

ASPECTOS RADIOGRÁFICOS DO SULCO INTERTROCLEAR DE COELHOS SUBMETIDOS AO ENXERTO OSTEOCONDAL ALÓGENO ASSOCIADO À TERAPIA COM CÉLULAS MONONUCLEARES AUTÓGENAS E DEXAMETASONA

Laura Melgaço Faria¹
 Duvaldo Eurides²
 Daniel Peixoto Pereira¹
 Luiz Augusto de Souza³
 Lucas Vilela Perroni Silva¹
 Rodrigo Supranzetti de Rezende¹
 Gustavo Prudente Eurides⁴

FARIA, L. M.; EURIDES, D.; PEREIRA, D. P.; SOUZA, L. A. de; SILVA, L. V. P.; EURIDES, G. P. Aspectos radiográficos do sulco intertroclear de coelhos submetidos ao enxerto osteocondral alógeno associado à terapia com células mononucleares autógenas e desametasona. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 19, n. 2, p. 69-75, abr./jun. 2016.

RESUMO: Vinte e quatro coelhos adultos foram separados em dois grupos (n=12) - controle (GI) e tratado (GII) e submetidos ao enxerto osteocondral alógeno para reparo ósseo e cartilaginoso do sulco troclear, conservado em glicerina a 98%. Os animais do GII receberam ainda injeção intra-articular de $2,0 \times 10^6$ células mononucleares autólogas e dexametasona intramuscular. Foram realizadas avaliações radiográficas aos 45 e 90 dias de pós-operatório. Nos coelhos do grupo tratado e controle não foi notado sinais de reação características de enxerto-contra-hospedeiro e aos 45 e 90 dias de pós-operatório ocorre osteólise devido aos micromovimentos na interface implante-osso e pressão efetiva nos espaços articular. A implantação de enxerto alógeno conservado em glicerina, associado à inoculação de células mononucleares autógenas e dexametasona intramuscular promove intensa neoformação óssea e com bom reparo do defeito ósseo em coelhos.

PALAVRAS-CHAVE: Implante. Radiografia. Reparação óssea. Terapia celular.

RADIOGRAPHIC APPEARANCE OF INTERTROCHLEAR GROOVE OF RABBITS SUBMITTED TO OSTEOCHONDRAL GRAFT ALLOGRAPHS ASSOCIATED TO THE THERAPY WITH MONONUCLEAR CELL AUTOGRAPHS AND DEXAMETHASONE

ABSTRACT: Twenty-four adult rabbits were divided two groups (n = 12), control (GI) and treated (GII), and submitted to allogenic osteochondral graft for bone and cartilage repair of the trochlear groove, preserved in 98% glycerin. The GII yet received intra-articular injection of $2,0 \times 10^6$ autologous mononuclear cells and intramuscular dexamethasone. Radiographs at 45 and 90 days postoperatively evaluations were performed. In rabbits treated and control group was not skimmed signals characteristic reaction of graft-versus-host and at 45 and 90 days postoperatively osteolysis occurs due to micro motion at the implant-bone interface and effective pressure in the joint spaces. The implantation of allograft preserved in glycerol, associated with inoculation of autologous mononuclear cells and intramuscular dexamethasone intense bone and good repair of bone defects in rabbits neogenesis occurs.

KEYWORDS: Bone repair. Cell therapy. Implantation. Radiography.

ASPECTOS RADIOLÓGICOS DE LA RANURA INTERTROCLEAR DE CONEJOS SOMETIDOS A INJERTO OSTEOCONDAL ALÓGENO ASOCIADO A LA TERAPIA CON CÉLULAS MONONUCLEARES AUTÓGENAS Y DEXAMETASONA

RESUMEN: Veinticuatro conejos adultos fueron divididos en dos grupos (n = 12) - control (GI) y tratado (GII) y sometidos a injerto osteocondral alógeno para reparo óseo y cartilaginoso de ranura tróclea, conservado en glicerina a 98%. Los animales del GII recibieron inyección interarticular de $2,0 \times 10^6$ células mononucleares autólogas y dexametasona intramuscular. Se realizó evaluaciones radiográficas a los 45 y 90 días posoperatorio. En los conejos tratados y del grupo control no se ha notado señales de reacciones características de injerto contra hospedero, y a los 45 y 90 días de posoperatorio ocurrió osteólisis debido a los micro movimientos en la interfaz, implante óseo y presión efectiva en los espacios articular. La implantación de injerto alógeno conservado en glicerina, asociado a la inoculación de células mononucleares autógenas y dexametasona intramuscular, promueve intensa neo formación ósea y con buen reparo del defecto óseo en conejos.

