão. Observe o pino (seta vermelha) posicionado sobre a tuberosidade tibial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a usinagem dos ossos, foi identificado presença de *Staphylococcus* sp. nas placas ósseas, provavelmente decorrente do processo de coleta das tíbias e principalmente do processo de usinagem, os quais não foram realizados de forma asséptica. No grupo G_{PS}, após o processamento químico e anterior a conservação em solução saturada de sal, bem como após o processo de reidratação anterior ao implante, não se observou contaminação do sobrenadante da solução saturada e das placas ósseas. Concordando com os achados de Haje et al. (2007), os quais após avaliarem parafusos e blocos de ossos corticais produzidos da diáfise medial da tíbia de bovinos,

processados quimicamente e esterilizados em óxido de etileno, não observaram presença de nenhum tipo de microorganismo. Estes resultados encontrados neste estudo foram decorrentes do processo químico ao qual estas placas foram submetidas antes de serem conservadas, que foi semelhante ao utilizado para preparo de biomaterial para ser esterilizado em óxido de etileno, como descrito por Castiglia et al. (2009). Neste processo utilizou-se antissépticos, como álcool e água oxigenada, que provavelmente colaboraram para a diminuição dos microorganismos. Já no G_S, encontrou-se presença de *Staphylococcus* sp. e de fungos filamentosos no sobrenadante da solução saturada de sal após 45 dias de conservação, contudo após seis horas de reidratação, a solução em que as placas ósseas foram mantidas não apresentou sinais de contaminação. Esse resultado concorda com os achados de Melo Filho (2010), o qual encontrou presença de contaminação em placas ósseas conservadas nesta mesma solução após 45 dias de conservação, decorrente do processo de usinagem das placas ósseas. A não presença de microorganismos na solução de reidratação possivelmente é decorrente do local que estas placas estavam alocadas, no fundo do recipiente contendo sal, que por sua vez gerou um gradiente de saturação que impediu a proliferação bacteriana no osso. Já o sobrenadante da solução possui menor gradiente de saturação, insuficiente para inibir a proliferação de microorganismos.

Na avaliação por microscopia eletrônica do tecido ósseo dos grupos G_S e G_{PS}, não se observou integridade celular, notada por perda do citoplasma, desnaturação da cromatina e presença de canalículos celulares sem prolongamentos citoplasmáticos (Fig. 2). Concordando com os achados de Castania e Volpon (2007) e Castiglia et al. (2009), que após avaliarem enxerto ósseo cortical, esponjoso e corticoesponjoso de cães e de ratas, respectivamente, processados quimicamente e esterilizados em óxido de etileno, encontraram as células dos enxertos ósseos inativas. A ausência de integridade celular observada neste estudo deveu-se ao meio de conservação e/ou pelo processo químico, aos quais as placas foram submetidas, que destruiu a vitalidade celular. Entretanto, segundo Mazzanti et al. (2001) e Guimarães et al. (2007), o meio de preservação não precisa manter a vitalidade celular, pois a eficiência da cirurgia reparadora com material enxertado independe da sobrevivência dos elementos celulares do enxerto, estando mais relacionada com a reação biológica de reparação e regeneração tecidual. Além disso, notou-se no tecido ósseo desses grupos que a orientação e disposição das fibras ósseas de todos os espécimes permaneceram inalteradas. Resultados estes diferentes do relatado por Haje et al. (2007) e Castiglia et al. (2009), que após avaliarem a ação do

processamento químico e da esterilização por óxido de etileno sobre parafusos corticais produzidos da tíbia de bovinos e osso cortical e esponjoso de ratas, respectivamente, encontraram amalgamação das fibras ósseas. Esses autores relacionaram a amalgamação das fibras a fatores físicos aos quais os ossos foram expostos durante o processo de esterilização, como pressão, vácuo e, principalmente, aquecimento.

Na avaliação por microscopia de luz observou-se, na coloração por Hematoxilina-Eosina, maior quantidade de células no tecido ósseo do G_{PS}. Entretanto, estas células apresentavam mínimo conteúdo citoplasmático, ausência de contorno e disposições irregulares do núcleo, caracterizando necrose celular. Já no G_S prevaleceu ausência de material intracelular. Tal achado concorda com o de Castiglia et al. (2009), que relataram maior preservação celular nos espécimes ósseos dos grupos tratados quimicamente quando comparado aos não submetidos ao tratamento químico, embora a viabilidade celular também estivesse comprometida. Isto se deve ao fato do álcool utilizado no início do tratamento químico, no G_{PS}, ter atuado como fixador das estruturas ósseas. Na coloração por Picrus-Cirius, foi possível notar no G_{PS} a presença de diversas falhas dispersas pelo colágeno (Fig. 2), enquanto que no G_S não se observaram tais falhas. Estas falhas provavelmente ocorreram pelo fato das placas do G_{PS} terem sido submetidas à secagem em estufa a 39°C por 24 horas, pois segundo descrito por Wang et al. (2001), ocorre desnaturação de 8,8% do colágeno dos ossos após aquecimento deste por 1 hora à temperatura de 37°C.

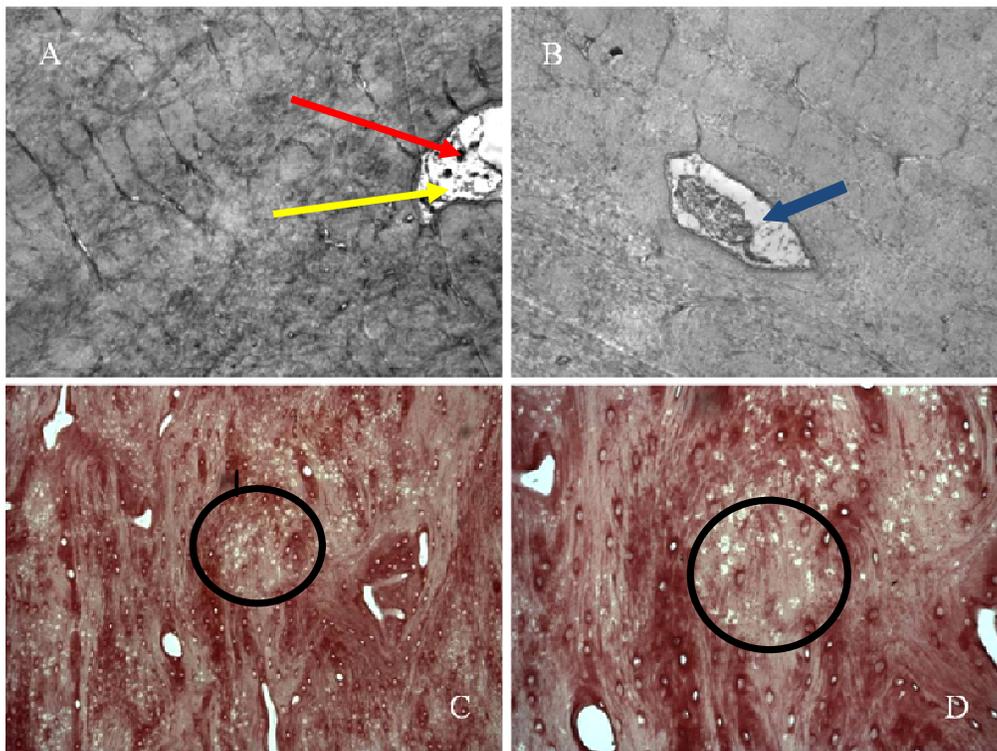


Figura 2. A e B – Análise ultraestrutural do osso cortical bovino após conservação em solução saturada de sal, com e sem tratamento químico prévio. A) Observe ausência quase total de conteúdo nuclear (seta amarela) e presença de cromatina desnaturada (seta vermelha), no osso do grupo conservado em solução saturada de sal (G_S). (3000x, 80 kV). B) Observe perda do contorno nuclear, e manutenção de parte do conteúdo citoplasmático (seta azul), no osso do grupo tratado quimicamente e conservado em solução saturada de sal (G_{PS}). (3000x, 80 kV). C e D - Fotomicrografia do osso cortical bovino após conservação em solução saturada de sal, com e sem tratamento químico prévio. Observe falhas na matriz de colágeno (círculo) no osso conservado em solução saturada de sal (G_S). Picrosirius -10 e 20x.

Em relação à avaliação mecânica, observou-se no grupo onde as placas foram tratadas quimicamente e conservadas em solução saturada de sal (G_{PS}), que a carga máxima suportada pelo sistema (placa + parafuso + tíbia) foi de $754,7 \pm 185N$, enquanto no grupo onde as placas foram somente conservadas em solução de sal (G_S) foi de $691,36 \pm 335,3N$, não havendo diferença significativa entre os grupos ($P < 0,05$) Esse

resultado concorda com o relatado por Lins et al. (2009), os quais após testarem uma técnica modificada de estabilização articular por meio de fixação da tuberosidade com parafuso totalmente rosqueado, associado a espaçador de titânio, encontraram uma força vertical máxima de $651 \pm 303\text{N}$. Também, verificou-se nas curvas de força \times deformação deste estudo, que os valores limites relativos até 110% do peso do animal estiveram dentro da fase elástica do gráfico, ou seja, não houve deformação permanente no sistema quando aplicado força de até 110% do peso do animal. Assim, verificou-se que a carga máxima suportada pelo sistema (em ambos os grupos) superou a força vertical máxima (PVF), que neste estudo foi de $302,9 \pm 70,05\text{N}$. Possivelmente isto se deveu a não interferência do meio de conservação sobre a rigidez das placas ósseas, pois segundo Melo Filho (2010) após avaliar placas ósseas de bovino conservadas em diferentes meios, verificou que a solução saturada de sal a 150% não promoveu alteração na força de compressão quando comparada a outros meios de conservação. Discordando dos achados de Hofmann et al. (2003), os quais após estudarem pinos confeccionados a partir de ossos corticais de tíbias bovinas, e esterilizados com óxido de etileno, autoclavagem e radiação gama, verificaram que os tratados com óxido de etileno apresentaram diminuição no grau de rigidez. O resultado deste estudo ocorreu provavelmente pelo fato do meio conservante atuar no osso na sua fase mineral, mais especificamente na água, causando assim desidratação do osso, e conseqüente efeito protetor nas fibras ósseas. Além disso, o formato da placa óssea que foi confeccionada garantiu uma boa fixação e sustentação da tuberosidade da tíbia.

A falência total do sistema ocorreu quando se observou falha na interface parafuso-osso e posterior deformação dos parafusos utilizados para fixação da placa na tuberosidade da tíbia. Neste momento, notou-se que os parafusos se deslocavam no sentido vertical da tíbia, acompanhando o sentido da força aplicada (força de compressão), sem, portanto, ocorrer fratura da tuberosidade. Concordando com os achados de Lins et al. (2009), os quais após testarem a associação de um parafuso totalmente rosqueado e um espaçador de titânio fixados à tuberosidade tibial como método modificado da TTA em cães *ex vivo*, não observaram fratura da tuberosidade da tíbia. Discordando do relatado por Montavon (2002) citado por Lins et al. (2009), que descreveram que a complicação mais frequente na técnica original de TTA é a fratura dessa estrutura óssea. Este resultado parece estar relacionado à preservação da integridade óssea da tuberosidade tibial, que não foi enfraquecida apesar da passagem e presença dos dois parafusos corticais. Ainda, em dois espécimes (uma do G_{PS} e uma do

G₅) houve fratura completa longitudinal da placa óssea entre as perfurações dos parafusos. Essas fraturas provavelmente estão relacionadas ao processo de perfuração das placas para colocação do parafuso, onde se notou nesses espécimes a presença de uma fissura óssea entre a placa e o parafuso, proporcionando o enfraquecimento das mesmas. Contudo, mesmo nesses espécimes, o ponto de falência do sistema ocorreu após aplicação de força superior a estimada para sustentação do peso dos animais sobre os membros.

