

## REPARO DE FRATURA ÓSSEA DIAFISÁRIA INDUZIDA POR MATRIZ DE OSSO DESMINERALIZADA E FIXADA COM PINO INTRAMEDULAR<sup>4</sup>

GILDA M. ROSSINHOLI<sup>1</sup>  
MARINA O. KISHIMA<sup>1</sup>  
SONIA M.A. JANENE<sup>1</sup>  
NILVA F. MASCARENHAS<sup>2</sup>  
CLAUDECIR A. SILVA<sup>3</sup>

ROSSINHOLI, Gilda M.; KISHIMA, Marina O.; JANENE, Sonia M.A.; MASCARENHAS, Nilva F.; SILVA, Claudécir A. Reparo de fratura óssea diafisária induzida por matriz de osso desmineralizada e fixada com pino intramedular. **Semina: Ci. Biol./Saúde**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 88 - 91, jun. 1992.

### RESUMO

O objetivo deste trabalho é verificar a capacidade indutora de matriz óssea desmineralizada em falhas no rádio de coelhos, fixadas por pino intramedular. Os animais foram divididos em 3 grupos: Grupo 1 - a falha foi fixada com pino intramedular; Grupo 2 - a falha foi fixada com pino intramedular e preenchida com matriz óssea desmineralizada; Grupo 3 - a falha foi somente preenchida com matriz óssea desmineralizada. Foi feito acompanhamento radiológico, a intervalos de 3 semanas, durante 12 semanas. As avaliações macroscópica e histológica foram feitas na 12<sup>a</sup> semana. Os resultados radiológicos no grupo 1, na 3<sup>a</sup> semana mostram falha óssea radiotransparente, enquanto que 12<sup>a</sup> semana há imagem radiopaca que preenche parcialmente a falha. No grupo 2, há pequena imagem radiopaca central na 3<sup>a</sup> semana, que aumenta consideravelmente na 12<sup>a</sup> semana. No grupo 3, a imagem radiopaca, na 3<sup>a</sup> semana é evidente no centro da falha, e há preenchimento total na 12<sup>a</sup> semana. Macroscopicamente e histologicamente a intensidade de neoformação óssea corresponde a evolução radiológica nos 3 grupos estudados. Os resultados mostram que houve retardo no preenchimento da falha óssea, nos grupos com fixação. Isso nos leva a deduzir que a utilização do PIM facilita a fixação, no entanto, retarda a neoformação óssea por levar à alterações circulatórias, dado a destruição de parte da medula óssea.

**PALAVRAS-CHAVE:** Matriz óssea descalcificada (MOD), Enxerto ósseo - ossos longos, Pino intramedular (PIM).

### 1 - INTRODUÇÃO

Enxertos ósseos homólogos, com matriz óssea desmineralizada, têm sido amplamente estudados em várias espécies de animais (REDDI & HUGGINS, 1973; URBINATI, 1978; VOLPON, 1980; ROSSINHOLI, 1981, IDERHA, 1982, ROSSINHOLI et al, 1986).

Ainda, CARNESALE & SPANKUS (1959) relataram que o implante análogo foi o que apresentou melhor resultado. Implantes heterólogos (STRINGA, 1957) foram menos recomendados devido à indução de uma intensa resposta imunológica. Entretanto o implante homólogo (MAASTZ et al, 1954) mostrou ser melhor tolerado que o heterólogo e inferior ao autólogo. Mas apresentou vanta-

2 - Departamento de Patologia Geral - CCB/UUEL

2 - Departamento de Clínica Veterinária - CCA/UUEL

3 - Estagiário da Disciplina de Patologia Geral - CCB/UUEL

gens em termos de incorporação e ainda ser disponível em grande quantidade e poder ser armazenado.

A matriz óssea desmineralizada (MOD) pode ser obtida pela descalcificação de fragmentos de ossos longos possibilitando obtenção de proteínas morfogenéticas, que é o seu constituinte principal. O implante de MOD, induz células indiferenciadas do animal receptor a se transformarem em tecido ósseo pelo processo de ossificação endocondral (URIST, 1965; URIST et al, 1967; REDDI & HUGGINS, 1973).

LING (1986) descreve que a fixação por pino intramedular tem várias desvantagens, pois primariamente, produz o trauma cirúrgico, ainda levando em conta os fatores mecânicos, vasculares e térmicos que estariam interferindo no processo. KESSLER et al (1986) estudando o efeito da fixação intramedular, observaram que diferentes tipos de pinos ocasionavam a destruição medular com consequente diminuição da irrigação sanguínea intra-óssea.

Como em Medicina Veterinária é rotina fraturas ósseas extensas, principalmente em membros, o objetivo deste trabalho é verificar a capacidade indutora da MOD, em falhas ósseas no rádio de coelhos. Ainda, verificar se a fixação com o pino intramedular leva à interferência no processo de indução óssea pela matriz óssea desmineralizada.