PALABRAS CLAVE: Implante. Radiografía. Reparación ósea. Terapia celular.

DOI: <https://doi.org/10.25110/arqvet.v19i2.2016.5923>

¹Aluno. Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG. lauramelf@hotmail.com; daniel@prontosocorroveterinario.com.br; lperronivet@gmail.com

²Professor. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG. Av. Para 1720. 38400-902. Campus Umuarama. Uberlândia, MG. Brasil. duvaldo@ufu.br

³Professor. Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás. GO. Brasil. souza_vet@yahoo.com.br

⁴Professor. Universidade de Uberaba. Uberlândia, MG. Brasil. guprudente@hotmail.com

Introdução

A terapia óssea com célula-tronco é baseada na quantidade de células obtidas de aspirados, para promover efeitos terapêuticos benéficos, sem necessitar de cultura celular (KRAUS; KIRKER-HEAD, 2006). A quantidade de células-tronco mesenquimais (CTM) representa uma fração pequena, em torno de 0,001% a 0,01% da população total das células mononucleares da medula óssea (PITTENGER et al., 1999). Apesar do número de células da medula óssea ser limitado, a proliferação e expansão, sob condições adequadas, são facilmente obtidas "in vitro" (KRAUS; KIRKER-HEAD, 2006).

O enxerto ósseo é um procedimento fundamentado na cirurgia veterinária por promover osteogênese, osteoindução, osteocondução e suporte estrutural. O osso esponjoso é formado por trabéculas, poroso e altamente celular; o cortical é constituído de osso compacto, denso e relativamente acelular e o corticoesponjoso composto de ambos os tipos (WEIGEL, 1993). Os implantes alógenos oferecem diversas vantagens, visto que, maiores quantidades podem ser coletadas de animais doadores e a resposta imune ao tecido pode ser minimizada por soluções conservantes como a glicerina a 98% (RAISER et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2003; MAZZANTI et al., 2004).

Diversas abordagens experimentais vêm sendo realizadas na tentativa de elucidar a formação e reparação óssea em defeitos osteocondrais. São empregados enxertos ósseos em consequência de lesões tumorais (MUSCOLO; AYERZA, 1998), biomateriais (BURG; PORTER; KELLAM, 2000), esqueletos de matriz extracelular osteocondutiva com aplicação de substâncias imunossupressoras como a dexametasona, na tentativa de reduzir a reação inflamatória ou rejeição em ratos (SILVA et al., 2008). No reparo de defeitos ósseos pode ocorrer rápido crescimento do tecido conjuntivo na fratura e impedir a formação de tecido ósseo, tornando óssea enxerto o método clássico de tratamento reconstrutivo (AMEZIANE; DAOUDI; SOUHAIL, 2003).

Objetivou-se avaliar os aspectos radiográficos do sulco intertrocLEAR de coelhos submetido ao enxerto osteocondral alógeno preservado em glicerina a 98%, associado à terapia com células mononucleares autógenas isoladas da medula óssea e à administração de dexametasona intramuscular.

Material e Métodos

O projeto foi aprovado pela análise final nº 063/10 do Comitê de Ética na utilização de animais, protocolo CEUA/UFU 039/09.