CONCLUSÕES

Nas condições deste estudo, pode-se concluir que a solução saturada de sal promove lise nuclear sem afetar a disposição das fibras ósseas, sugerindo diminuição da antigenicidade de osso cortical bovino; o processamento químico é um método eficiente de esterilização de material cortical ósseo; a placa óssea como estabilizador articular suporta a força vertical máxima de compressão calculada para 110% do peso vivo sobre a tuberosidade da tíbia após seu avanço; e a viabilidade biomecânica da estabilização articular por placas ósseas após desmotomia do LCCr suportam futuros testes clínicos *in vivo* para validação da técnica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOUDRIEU, R. J. Tibial Plateau Leveling Osteotomy or Tibial Tuberosity Advancement? *Vet Surg*, n. 38, p. 1-22, 2009.
- CASTANIA, V. A.; VOLPON, J. B. Integração do enxerto ósseo corticoesponjoso homólogo, tratado quimicamente e esterilizado em óxido de etileno: estudo em cães. *Rev Bras Ortop*, n. 42, v. 6, p. 173-180, 2007.
- CASTIGLIA, M. T.; SILVA, J. V. F.; THOMAZINI, J. A. et al. Efeitos do processamento químico e da esterilização em óxido de etileno em osso cortical e esponjoso de ratas: estudo com microscopia de luz e eletrônica de varredura. *Rev Bras Ortoped*, n. 44, v. 1, p. 32-39, 2009.
- DAMUR, D. M. Tibial tuberosity advancement: clinical results. In: PROCEEDINGS OF THE 15TH ANNUAL AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY SURGEONS SYMPOSIUM, San Diego, CA: 2005. p. 441-442. (abstract).

- GUIMARÃES, G. C.; SCAVONE, A. R. F.; MACHADO, M. R. F. et al. Avaliação histológica de membranas biológicas bovinas conservadas em glicerina e a fresco. *Biosc J*, v. 23, n. 3, p. 120-127, 2007.
- HAJE, D. P.; THOMAZINI, J. A.; VOLPON, J. B. Efeitos do processamento químico, da esterilização em óxido de etileno e da usinagem em parafusos de osso bovino: estudo com microscopia eletrônica de varredura. *Rev Bras Ortop*, n. 42, v. 4, p. 120-124, 2007.
- HAJE, D. P.; VOLPON, J. B. Desenvolvimento de parafusos de osso bovino: método de usinagem e estudo metrológico com projetor de perfil. *Act Ortop Bras*, v. 14, n. 2, p. 87-91, 2006.
- HOFMANN, C.; SCHADEL-HOPFNER, M.; BERNIS, T. et al. Influence of processing and sterilization on the mechanical properties of pins made from bovine cortical bone. *Der Unfallch*, v. 6, n. 106, p. 478-82, 2003.
- JOHNSON, J. A.; AUSTIN, C.; BREUR, G. J. Incidence of canine appendicular musculoskeletal disorders in 16 veterinary teaching hospitals from 1980 through 1989. *Vet Comp Orthop Traumatol*, v. 7, p. 56–69, 1994.
- KIM, S. E.; POZZI, A.; KOWALESKI, M. P. et al. Tibial osteotomies for cranial cruciate ligament insufficiency in dogs. *Vet Surg*, v. 37, p. 111–125, 2008.
- LINS, B. T.; RAHAL, S. C.; LOUZADA, M. J. et al. Mechanical resistance of the modified stabilization method for the tibial tuberosity advancement technique. *Ex vivo* experimental study in dogs. *C Rural*, v. 39, n. 2, p. 467-472, 2009.
- MACEDO, C. A. S.; GALIA, C. R.; SILVA, A. L. B. et al. Comparação da resistência à compressão do osso bovino congelado e liofilizado. *Rev Bras Ortop*, v. 4, n. 9/10, 1999.
- MAZZANTI, A.; PIPI, N. L.; RAISER, A. G. et al. Reparação do diafragma de cães com segmento muscular homólogo ortotópico conservado em solução supersaturada de açúcar. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v. 53, n. 1, p. 21-26, 2001.
- MELO FILHO, E. V. Placas ósseas corticais bovina: avaliações mecânicas e microbiológica após conservação em diferentes meios. 2010. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre.
- PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L.; DECAMP, C. E. The stifle joint. In: PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L.; DECAMP, C. E. (4 Ed.) *Brinker, Piermattei, and Flo's Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair*. Philadelphia: SAUNDERS, 2006. p.562–632.

SELMI, A. L.; LINS, B. T.; BARBUDO-SELMI, G. R. et al. Centro instantâneo de movimento, na avaliação ex-vivo da reconstrução extra-articular fabelo-tibial, após transecção do ligamento cruzado cranial em cães. **C Rural**, v.33, n.5, p.875-880, 2003.

WANG, X.; BANK, R. A.; TEKOPPELE, J. M. et al. The role of collagen in determining bone mechanical properties. *J Orthop Res*, n. 19, p. 1021-1026, 2001.

WILKE, V. L.; ROBINSON, D. A.; EVANS, R. B. et al. Estimate of the annual economic impact of treatment of cranial cruciate ligament injury in dogs in the United States. *J Am Vet Med Assoc*, n. 227, p. 1604–1607, 2005.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições deste estudo, pode-se concluir que:

- A solução saturada de sal promove lise nuclear sem afetar a disposição das fibras ósseas, sugerindo redução da antigenicidade do osso cortical bovino;
- Não há preservação da viabilidade celular das células ósseas conservadas em solução saturada de sal com ou sem processamento químico, caracterizada por necrose celular generalizada;
- O processamento químico é um método eficiente de esterilização de material cortical ósseo;
- As placas conservadas em solução saturada de sal, com e sem tratamento químico, apresentam comportamento biomecânico semelhante após implantação no avanço da tuberosidade tibial;
- A placa óssea como estabilizador articular suporta a força de compressão estimada para 110% do peso vivo sobre a tuberosidade da tíbia após seu avanço, sem sofrer deformação permanente;
- A viabilidade biomecânica da estabilização articular por placas ósseas após desmotomia do LCCr suportam futuros testes clínicos *in vivo* para validação da técnica.

6 REFERÊNCIAS

ACETO, M. L.; COELHO, M. C. O. C.; MONTEIRO, V. L. C.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; MELO-JÚNIOR, M. M. Membrana amniótica e pericárdio canino como curativos biológicos na preparação do leito receptor para enxertia cutânea autógena. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 358-362, 2007.

ALIEVI, M. M.; SCHOSSLER, J. E. W.; GUIMARÃES, L. D. OLIVEIRA, A. N. C.; TRAESLEL, C. K.; FERREIRA, P. A. Implante ósseo cortical alógeno conservado em mel na reconstrução de falha óssea diafisária em fêmur de cães: avaliação clínica e radiográfica. **Ciência Rural**, v. 37, n. 2, p. 450-457, 2007.

ALVARENGA, J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. IN: DALECK, C. R.; BAPTISTA, L. C.; MUKAI, L. S. **Tópicos em cirurgia de cães e gatos**. Jaboticabal: FUNEP-UNESP, 1992. p. 33-42.

AMENDOLA, G. F. Aspectos biomecânicos, bacteriológicos e micológicos de diáfises femorais caninas conservadas em glicerina a 98% ou mel. 2007. 100f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

APELT, D.; KOWALESKI, M. P.; BOUDRIEU, R. J. Effect of tibial tuberosity advancement on cranial tibial subluxation in canine cranial cruciate-deficient stifle joints: an in vitro experimental study. **Veterinary Surgery**, v. 36, n. 2, p. 170-177, 2007.

ARON, D. N. Técnicas de reparo de tendões. In: BOJRAB, M.J. **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. 3.ed., São Paulo:Roca, 1996. cap.40, p.516-527.

ASHMAN, R. B. Experimental techniques. In: COWIN, C. S. **Bone Mechanics**. Florida: CRC – Boca Raton, 1989, p. 75-96.

BACHA JR, W. J.; BACHA, L. M. Cartilagem. IN: BACHA JR, W. J.; BACHA, L. M. **Atlas Colorido de Histologia Veterinária**. 2. ed., São Paulo: Roca, 2003. cap.4., p. 27-30.

BALLAGAS, A. J.; MONTGOMERY, R. D.; HENDERSON, R. A.; GILLETTE, R. Pre- and postoperative force plate analysis of dogs with experimentally transected cranial cruciate ligaments treated using tibial plateau leveling osteotomy. **Veterinary Surgery**, v. 33, n. 2, p. 187-190, 2004.

BATISTA, L. C.; DALECK, C. R.; SHIMANO, A. C.; ALESSI, A. C.; ABRAHÃO, M. S. Estudo comparativo da resistência à tração do peritônio (bovino, eqüino, suíno e canino) a

fresco e conservado em glicerina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 33, p. 305-312, 1996.

BAUNGARTEN, L. B.; FREITAS, P. M. C.; EURIDES, D.; SALGADO, A. E. P.; NUNES, L. C.; BELETTI, M. E. Blefaroplastia em coelhos por meio de cartilagem auricular alógena conservada em solução saturada de NaCl. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p. 1219-1223, 2007.

BIASI, F.; RAHAL, S. C.; VOLPI, R. S.; SEQUEIRA, J. L. Reconstrução do ligamento cruzado cranial em cães, associado ou não ao sulfato de condroitina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 4, p. 442-447, 2005.

BOUDRIEAU, R. J. Tibial plateau leveling osteotomy or tibial tuberosity advancement? **Veterinary Surgery**, v. 38, p. 1-22, 2009.

BRUN, M. V.; PIPPI, N. L.; DRIEMEIER, D.; CONTESINI, E. A.; BECK, C. A. C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S. T. L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R. Solução hipersaturada de sal como conservante de pericárdio canino utilizado na reparação do músculo reto abdominal de ratos Wistar. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 1019-1025, 2002.

BRUN, M. V.; PIPPI, N. L.; DRIEMEIER, D.; CONTESINI, E. A.; BECK, C. A. C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S. T. L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R.; SILVA, T. F. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 147-153, 2004.

BUQUERA, L. E. C.; CANOLA, J. C.; PADILHA FILHO, J. G.; FURLANI, J. M.; TALIERI, I. C.; SELMI, A. L. Radiografia e macroscopia do joelho após estabilização extra-articular utilizando fásia lata, fio de poliéster trançado ou fio de poliamida para correção da ruptura do ligamento cruzado cranial em cães. **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, p. 73-78, 2002.

CAMARGO, O. P.; MARTINS, P.; ANDRADE, R. M.; DURAN, C. E. P.; CROCI, A. T.; LEIVAS, T. P.; PEREIRA, C. A. M.; BOLLIGER NETO, R. Análise comparativa da resistência de fêmures de cães após a confecção de janelas ósseas circular e quadrada. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 41-7, 2002.