## 2 – MATERIAL E MÉTODO

### 2.1 - Preparo de matriz óssea desmineralizada

Para o preparo da MOD foram utilizados 5 coelhos da raça Nova Zelândia fêmeas pesando entre 1,7 a 2,0 kg, com 120 dias de idade.

Após sacrifício, foram retirados os ossos longos: fêmur, tíbia, úmero, rádio e ulna, utilizando as diáfises, após secção das epífises. Das diáfises foram retiradas a medula e todo tecido mole aderido. Em seguida, a cortex das diáfises eram lavadas exaustivamente em água corrente e quebradas em pequenos fragmentos. Os fragmentos eram colocados em solução de etanol-clorofórmio 1:1 durante 2 horas. Posteriormente desmineralizado em HCl 0,6N sob agitação magnética constante durante 2 horas (REDDI & HUGGINS, 1973) em geladeira com passagem de corrente elétrica através de 2 eletrodos conforme GONÇALVES & OLIVEIRO (1965). Em sequência usou-se CaCl<sub>2</sub> 2N durante 2 horas em geladeira. EDTA 0,5N durante 30 minutos em geladeira, sempre mantendo agitação constante e a passagem de corrente elétrica. LiCl 8N durante 4 horas em geladeira, finalizando com banho maria a 55°C. Em seguida os fragmentos foram lavados em água destilada, separados em pequenas partes e armazenados em congelador.

### 2.2 - Tratamento dos animais

Foram utilizados 9 coelhos machos da raça Nova Zelândia pesando de 1,7 a 2,0 kg com 120 dias, do Biotério

da UEL. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais e distribuídos em grupos conforme o tratamento da falha óssea.

– Grupo 1: falha óssea com pino intramedular, sem MOD (3 animais);

– Grupo 2: falha óssea com pino intramedular, com MOD (3 animais);

– Grupo 3: falha óssea com pino intramedular, com MOD (3 animais).

Após cuidados pré-operatórios de rotina, os animais foram pré-medicados com atropina\*, anestesiados com cloridrato de xilazina\*\* e cloridrato de quetamina\*\*\* e colocados em decúbito dorsal. Foi realizada uma incisão de 5 cm de comprimento na face extensora ou anterior do antebraço do coelho, seguida de isolamento dos músculos extensor radial do carpo, abductor longo do polegar e extensor comum dos dedos. Dessa maneira expôs-se o rádio de onde foi retirado um cilindro ósseo de 2 cm de comprimento utilizando-se uma serra circular acoplada a um aparelho de baixa rotação. A cada movimento da serra o campo era mantido umedecido com solução fisiológica. A seguir, nos animais do grupo 1, o rádio foi fixado por pino intramedular de Küntscher, seguindo técnica habitual. Os animais do grupo 2 receberam além do pino intramedular, fragmentos da MOD na falha e os animais do grupo 3, tiveram a falha óssea preenchida por MOD, sem qualquer outro tipo de fixação.

### 2.3 - Técnica radiológica (RAIOS X)

Exames radiográficos foram realizados no dia da cirurgia, e repetidos a cada 3 semanas até completarem 12 semanas. As imagens foram obtidas nas posições antero-posterior e lateral do antebraço dos animais. Os exames foram realizados no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina.

### 2.4 - Técnica histológica

O sacrifício dos animais foi feito da 12ª semana e após retirada do tecido mole aderido e análise macroscópica, os ossos foram fixados em solução de Bouin e descalcificados simultaneamente, sendo percorrido corrente elétrica conforme GONÇALVES & OLIVEIRO (1975). Após inclusão dos fragmentos em parafina, obteve-se cortes de 7 m. A coloração utilizada foi H.E.

## 3 – RESULTADOS

### 3.1 - Macroscópico

No grupo 1, o rádio de todos os animais apresentou-se com a falha óssea parcialmente reconstituída, deixando parte do pino intramedular não coberto por tecido neofirmado (Figura 1A). Os grupos 2 e 3 apresentaram reconstituição total com remodelação do rádio (Figura 1B, 1C).

\* Atropina; \*\* Rompum; \*\*\* Ketalar.

### 3.2 - Radiográfico

Nos animais do grupo 1, na 3ª semana (Figura 2A), não houve evidências de imagem radiopaca na falha óssea; na 12ª semana (Figura 2B), notou-se imagem radiopaca que não preencheu totalmente a falha óssea. Nos animais do grupo 2, na 3ª semana (Figura 2C) notou-se aparecimento de pequena imagem radiopaca na região central da falha óssea, que na 12ª semana (Figura 2D) apresentou-se preenchida, com maior densidade na região em contato direto com a MOD. Nos animais do grupo 3, na 3ª semana (Figura 2E), a imagem radiopaca foi evidente no centro da falha óssea, sendo que na 12ª semana (Figura 2F), houve preenchimento total da falha, com remodelação óssea completa, o que não ocorreu nos grupos 1 e 2. Os resultados radiológicos foram apresentados, nas figuras, apenas na 3ª e 12ª semana por serem nesses tempos mais evidentes a diferença entre os 3 grupos estudados.