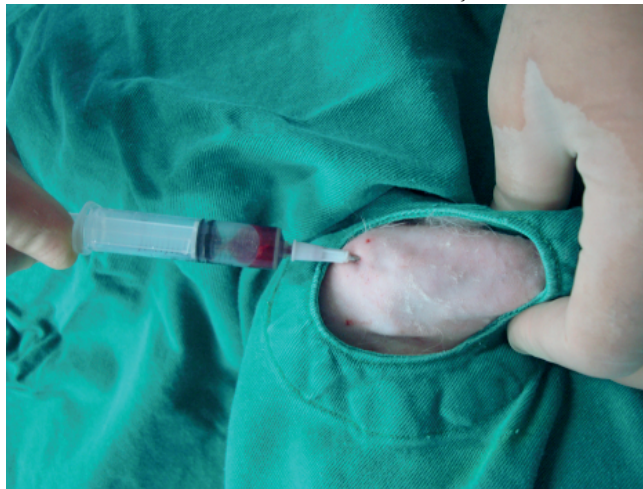
Foram realizadas colheitas de 10 articulações fêmoro-tíbio-patelar de cadáveres de coelhos adultos, machos, da raça Nova Zelândia, com peso variando de 3,0kg a 5,0kg, de abatedouro fiscalizado pelo serviço de inspeção municipal. Os doadores foram selecionados quando não portadores de doenças infectocontagiosas, alterações ortopédicas e de neoplasias ósseas. Com paquímetro¹ graduado foi demarcada no sulco trocLEAR do membro pélvico esquerdo uma área de 1,0cm x 0,4cm de largura que foi removida em forma de cunha com micro retífica de alta rotação com disco de diamante (Dremel série 300). Os fragmentos foram higienizados

repetidas vezes com solução salina a 0,9% e armazenados em frascos contendo solução de glicerina² a 98%, à temperatura ambiente durante 30 dias.

Vinte e quatro coelhos da raça nova Zelândia foram separados em dois de igual número (n=12) e permaneceram em jejum hídrico e alimentar por um período de quatro a oito horas, respectivamente. Receberam como medicação anestésica cetamina³ (30mg/kg, IM) e a xilazina⁴ (5,0mg/kg, IM) e administração de cloridrato de tramadol⁵ (2,0mg/kg, SC), o flunixin meglumine⁶ (1,0mg/kg, IM) e antibioticoterapia profilática com cefazolina sódica⁷ (30mg/kg, IM), 30 minutos antes do procedimento cirúrgico. A pele da região da articulação escápulo-umeral foi submetida à tricotomia e antissepsia com álcool-polivinil-pirrolidona⁸ iodada tópica-álcool, para coleta da medula óssea do úmero. Uma agulha hipodérmica 24 x 12mm contendo 0,1ml de solução estéril heparinizada (5000 UI/ml) foi introduzida por meio de movimentos rotacionais na epífise proximal do tubérculo umeral (Figura 1).

Aspirou-se com seringa 2,0mL da medula óssea para isolamento e determinação laboratorial do rendimento e viabilidade das células mononucleares. Para padronizar a quantidade e o volume de células inoculadas, foi obtido o cálculo do fator de diluição de cada amostra, através da equação $FD = QT / CT$, onde QT = quantidade de células viáveis presente em 500 µl do sedimento celular; e CT = quantidade de células a serem transplantadas (2 x 10⁶).

Figura 1: Coleta da medula óssea autógena na epífise proximal do tubérculo umeral de coelho da raça Nova Zelândia.



Fonte: arquivo pessoal

O volume final foi calculado pela fórmula: $VF = VI / FD$, onde VI = volume inicial do inoculado (500 µl); e FD = fator de diluição. Os volumes finais da fração de células mononucleares foram ajustados, sendo armazenados em tubos de Eppendorf⁹. Portanto, a fração celular contendo 2,0 x

²Glicerina 98%. Indústria Rioquímica, São José do Rio Preto, SP. Brasil.

³Vetaset. Fort Dodge Saúde Animal. Campinas, SP.

⁴Dorcipec. Instituto Valleé. Uberlândia, MG.

⁵Tramal. Injetável. União Química Farmacêutica Nacional. Pouso Alegre, MG. Brasil.

⁶Banamine. Injetável. Schering-Plough Saúde Animal Indústria e Comércio. Cotia, SP. Brasil

⁷Cezolin. BioChimico. Rio de Janeiro, RJ. Brasil.

⁸Povidine. Ceras Johnson. Rio de Janeiro, RJ.

⁹Ficoll-Hypaque Plus. Amersham Biosciences do Brasil. São Paulo, SP. Brasil.