CAREY, K.; AIKEN, S. W.; DIRESTA, G. R.; HERR, L.G.; MONETTE, S. Radiographic and clinical changes of the patellar tendon after tibial plateau leveling osteotomy. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 18, p. 235-242, 2005.

CASTANIA, V. A.; VOLPON, J. B. Integração do enxerto ósseo corticoesponjoso homólogo, tratado quimicamente e esterilizado em óxido de etileno: estudo em cães. **Revista Brasileira de Ortopedia**, n. 42, v. 6, p. 173-180, 2007.

CASTIGLIA, M. T.; SILVA, J. V. F.; THOMAZINI, J. A.; VOLPON, J. B. Efeitos do processamento químico e da esterilização em óxido de etileno em osso cortical e esponjoso de ratas: estudo com microscopia de luz e eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Ortopedia**, n. 44, v. 1, p. 32-39, 2009.

CONRAD, E. U.; ERICKSEN, D. P.; TENSER, A. F.; STRONG, D. M.; MACKENZIE, A. P. The effects of freeze-drying and rehydration on cancellous bone. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 290, p. 279-284, 1993.

CONTESINI, E. A.; PIPPI, N. L.; BECK, C. A. C.; BRUN, M. V.; GODOY, C. L. B.; GRAÇA, D. M.; SILVA FILHO, A. P. F.; BONFADA, A. T.; STEDILE, R.; COLOMÉ, L. M.; GOMES, K.; BRAGA, F. V. A. Implante de traquéia de *Gallus domesticus* na microanastomose arterial em cães. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 32, n. 2, p. 89-95, 2004.

CONZEMIUS, M. G.; EVANS, R. B.; BESANCON, M. F.; GORDON, W. J.; HORSTMAN, C. L.; HOEFLE, W. D.; NIEVES, M. A.; WAGNER, S. D. Effect of surgical technique on limb function after surgery for rupture of the cranial cruciate ligament in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 2, p. 232-236, 2005.

COSTA NETO, J. M.; DALECK, C. R.; ALESSI, A. C.; BRAECIALLI, C. S. Tenoplastia experimental do calcâneo em cães com peritônio bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, v. 29, n. 4, p.697-703, 1999.

COSTA NETO, A. A.; PAES, J. L. L.; CARVALHO, R. G.; et al. Concentração bactericida do açúcar em culturas de *Escherichia coli*. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 24, p. 151-154, 1997.

DALECK, C. R.; DALECK, C. L. M.; ALESSI, A. C.; PADILHA FILHO, J. G.; COSTA NETO, J. M. Substituição de um retalho diafragmático de cão por peritônio de bovino conservado em glicerina: estudo experimental. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v.4, n.1, p.53-61, 1988.

DALECK, C. R.; DALECK, C. L. M.; PADILHA FILHO, J. G.; COSTA NETO, J. M. Reparação de hérnia perineal em cães com peritônio de bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, v. 22, n. 2, p. 179-183, 1992.

DAMUR, D. M. **Tibial tuberosity advancement: clinical results.** Proceedings of the 15th Annual American College of Veterinary Surgeons Symposium, San Diego, CA, p. 441–442, 2005 (abstract).

DEL CARLO, R. J.; GALVÃO, S. R.; VILORIA, M. I. V.; SOUZA, T. D.; MAIA FILHO, A. Aloenxertos ósseos caninos diferentemente preservados. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 6, n. 3, p. 121-26, 1999.

DENNLER, R.; KIPFER, N. M.; TEPIK, S.; HASSIG, M.; MONTAVON, P. M. Inclination of the patellar ligament in relation to flexion angle in stifle joints of dogs without degenerative joint disease. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, p. 1849–1854, 2006.

DHILLON, M. S.; PRABHAKAR, S.; PRASANNA, C. Preliminary experience with biodegradable implants for fracture fixation. **Indian Journal of Orthopaedics**, v. 42, p. 319-322, 2008.

DINGEE, F. Análise da influência dos tratamentos de Liofilização, esterilização e rehidratação nas propriedades mecânicas do osso cortical bovino. 2005. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia de Materiais) - Curso de Graduação em Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina.

DOVERSPIKE, M.; VASSEUR, P. B.; HARB, M. F. et al. Contralateral cranial cruciate ligament rupture: incidence in 114 dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 29, p. 167–170, 1993.

DUARTE, L. S.; SCHAEFFER, L. Comparação da resistência à compressão de ossos bovinos congelados e liofilizados. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 16, n. 2, p. 89-93, 2000.

ELKINS, A. D.; PECHMAN, R.; KEARNEY, M. T.; HERRONET, M. A retrospective study evaluating the degree of degenerative joint diseases in the stifle joint of dogs following surgical repair of anterior cruciate ligament rupture. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 27, p. 533–540, 1991.

EURIDES, D.; BENTO, L. R. T.; SILVA, L. A. F.; DALECK, C. R. Implante de tendão autógeno do músculo flexor superficial dos dedos no reparo de desvio do pênis de bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 6, p. 415-421, 2007.

EURIDES, D.; DALECK, C. R.; SILVA, M.; SILVA, L. A. F.; GONÇALVES, G. F.; PRIETO, L. A.; BORREZZI, C. Utilização da cápsula esplênica de bovino na ceratoplastia lamelar em coelhos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia Unipar**, v.9, n. 2, p. 117-121, 2006.

EVANS, H.E ; DE LAHUNTA, A. **Miller guia para dissecação do cão**. 3. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 206p.

FREITAS, P.M.C. Reparo da parede torácica de coelhos com cartilagem auricular de cães e pedículos dos músculos grande dorsal e serrátil ventral. 2003. 56p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Uberlândia.

FREITAS, P. M. C.; DALECK, C. R.; MELO, M. S.; EURIDES, D.; MARTINS FILHO, S.; BAUNGARTEN, L. B. Eletroacupuntura aplicada nas fases precoce e tardia da cicatrização do tendão calcâneo comum de coelhos após reparo tardio com peritônio bovino conservado em solução supersaturada de sal: aspectos clínicos. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1830-1836, 2006.

FREITAS, P. M. C.; DALECK, C. R.; NUNES, L. C.; EURIDES, D.; BELETTI, M. E.; MELO, M. S. Eletroacupuntura no reparo do tendão calcâneo comum em coelhos após enxertia com peritônio bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p. 324-331, 2010.

GAMBARDELLA, P. C.; WALLACE, L. J.; CASSIDY, F. Lateral suture technique for management of anterior cruciate ligament rupture in dogs: a retrospective study. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 17, p. 33–38, 1981.

GETTY, R. Generalidades sobre o coração e os vasos sanguíneos. IN: SISSON, S.; GROSSMAN, J.D.; GETTY, R. **Sisson/Grossman Anatomia dos Animais Domésticos Getty**, 5.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 153-162p.

GIBSON, T. W. G.; MOENS, N. M. M.; RUNCIMAN, R. J.; HOLMBERG, D. L.; MONTEITH, G. M. The biomechanical properties of the feline femur. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 21, p. 1-6, 2008.

GIOSSO, M. A.; BENITES, N. R.; KAMPF, G. Análise microbiológica de ossos de cães conservados por longo período de tempo na glicerina a 98% à temperatura ambiente, objetivando a enxertia óssea. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 242-246, 2002.

GIOVANI, A. M. M.; CROSSI, A. T.; OLIVEIRA, C. R. G. C. M.; FILIPPI, R. Z.; SANTOS, L. A. U.; MARAGNI, G. G.; ALBHY, T. M. Comparative study of cryopreserved bone tissue and tissue preserved in a 98% glycerol solution. **Clinics**, v.61, n.6, p.565-570, 2006.

GUIMARÃES, G. C.; SCAVONE, A. R. F.; MACHADO, M. R. F.; CRUZ, C.; CAPALBO, A. C.; SANTOS, A. L. Q. Avaliação histológica de membranas biológicas bovinas conservadas em glicerina e a fresco. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 3, p. 120-127, 2007.

HAJE, D. P.; THOMAZINI, J. A.; VOLPON, J. B. Efeitos do processamento químico, da esterilização em óxido de etileno e da usinagem em parafusos de osso bovino: estudo com microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 42, n. 4, p. 120-124, 2007.

HAJE, D. P.; VOLPON, J. B. Desenvolvimento de parafusos de osso bovino: método de usinagem e estudo metrológico com projetor de perfil. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 87-91, 2006.

HAYASHI, K.; MANLEY, P. A.; MUIR, P. Cranial cruciate ligament pathophysiology in dogs with cruciate disease: a review. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, p. 385–390, 2004.

HENDERSON, R. A.; MILTON, J. L. The tibial compression mechanism: a diagnostic aid in stifle injuries. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 14, p. 474–479, 1978.

HOFMANN, C.; SCHADEL-HOPFNER, M.; BERNS, T.; SITTER, H.; GOTZEN, L. Influence of processing and sterilization on the mechanical properties of pins made from bovine cortical bone. **Der Unfallchirurg**, v. 6, n. 106, p. 478-82, 2003.

HOVIS, W. D.; BUCHOLZ, R. W. Polyglycolidebioabsorbable screws in the treatment of ankle fractures. **Foot & Ankle International**, v. 18, n. 3, p. 128-131, 1997.

JOHNSON, J. A.; AUSTIN, C.; BREUR, G. J. Incidence of canine appendicular musculoskeletal disorders in 16 veterinary teaching hospitals from 1980 through 1989. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 7, p. 56–69, 1994.

KIM, S. E.; POZZI, A.; KOWALESKI, M. P.; LEWIS, D. D. Tibial osteotomies for cranial cruciate ligament insufficiency in dogs. **Veterinary Surgery**, v. 37, p. 111–125, 2008.

KIM, S. E.; POZZI, A.; BANKS, S. A.; CONRAD, B. P.; LEWIS, D. D. Effect of tibial tuberosity advancement on femorotibial contact mechanics and stifle kinematics. **Veterinary Surgery**, v. 38, p. 33-39, 2009a.

KIM, S. E.; POZZI, A.; BANKS, S. A.; CONRAD, B. P.; LEWIS, D. D. Effect of tibial plateau leveling osteotomy on femorotibial contact mechanics and stifle kinematics. **Veterinary Surgery**, v. 38, p. 23-32, 2009b.

KORVICK, D. L.; PIJANOWSKI, G. J.; SCHAEFFER, D. J. Three-dimensional kinematics of the intact and cranial cruciate ligament-deficient stifle of dogs. **Journal of Biomechanics**, v. 27, p. 77-87, 1994.

KOWALESKI, M. P.; MARSTON, M. T.; KRAUS, K. H. Nonlinear increasing axial gap stiffness in type II external skeletal fixation: A mechanical study. **Veterinary Surgery**, v. 32, n. 2, p. 120-127, 2003.

LEITE, J. B. F.; MARQUES, A. F.; GOMES, O. M.; PIGOSSI, N. A glicerina e a preservação de tecidos. **Revista Paulista de Medicina**, v. 93, n. 3-4, p. 81-84, 1979.

LINS, B. T.; RAHAL, S. C.; LOUZADA, M. J.; DALMAS, J. C.; SELMI, A. L. Mechanical resistance of the modified stabilization method for the tibial tuberosity advancement technique. *Ex vivo* experimental study in dogs. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 467-472, 2009.