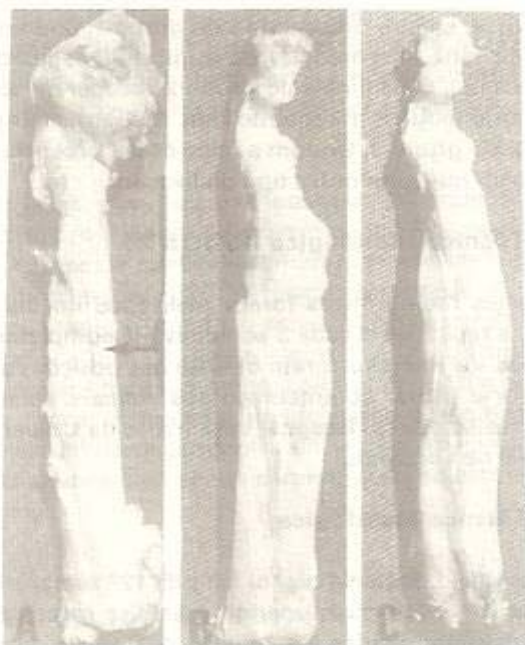


FIGURA 1 - Aspectos macroscópicos do rádio: 12ª semana.

- A - Rádio do animal nº 1 do grupo 1, com preenchimento parcial da falha óssea e presença do pino intramedular (130X).
- B - Rádio do animal nº 5 do grupo 2, com preenchimento total da falha óssea, encobrindo o pino e remodelação óssea (130X).
- C - Rádio do animal nº 8 do grupo 3, com preenchimento total da falha óssea e remodelação óssea (130X).

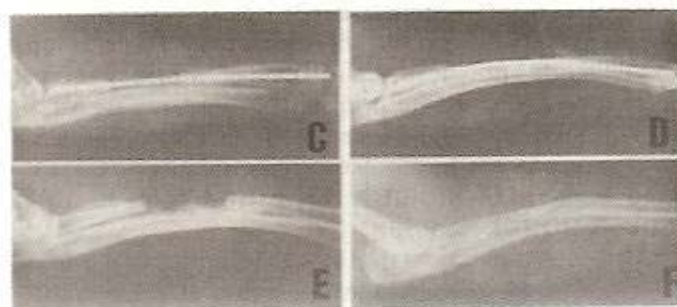


FIGURA 2 - Imagem radiológica dos animais nas 3ª e 12ª semanas: A (animal nº 1 do grupo 1); C (animal nº 5 do grupo 2); E (animal nº 8 do grupo 3) e na 12ª semana, B (animal nº 1 do grupo 1); D (animal nº 5 do grupo 2) e F (animal nº 8 do grupo 3).

### 3.3 - Histológico

Nos cortes histológicos, notou-se aderência entre rádio e ulna em todos animais. Nos 3 grupos estudados houve neoformação óssea, porém esta não foi avaliada quantitativamente. Nos grupos 1 e 2 notou-se presença de canal deixado pelo pino intramedular, mostrando evidente destruição medular.

## 4 - DISCUSÃO E CONCLUSÃO

O modelo experimental utilizado neste trabalho foi testado por VOLPON (1980) onde observou-se neoformação óssea em falhas diafisárias extensas em rádio de coelhos. Os osteoblastos não se dividem (YOUNG, 1962; OWEN, 1963), mas podem se originar à partir de células primitivas indiferenciadas quando estimulados. As proteínas morfogenéticas contidas na MOD, que são um fator estimulador de transformação de células indiferenciadas em condroblastos e osteoblastos (URIST, 1965, 1967; REDDI & HUGGINS, 1973), associadas às células endoteliais das paredes de vasos sinusóides do estroma da medula óssea que tem potencial osteogênico (OWEN, 1978), provavelmente são os fatores que contribuem para o evento da neoformação óssea, observada no presente trabalho.

Nos grupos onde foi utilizado pino intramedular, notou-se um retardo no preenchimento da falha óssea. Essa observação indica que a fixação por pino intramedular é uma conduta necessária, em determinadas situações, mas interfere no processo da indução óssea pelo seu caráter destrutivo da medula óssea, estando essa observação de acordo com as informações de KEESLER et al (1986) e LING (1986).

Os resultados obtidos levam a concluir que a utilização do pino intramedular é uma conduta que facilita a fixação da lesão, no entanto, retarda o processo de neoformação óssea. Contudo, isso não invalida a utilização concomitante da MOD e pino intramedular nas situações onde este é indispensável.