LIPTAK, J. M.; EHRHART, N.; SANTONI, B. G.; WHEELER, D. L. Cortical bone graft and endoprosthesis in the distal radial of dogs: a biomechanical comparison of two different limb-sparing techniques. **Veterinary Surgery**, v. 35, n. 2, p. 150-160, 2006.

LOPES, F.B.; SILVA, A.L. Enxerto autólogo de peritônio-fáscia-músculo, no canal inguinal de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 1 p. 88-92, 2005.

MACEDO, C. A. S.; GALIA, C. R.; SILVA, A. L. B.; CÉSAR, P. C.; SANCHES, P. R. S.; DUARTE, L. S.; MULLER, L. M. Comparação da resistência à compressão do osso bovino congelado e liofilizado. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 4, n. 9/10, 1999.

MAGNAGHI, A.; MATTAR JR., R.; AZZE, R. J.; OLIVEIRA, N. R. B.; CANEDO, A.; RESENDE, M. U.; PRADO, J. A. Estudo experimental sobre as propriedades histológicas dos enxertos de tendões liofilizados. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 29, p. 205-10, 1994.

MAZZANTI, A.; PIPPI, N. L.; RAISER, A. G.; GRAÇA, D. L.; FARIA, R. X.; OLIVEIRA, L. O.; GUIMARÃES, L. D. Reparação do diafragma de cães com segmento muscular homólogo ortotópico conservado em solução supersaturada de açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 1, p. 21-26, 2001.

MAZZANTI, A.; RAISER, A. G.; PIPPI, N. L.; ALVES, A. S.; FARIA, R. X.; ALIEVI, M. M.; BRAGA, F. A.; SALBEGO, F. Z. Hernioplastia diafragmática em cão com pericárdio bovino conservado em solução supersaturada de açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 6, p. 677-684, 2003.

McILWRAITH, W. Doenças das articulações, tendões, ligamentos e estruturas relacionadas. IN: STASHAK, T. S. **Claudicação em equinos segundo Adams**. 4 ed, São Paulo: Roca, 1994. 465-478p.

MEARS, D. C. The tissues of the musculoskeletal system; In: **Materials and orthopaedic surgery**, Baltimore, Williams & Wilkins, 1979, p. 762.

MELO FILHO, E. V. Placas ósseas corticais bovina: avaliações mecânicas e microbiológica após conservação em diferentes meios. 2010. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre.

MELO E. G.; REZENDE C. M. F.; BORGES, A. P. B.; NOBREGA P. I. Aloenxerto ósseo cortical: avaliação do seu emprego em tibia de cão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 4, p. 385-394, 1998.

MONTAVON, P. M.; DAMUR, D. M.; TEPIC, S. Advancement of the tibial tuberosity for the treatment of cranial cruciate deficient canine stifle. Proceedings, 1st World Orthopedic Veterinary Congress, Munich, Germany, p. 152, 2002 **citado por** SELMI, A. L.; LINS, B. T.; BARBUDO-SELM, G. R. et al. Centro instantâneo de movimento, na avaliação ex-vivo da reconstrução extra-articular fabelo-tibial, após transecção do ligamento cruzado cranial em cães. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.875-880, 2003.

MORRIS, E.; LIPOWITZ, A. J. Comparison of tibial plateau angles in dogs with and without cranial cruciate ligament injuries. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, p. 363–366, 2001.

MOTA, F. C. D.; EURIDES, D.; BELLETTI, M. E. FREITAS, P. M. C.; MASTRANTONIO, E. C.; SHIMIZU, B. J.; CARDOSO, J. R.; MARTINS, A. K. Análise ultra-estrutural da túnica

muscular do intestino delgado de cães preservado em diferentes meios. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 1, p. 13-17, 2002.

MRUÉ, F. Substituição do esôfago cervical por prótese biosintética de látex. Estudo experimental em cães. 1996. 86f. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

OLIVEIRA, A. O.; ALVARENGA, J. Membrana amniótica preservada em glicerina no reparo de feridas cutâneas de membros locomotores de eqüinos. **Ciência Rural**, v. 28, n.4, p.623-628, 1998.

OLIVEIRA, L. P.; PENTEADO, L. O. S.; GOMES, B. A.; RODRIGUES, F. P.; CAVALCANTI, E. H. S.; MESQUITA, K. C. Análise química e estrutural de implantes ortopédicos de aço inoxidável. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.39, n.3, p.123-131, 2004.

PADILHA FILHO, J. G.; PENHA, L. H. C.; SOUZA, S. F. Uso do enxerto ósseo cortical bovino conservado em glicerina a 98% na osteotomia femoral em gatos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1071-1078, 2008.

PATTERSON, R. H.; SMITH, G. K.; GREGOR, T. P.; NEWTON, C. D. Biomechanical stability of four cranial cruciate ligament repair techniques in the dog. **Veterinary Surgery**, v. 20, n. 2, p. 85-90, 1991.

PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L.; DECAMP, C. E. The stifle joint. IN: PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L.; DECAMP, C. E.: **Brinker, Piermattei, and Flo's Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair**. (ed 4). Philadelphia, PA, Saunders, 2006, p. 562–632.

PIGOSSI, N. A glicerina na conservação de dura-máter: estudo experimental. 1967. 83 f. Tese (Livre Docência). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

PIGOSSI, N.; RAIÁ, A.; LEX, A.; GAMA, A. H.; SIMONSEN, O.; HADDAD, J.; STOLF, N.; ZERBINI, E. J.; MINITI, A.; TENUTO, R. Estudo experimental e clínico sobre o emprego como implante da dura-máter homogênea conservada em glicerina à temperatura ambiente. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 17, n. 8, p. 263-278, 1971.

PINHO, E. C. C. M.; FARIA E SOUSA, S. J.; SCHAUD, F.; LACHAT, J. J.; COUTINHO-NETTO, J. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 67, n. 1, p. 27-32, 2004.

PRATA, M. B.; HADDAD, C. M.; GOLDENBERG, S. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea. Estudo experimental em rato. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 3, n. 2, p. 43-48, 1988.

RACKARD, S. Cranial cruciate ligament rupture in the dog. **Irish Veterinary Journal**, v. 49, n. 7, p. 481-484, 1996.

RAISER, A.G. Homoimplante ortotópico de tendão calcâneo comum, preservado em glicerina a 98%, e tratado com radiação laser arseneto de gálio em cães. 2000. 80f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

RAISER, A. G.; BADKE, M. R. Terapia de infecções cirúrgicas com jatos de solução salina e açúcar granulado. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, v. 9, n. 6, p. 125-128, 1987.

RAPPETI, J. C. S.; PIPPI, N. L.; BRAGA, F. V. A.; SOUZA, G. S.; D'AVILA COELHO, G.; PIGATTO, G. M.; NOVOSAD, D.; HECKLER, M. C. T.; KROLIKOWSKI, G.; AMÊNDOLA, G.; GODOY, C.; CARDONA, R. O. C. Homoimplante de costela conservada em solução supersaturada de açúcar a 300% ou em açúcar in natura na reconstituição experimental de costelas em gatos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1712-1718, 2007.

RHO, J. Y.; KUHN-SPEARING, K.; ZIOUPOS, P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. **Medical Engineering & Physics**, v. 20, p. 92-102, 1998.

RODGERS, B. M.; MAHER, J. W.; TALBERT, J. L. The use of preserved human dura for closure of abdominal wall and diaphragmatic defects. **Annals of Surgery**, v. 193, n. 5, p. 606-611, 1981.

SADER, S. L.; COUTINHO NETTO, J.; BARBIERI NETO, J., MAZZETTO, S. A.; ALVES JR., P.; VANNI, J. C.; SADER, A. A. Substituição parcial do pericárdio de cães por membrana de látex natural. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 15, n. 4, p. 338-344, 2000.

SALBEGO, F. Z.; RAISER, A. G. Teste de resistência biomecânica de implantes ósseos corticais conservados em glicerina a 98% e submetidos a diferentes tempos de reidratação. In: Congresso do Colégio Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, 7., 2006, Santos, SP. **Anais...** Belo Horizonte: Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 58, supl., p. 77-78, 2006.

SANDMAN, K. M.; HARARI, J. Canine cranial cruciate ligament repair techniques: Is one best? **Veterinary Medicine**, v. 96, p. 850-855, 2001.

SCHULZ, K. Afecções articulares. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. Cap. 33, p.1143-1315.

SELMI, A. L.; LINS, B. T.; BARBUDO-SELMI, G. R.; MENDES, G. M. Centro instantâneo de movimento, na avaliação ex-vivo da reconstrução extra-articular fabelo-tibial, após transecção do ligamento cruzado cranial em cães. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.875-880, 2003.

SELMI, A. L.; PADILHA FILHO, J. G.; LINS, B. T.; MENDES, G. M.; EIMANTAS, G. C. Incisuroplastia troclear e estabilização articular após transecção do ligamento cruzado cranial. Estudo clínico e radiográfico em cães. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1360-1366, 2007.

SISSON, S. Esplanologia Geral. IN: SISSON, S.; GROSSMAN, J.D.; GETTY, R. **Sisson/Grossman Anatomia dos Animais Domésticos Getty**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 5. ed, v. 1; cap. 6; pg. 94-99.

SLOCUM, B.; DEVINE, T. Cranial tibial thrust: a primary force in the canine stifle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 183, p. 456–459, 1983.

SMITH, G. K.; TORG, J. S. Fibular head transposition for repair of cruciate-deficient stifle in the dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n. 187, p. 375–383, 1985.

STEVENSON, S. Enxertos ósseos. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. cap. 127, p. 1014–1030.

URIST, M. R. Bone: formation by autoinduction. **Science**, n. 3698, v. 150, p. 893-899, 1965.

VASSEUR, P. B. Articulação do joelho. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1998. V.2, cap.137, p.2149-2180.

VASSEUR, P. B. Stifle joint. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 2003. Cap. 147, p. 2090-2133.

VASSEUR, P. B.; BERRY, C. R. Progression of stifle osteoarthritis following reconstruction of the cranial cruciate ligament in 21 dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, n. 28, p. 129–136, 1992.

VIDA, J. T.; POOYA, H.; VASSEUR, P. B.; GARCIA, T. C.; SCHULZ, K.; STOVER, S. M. Biomechanical comparison of orthofix pins and cortical bone screws in a canine humeral condylar fracture model. **Veterinary Surgery**, v. 34, n. 5, p. 491-498, 2005.

VOLPON, J. B.; COSTA, R. M. P. Ensaio mecânico e uso clínico do enxerto homogêneo processado. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 35, n. 6, p. 219-224, 2000.

WANG, X.; BANK, R. A.; TEKOPPELE, J. M.; AGRAWAL, C. M. The role of collagen in determining bone mechanical properties. **Journal of Orthopaedic Research**, n. 19, p. 1021-1026, 2001.

WEISS, R. G.; NECTOUX FILHO, J. L.; FALLEIRO, R. P. T.; LEONARDI, D. F.; PIVA, A. V.; DORNELES, R. P. Tratamento da ferida operatória infectada: açúcar, uma nova opção. **Revista AMRIGS**. v. 28, p. 337-342, 1984.

WILKE, V. L.; CONZEMIUS, M. G.; BESANCON, M. F.; EVANS, R. B. Comparison of tibial plateau angle between clinically normal grey-hounds and labrador retrievers with and without rupture of the cranial cruciate ligament. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 221, n. 10, p. 1426–1429, 2002.

WILKE V. L.; ROBINSON, D. A.; EVANS, R. B.; ROTHSCHILD, M. F.; CONZEMIUS, M. G. Estimate of the annual economic impact of treatment of cranial cruciate ligament injury in dogs in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 10, p. 1604–1607, 2005.

WILLIAMS, D.F. **Biocompatibility of tissue analogs**. Boca Raton: CRC Press, 1985. 166p.

WILLIAMS, D.F. **Dictionary of biomaterials**. Liverpool: Liverpool University Press, 1999. 42p.

WOOD, M. B.; BISHOP, A. T. Massive bone defects of the upper limb: reconstruction by vascularized bone transfer. **Hand Clinics**, v. 23, n. 1, p. 49-56, 2007.

ZELTZMAN, P. A.; PARÉ, B.; JOHNSON, G. M.; ZELTZMAN, V.; ROBBINS, M. A.; GENDREAU, C. L. Relationship between age and tibial plateau angle in dogs with cranial cruciate rupture. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 41, n. 2, p. 117-20, 2005.

ZILLOTTO, L.; FANTINATTI, A. P.; DALECK, C. R.; PADILHA FILHO, J. G.; SOUZA, A. P.; DINIZ, P. P. V. P. Utilização de implante ósseo cortical alógeno conservado em glicerina

para preservação de membro torácico: estudo experimental em cães. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 107-114, 2003.

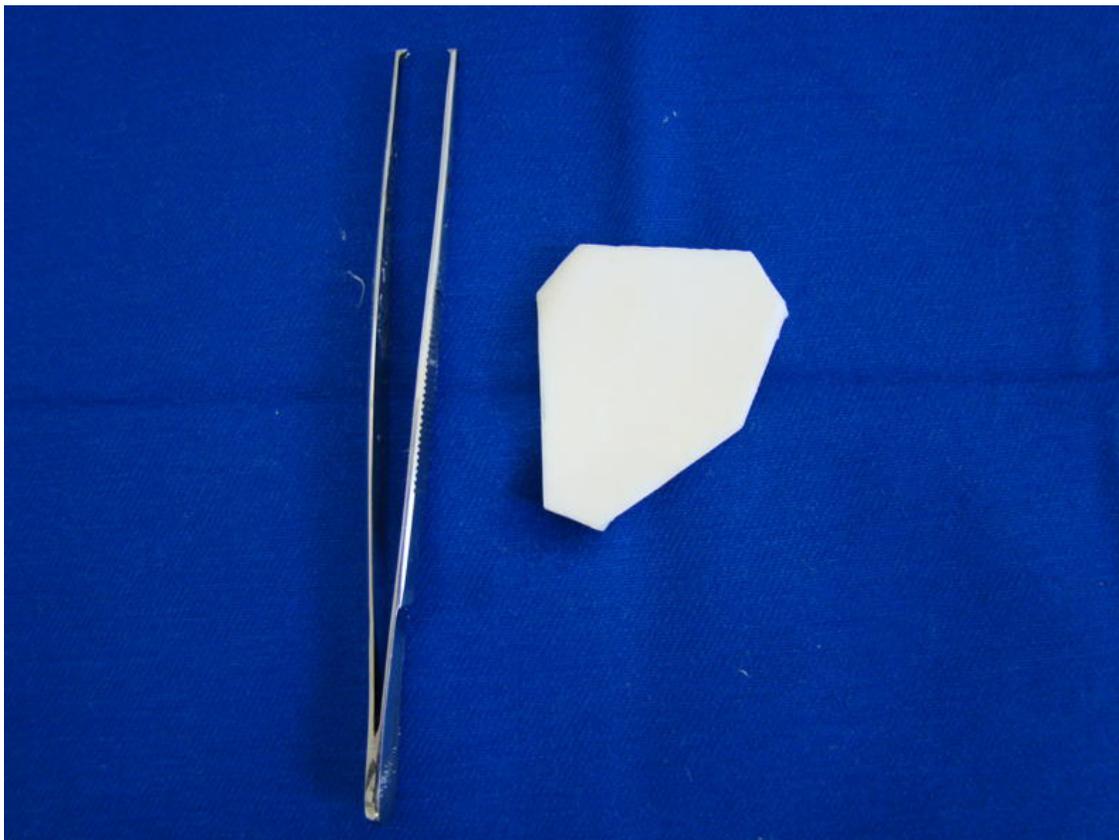
ANEXOS

Figura 1. Placa óssea confeccionada de osso cortical da diáfise femoral de bovino.

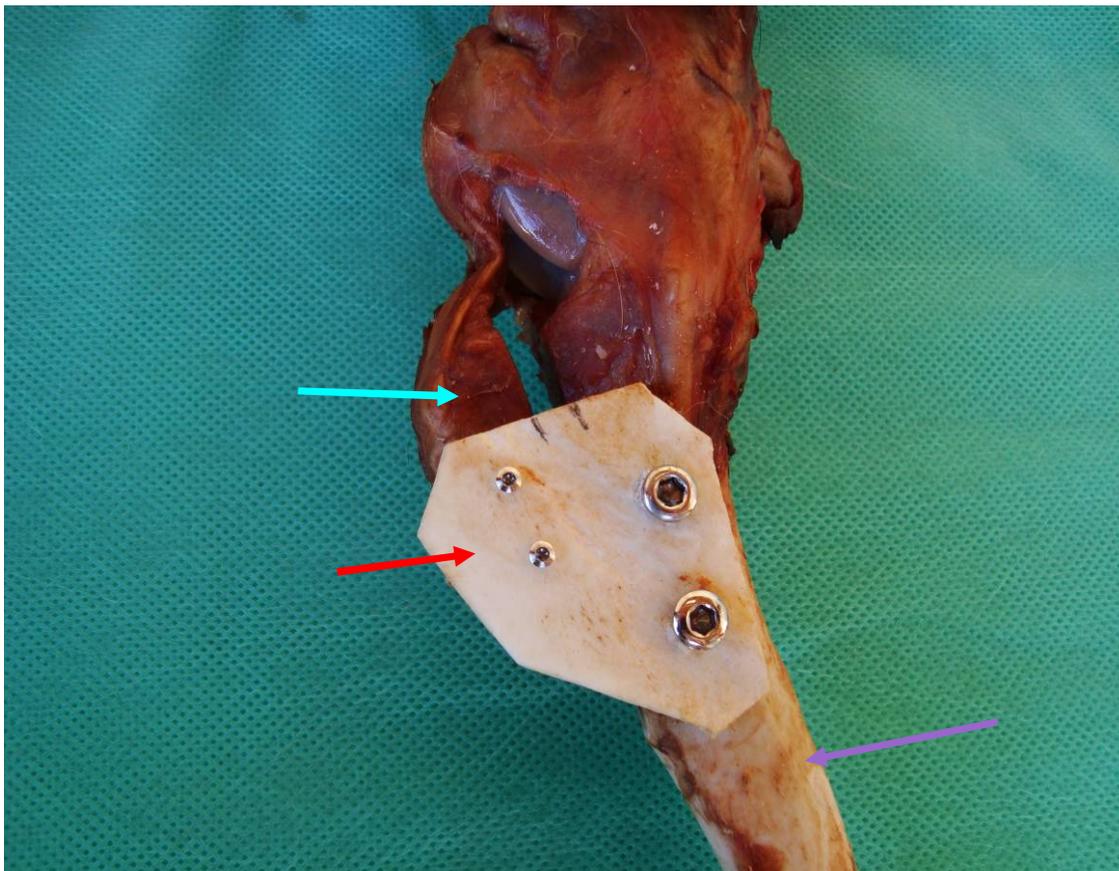


Figura 2. Técnica de estabilização articular após desmotomia do ligamento cruzado cranial com avanço da tuberosidade da tibia em cães *ex vivo*. Observe a placa óssea (seta vermelha) fixada na tuberosidade da tibia (seta azul) e na tibia (seta lilás).

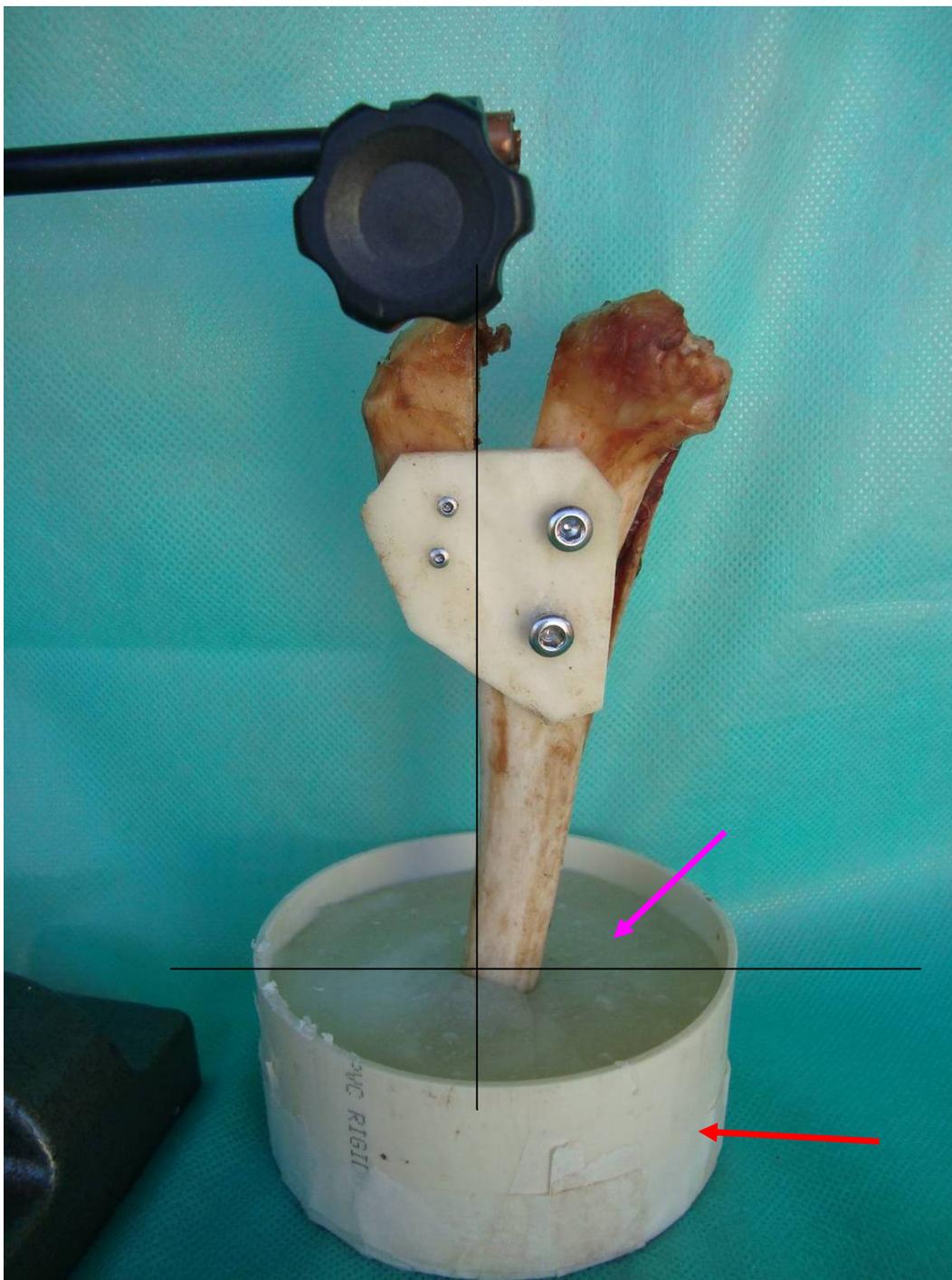


Figura 3. Espécime (tíbia + placa) fixada em base de PVC (seta vermelha) preenchida com resina acrílica (seta rosa), com auxílio de suporte mecânico ajustável. Observe o posicionamento do pino de força perpendicular (traço preto vertical) à base o qual foi fixada a tíbia (traço preto horizontal).