ROSSINHOLI, Gilda M.; KISHIMA, Marina, O.; JANENE, Sônia M.A.; MASCARENHAS, Nilva F.; SILVA, Claudécir A. Diaphyseal bone failure repair induced by demineralized bone matrix and fixed with intramedullary nail. *Semina: Ci. Biol./Saúde, Londrina, v. 13, n. 2, p. 88 - 91, June 1992.*

#### ABSTRACT

Our working hypothesis is to determine if bone neoformation is induced by morphogenetic proteins (BPM) in the presence of intramedullary nail, on rabbit radio defect. Three groups of animals were studied. The radio defect in group 1 was fixed with intramedullary nail; whereas group 2 received intramedullary nail plus BMP; and group 3 just BMP. The new bone formation was followed by radiographic procedures during 12 weeks. Macroscopic and histological evaluations were made in the 12<sup>th</sup> week. The radiographic results from group 1 in the 3<sup>rd</sup> week show a radiotransparent failure, whereas in the 12<sup>th</sup> week the radio defect was partially filled by radiopac image. Group 2, in the 3<sup>rd</sup> week shows a discreet central radiopac image, that increased considerably in the 12<sup>th</sup> week. Group 2 shows a marked central radiopac image in the 3<sup>rd</sup> week, whereas in the 12<sup>th</sup> week the radio defect was totally filled. The intensity of bone formation found in macroscopic and histological evaluations varied according to the radiological evolution. Groups 1 and 2 showed delay on the filling of the bone caused by circulatory disturbances in the inner part of the diaphyseal cortex, which interfered on the BPM induced bone neoformation.

**KEY-WORDS:** Demineralized bone matrix, Morphogenetic proteins (BMP), Diaphyseal bone, Intramedullary nail

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARNESALE, P.L.; SPANKUS, J.D. A clinical comparative study of autogenous and homogenous bone grafts. *J. Bone Joint Surg.*, v. 41-A, p. 887, 1959.
- GONÇALVES, R.P.; OLIVEIRO, L.G. Electrical descalcification of bone. *Mikroskopie*, v. 20, p. 154, 1969.
- IDERIHA, N.M. Formação ectópica de tecidos cartilaginosa, ósseo e medula óssea, induzidos por matriz óssea desmineralizada, em camundongos com anemia aplástica. Ribeirão Preto, 1982. Tese (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. USP.
- KESSLER, S.B.; HALFELDT, K.K.J. PERREN, S.M.; SCHWEIBERER, L. The effects of reaming and intramedullary nailing on fracture healing. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, v. 212, p. 18-25, 1986.
- LING, R.S.M. Observation on the fixation of implants to the bony skeleton. *fn. Orthop. Rel. Res.*, v. 210, p. 80-96, 1986.
- MAATZ, R.; LONG, W.; GRAY, R. Spongiosa test of bone frafts transplantation. *J. Bone Joint Surg.*, v. 36-A, p. 721, 1954.
- OWEN, M. Cell population Kinetics an osteogenic tissue I. *J. Cell. Biol.*, v. 19, p. 19, 1963.
- OWEN, M. Istogenesis of bone cells. *Calcif. Tiss. Res.*, v. 25, p. 205, 1978.
- REDDI, A.H.; HUGGINS, C.B. Influence of geometry of transplanted tooth and bone on transformation of fibroblasts. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v. 143, p. 634, 1973.
- ROSSINHOLI, G.M. Osteogênese metaplásica induzida por pó de osso desmineralizado frente à inibição da polimerização do colágeno pela D-Penicilamina. Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, 1981.
- ROSSINHOLI, G.M. IDERIHA, N.M. STURION, D.J. Osteogênese metaplásica induzida por matriz óssea desmineralizada. VI Congresso Regional Sul de Patologia, 1986.
- STRINGA, G. Studies of the vascularization of bone grafts. *J. Bone Joint Surg.*, v. 39B, p. 395, 1957.
- URIST, M.R. Bone formation by autoinduction. *Science*, v. 150, p. 893, 1965.
- URIST, M.R.; SILVERMAN, F.F.; BURING, K.; DUBUC, F.L.; ROSENBERG, J.M. The bone induction principle. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, v. 53, p. 243, 1967.
- URBINATI, E.C. *Condrogênese e osteogênese: indução por pó de osso descalcificado* Ribeirão Preto, 1978. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. USP.
- VOLPON, J.B. *A matriz de osso cortical homólogo granulada descalcificada na correção de falha óssea de alisária: Estudo experimental em coelhos.* Ribeirão Preto, 1980. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. USP.
- YOUNG, R.W. Cell specialization during endochondral osteogenesis in young rats. *J. Cell. Biol.*, v. 14, p. 357, 1962.

Recebido para publicação em 12/11/1991