Figura 4. Máquina universal de ensaios EMIC®, do Laboratório de Pesquisas em Materiais da Universidade de Uberaba.

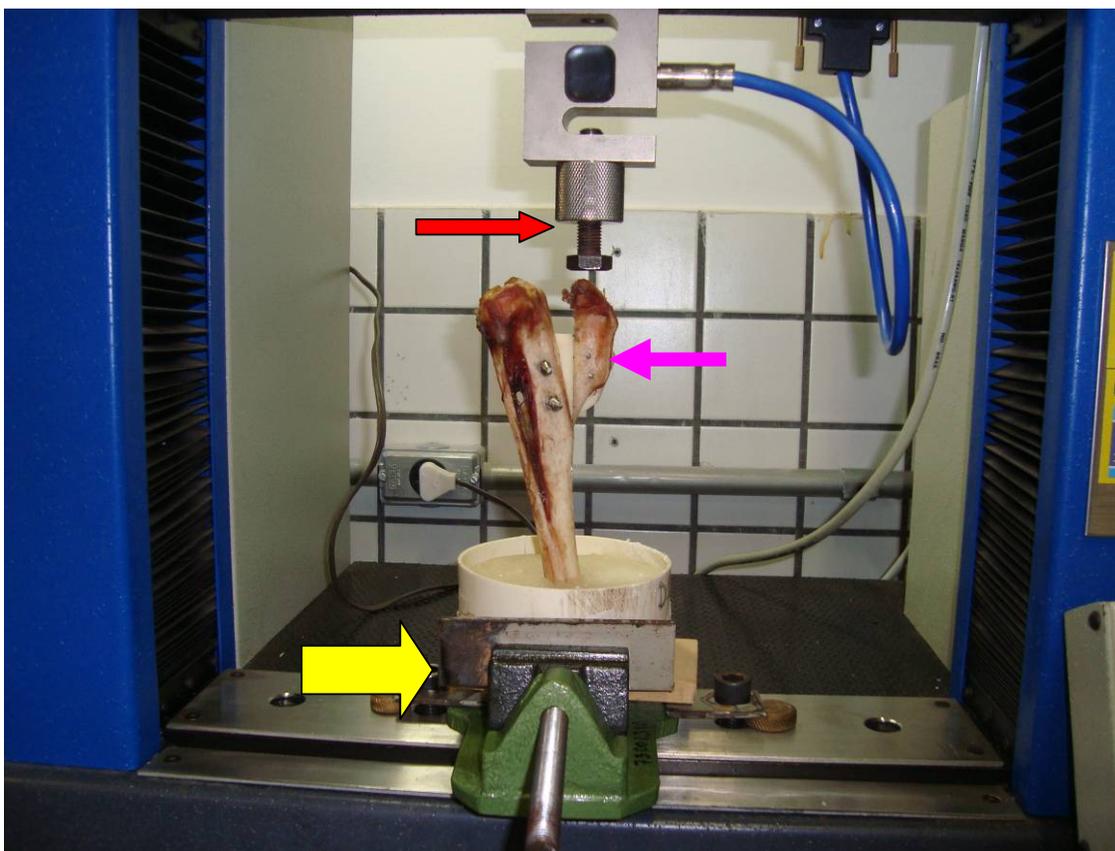


Figura 5. Posicionamento do espécime (tíbia + placa) na máquina universal de ensaios mecânicos. Observe a base de PVC fixada a uma morsa ajustável (seta amarela) acoplada à máquina de ensaios, e o pino de aplicação de força (seta vermelha) perpendicular a tuberosidade da tíbia (seta rosa).

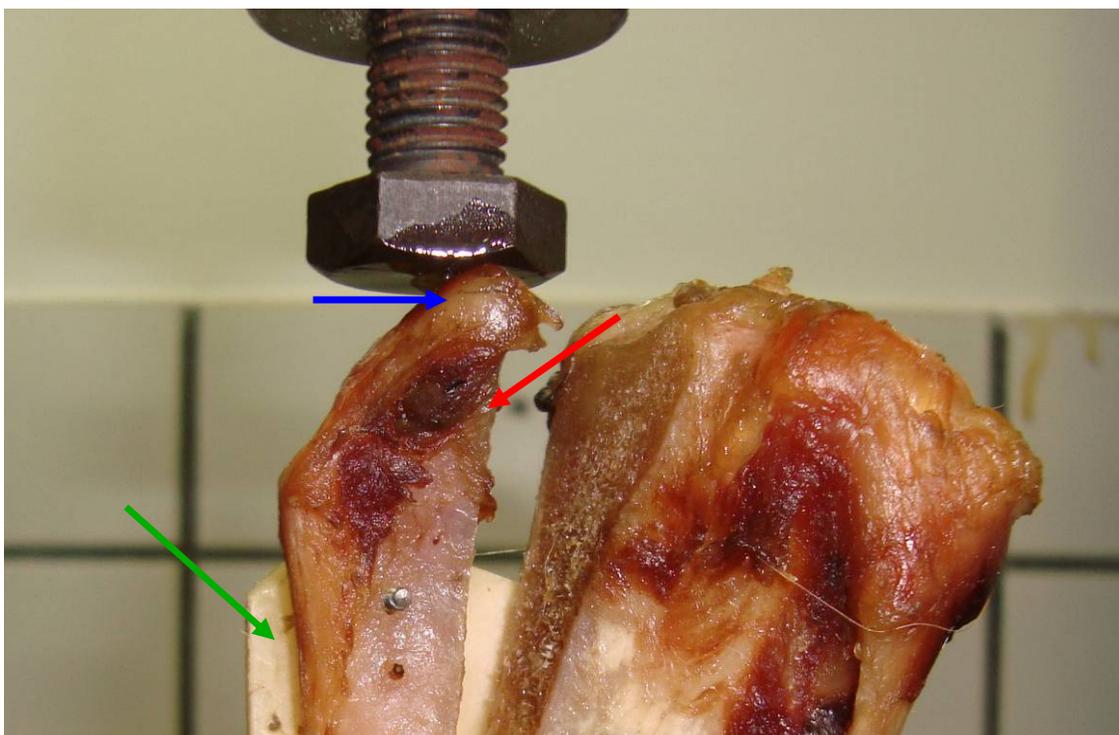


Figura 6. Ensaio mecânico destrutivo de compressão do espécime (tíbia + placa). Observe a posição perpendicular do pino de aplicação de força (seta azul) sobre a tuberosidade tibial deslocada (seta vermelha), a qual está fixada por meio de placa confeccionada de osso bovino (seta verde).

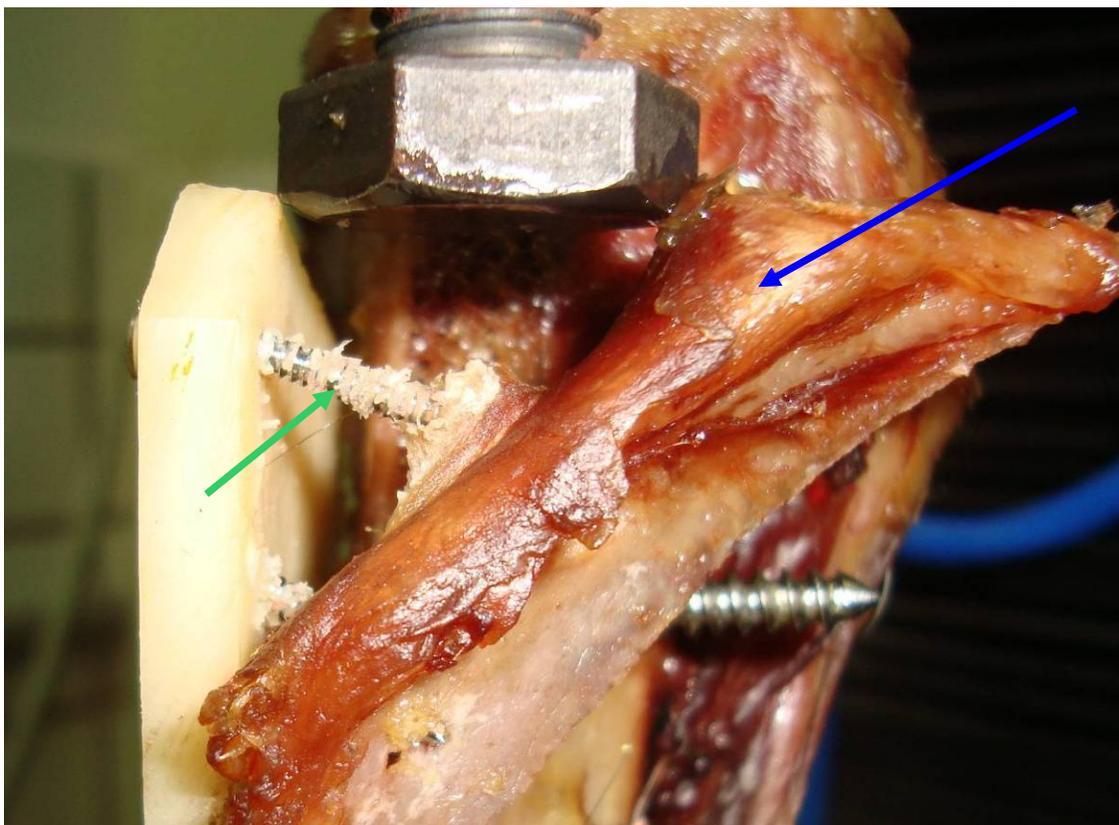


Figura 7. Ensaio mecânico destrutivo de compressão da tíbia de cães *ex vivo* após avanço e fixação da sua tuberosidade por meio de placa de osso bovino. Observe deformação do parafuso cortical (seta verde), e deslocamento da tuberosidade no sentido lateral à placa óssea (seta azul).

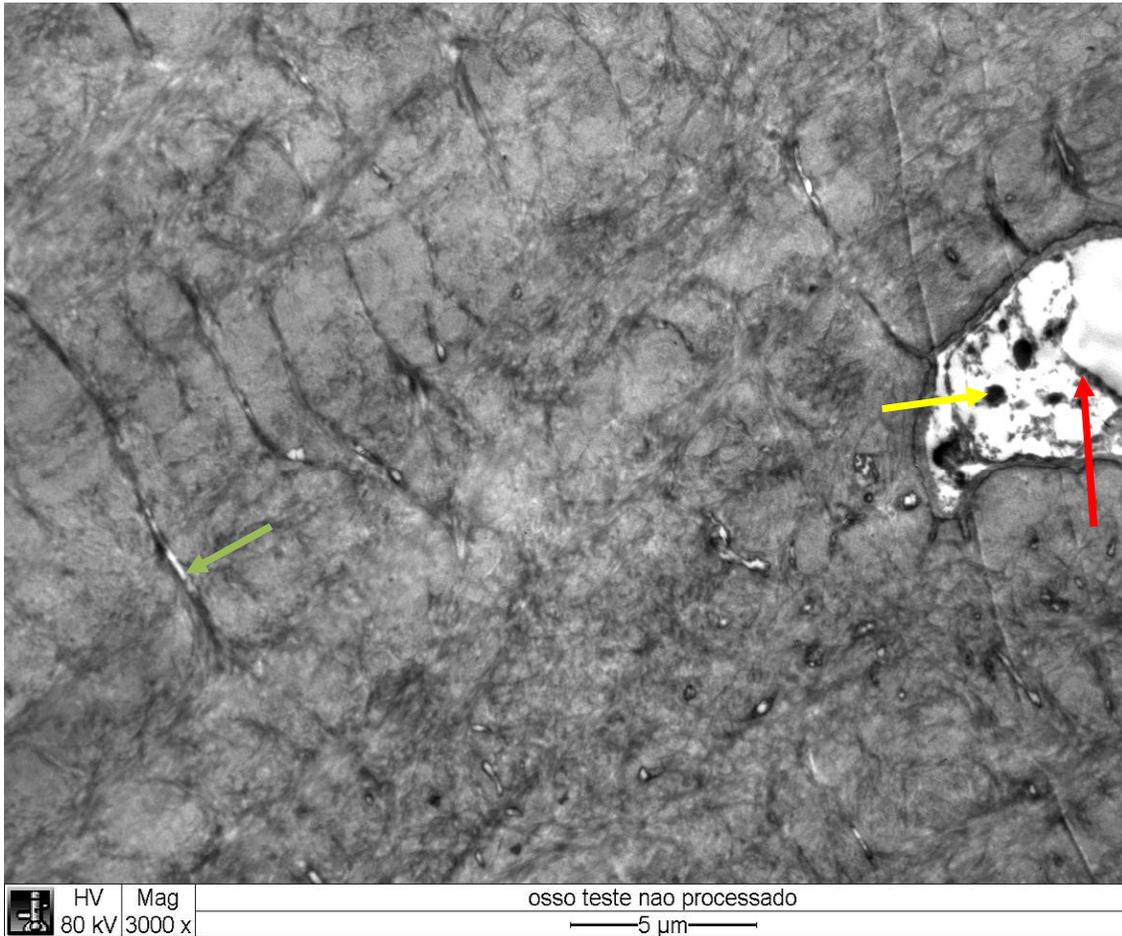


Figura 8. Aspecto ultra-estrutural do osso cortical bovino após conservação em solução saturada de sal (G_P). Observe contorno nuclear irregular (seta vermelha), presença de cromatina desnaturada (seta amarela), e canáliculos celulares sem prolongamentos citoplasmáticos (seta verde) (3000x).

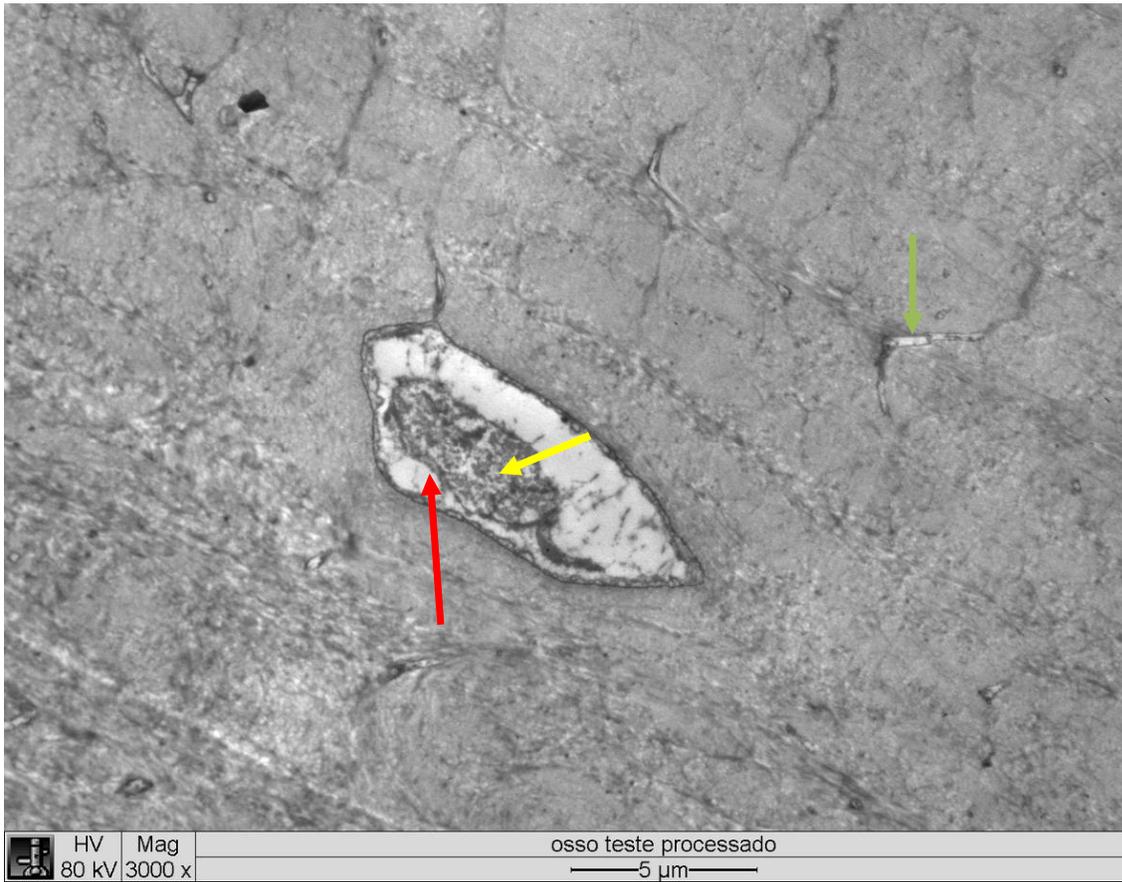


Figura 9. Aspecto ultra-estrutural do osso cortical bovino após tratamento químico e conservação em solução saturada de sal (G_{PS}). Observe contorno nuclear irregular (seta vermelha), presença de cromatina desnaturada (seta amarela), e canáliculos celulares sem prolongamentos citoplasmáticos (seta verde) (3000x, 80 kV).

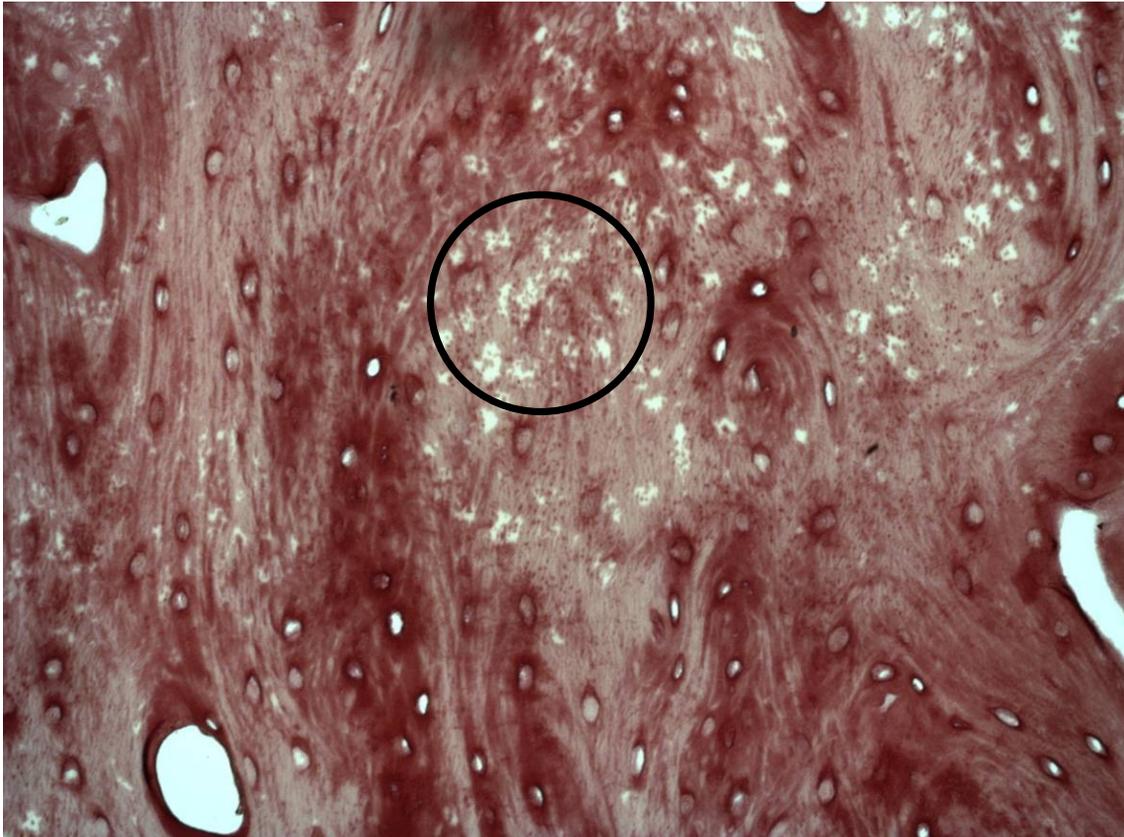


Figura 10. Fotomicrografia do osso cortical bovino após tratamento químico e conservação em solução saturada de sal (G_{PS}). Observe falhas na matriz de colágeno (círculo). Picrosirius – 20x.



Figura 11. Fotomicrografia do osso cortical bovino após conservação em solução saturada de sal (G_s). Observe ausência de alteração na arquitetura da matriz óssea (círculo), com células apresentando mínimo conteúdo celular e citoplasmático (seta vermelha). HE – 20x.

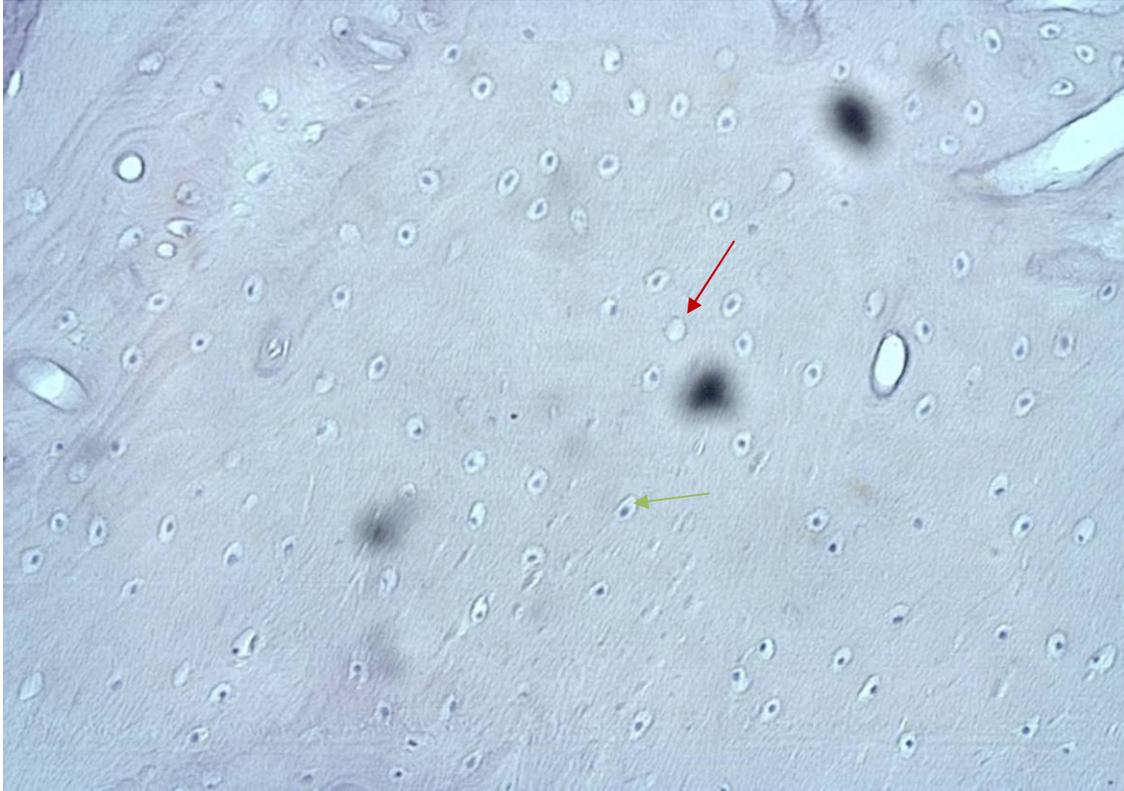


Figura 12. Fotomicrografia do osso cortical bovino após tratamento químico e conservação em solução saturada de sal (G_{PS}). Observe células com ausência de material celular (seta vermelha) e com material celular preservado (seta verde). HE – 20x.

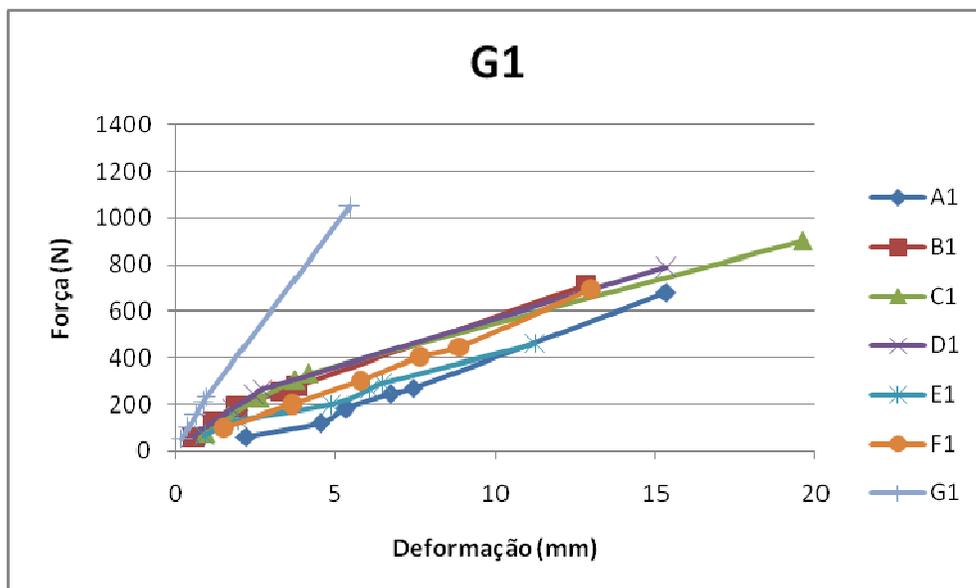


Figura 13. Gráfico de dispersão dos espécimes que tiveram a tuberosidade da tíbia reparada com placas do G_{PS} (G1). Valores para construção dos espécimes relativos a 25, 50, 75, 100 e 110% do peso, força e deformação máximas.

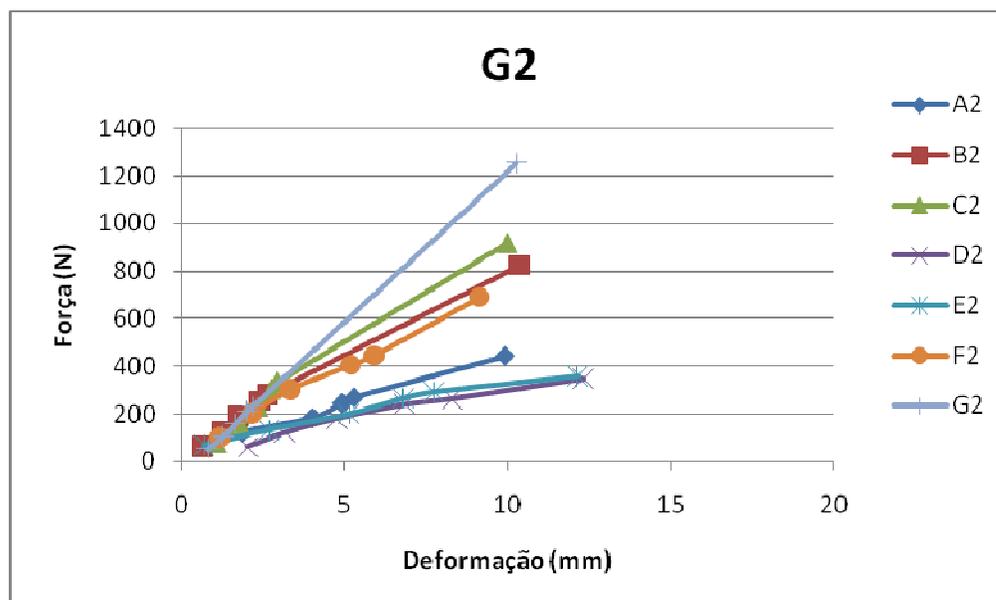


Figura 14. Gráfico de dispersão dos espécimes que tiveram a tuberosidade da tíbia reparada com placas do G_S (G2). Valores para construção dos espécimes relativos a 25, 50, 75, 100 e 110% do peso, e força e deformação máximas.

Tabela 1. Conversão do peso dos animais de quilograma (Kg) em Newtons (N).

Animal	Peso corporal (N)	25%	50%	75%	100%	110%
A	245.3	61.3	122.6	183.9	245.3	269.8
B	255.1	63.8	127.5	191.3	255.1	280.6
C	304.1	76.0	152.1	228.1	304.1	334.5
D	240.3	60.1	120.2	180.3	240.3	264.4
E	265.9	66.5	132.9	199.4	265.9	292.4
F	405.2	101.3	202.6	303.9	405.2	445.7
G	211.9	53.0	105.9	158.9	211.9	233.1

Tabela 2. Valores obtidos das curvas de força x deformação dos espécimes que tiveram a tuberosidade da tíbia reparada com placas do G_{PS}. Os valores percentuais (%) são relativos à porcentagem de peso do animal, calculado após o óbito. Valores de força expressos em Newtons (N) e deformação em milímetros (mm).

ESPÉCIMES														
	A		B		C		D		E		F		G	
	Def.	Força												
25%	2.18	61.3	0.56	63.8	0.92	76.0	0.50	60.1	0.88	66.5	1.47	101.3	0.17	53.0
50%	4.53	122.6	1.15	127.5	1.67	152.1	1.08	120.2	1.96	132.9	3.64	202.6	0.37	105.9
75%	5.32	183.9	1.90	191.3	2.61	228.1	1.78	180.3	4.86	199.4	5.77	303.9	0.60	158.9
100%	6.74	245.3	3.27	255.1	3.72	304.1	2.42	240.3	6.04	265.9	7.63	405.2	0.83	211.9
110%	7.42	269.8	3.77	280.6	4.14	334.5	2.70	264.4	6.46	292.4	8.83	445.7	0.93	233.1
Máx.	15.3	678.3	12.8	712.8	19.6	901.7	15.3	789.7	11.2	461.0	13.0	693.3	5.4	1046.1

Máx – Força e deslocamento máximos do espécime testado.

Def - Deformação

Tabela 3. Valores obtidos das curvas de força x deformação dos espécimes que tiveram a tuberosidade da tíbia reparada com placas do G_S. Os valores percentuais (%) são relativos à porcentagem de peso do animal, calculado após o óbito. Valores de força expressos em Newtons (N) e deformação em milímetros (mm).

ESPÉCIMES														
	A		B		C		D		E		F		G	
	Def.	Força												
25%	0.68	61.3	0.64	63.8	1.09	76.0	2.03	60.1	0.68	66.5	1.15	101.3	0.79	53.0
50%	1.85	122.6	1.22	127.5	1.81	152.1	3.17	120.2	2.68	132.9	2.15	202.6	1.28	105.9
75%	4.02	183.9	1.72	191.3	2.35	228.1	4.75	180.3	5.13	199.4	3.33	303.9	1.64	158.9
100%	4.92	245.3	2.38	255.1	2.77	304.1	6.85	240.3	6.79	265.9	5.18	405.2	2.02	211.9
110%	5.28	269.8	2.63	280.6	2.95	334.5	8.29	264.4	7.74	292.4	5.89	445.7	2.18	233.1
Máx.	9.9	444.7	10.3	824.3	10.0	918.9	12.3	348.6	12.1	359.0	9.1	690.4	10.3	1253.8

Máx – Força e deslocamento máximos do espécime testado.

Def - Deformação

Tabela 4. Valores de força e deformação máxima dos grupos G_{PS} e G_S , média e desvio padrão.

G_{PS}	Deformação (mm)	Força máxima (N)	G_S	Deformação (mm)	Força máxima (N)
A1	15.3	678.3	A2	9.9	444.7
B1	12.8	712.8	B2	10.3	824.3
C1	19.6	901.7	C2	10.0	918.9
D1	15.3	789.7	D2	12.3	348.6
E1	11.2	461.0	E2	12.1	359.0
F1	13.0	693.3	F2	9.1	690.4
G1	5.4	1046.1	G2	10.3	1253.8
Média	13.24	754.70	Média	10.59	691.36
Desv. Pad.	4.37	185.00	Desv. Pad.	1.19	335.30

Tabela 5. Análise microbiológica da solução de reidratação das placas ósseas e de amostras do sobrenadante do meio conservante, anterior (PC) e após 45 dias de conservação (AC) em solução saturada de sal (G_S) e após tratamento químico e conservação em solução saturada de sal (G_{PS}).

	GRUPOS							
	G_{PS}				G_S			
	Solução de reidratação		Sobrenadante		Solução de reidratação		Sobrenadante	
	PC	AC	PC	AC	PC	AC	PC	AC
MEIOS	PC	AC	PC	AC	PC	AC	PC	AC
BHI AEROBIOSE	n/a	-	-	-	n/a	-	-	+
BHI ANAEROBIOS E	n/a	-	-	-	n/a	-	-	-
SABOURAUD 37° C	n/a	-	-	-	n/a	-	-	-
SABOURAUD TEMPERATUR A AMBIENTE	n/a	-	-	-	n/a	+	-	+

+ presença de microorganismos

- ausência de microorganismos

n/a não avaliado