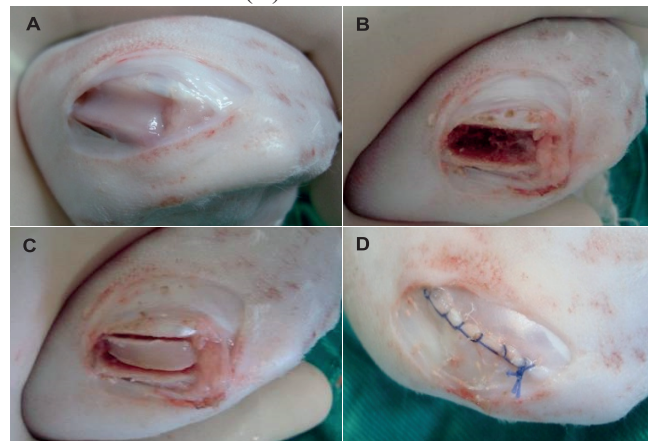
¹Paquímetro graduado. Worker distribuído por FNCL, Brasil.

10^6 células mononucleares diluídas em DMEM¹⁰, resultou na solução final a ser inoculada na articulação fêmoro-tíbio-fíbulo-patelar submetida ao procedimento cirúrgico. A viabilidade variou entre 81,97% e 97,09%, em média de 91,79%. Bittencourt et al. (2006), obtiveram viabilidades superiores a 95% e Tognoli et al. (2007) de 90%, utilizando o mesmo método de exclusão. A média celular relatada pelos autores foi semelhante à obtida neste experimento, o que confirma a eficácia do protocolo de isolamento adotado.

Com o animal em decúbito dorsal, foi praticada uma incisão de pele de aproximadamente 4,0cm na região parapatelar lateral esquerda, seguida de divulsão do tecido subcutâneo e exérese do retináculo lateral. A cápsula articular foi incisada e a patela luxada medialmente para a exposição do sulco intertroclear (Figura 2 - A). Com paquímetro delimitou-se uma área de 0,4cm de largura x 1,0cm de comprimento no sulco intertroclear, que foi removida em formato de cunha em torno de 30° por meio de um disco de diamante acoplado a uma perfuratriz elétrica sob constantemente irrigado com solução salina a 0,9% (Figura 2 - B). Antes da enxertia os segmentos ósseos osteocondrais alógenos preservados em glicerina a 98%, foram previamente lavados e hidratados com solução salina a 0,9% durante 30 minutos. O leito receptor foi irrigado com solução fisiológica para remover os fragmentos ósseos (Figura 2 - A) e o enxerto foi implantado (Figura 2 - C). A patela foi colocada sobre o sulco do implante e a cápsula articular aproximada com poliglactina¹¹ nº 4-0 com sutura festonada de Riverdin (Figura 2 - D), e a pele com pontos simples isolados com náilon¹² nº 3-0. Nos animais do GI realizou-se apenas a implantação osteocondral alógena e nos dos do GII, após a aproximação da cápsula articular, inoculou-se a fração celular de 2×10^6 células mononucleares autógenas diluídas em DMEM e administração de dexametasona (2,0mg/kg, IM), de 12 em 12 horas durante três dias. As feridas de pele foram higienizadas duas vezes ao dia com gazes embebidas em solução fisiológica a 0,9%, e posterior aplicação tópica de rifamicina¹³ por um período de sete dias.

Os coelhos foram mantidos com colar elisabetano durante 12 dias, até a remoção dos pontos de pele. Foi administrado o cloridrato de tramadol (1,0mg/kg, SC), de oito em oito horas durante três dias, o flunixin meglumine (1,0mg/kg, SC), a cada 24 horas, por três dias e cefazolina sódica (30mg/kg, IM), de 12 em 12 horas, durante sete dias.

Figura 2: Luxação medial da patela para exposição do sulco intertroclear da articulação fêmoro-tíbio-patelar (A) e área removida (B). Observar o enxerto osteocondral alógeno no leito receptor (C- seta) e aproximação dada capsula articular com sutura festonada (D).



Fonte: arquivo pessoal.

Nos períodos pré-estabelecidos de 45 e 90 dias de PO, as articulações dos animais dos dois grupos foram submetidas às avaliações radiográficas, utilizando-se o aparelho Tiltix 800mA, com 100mA, tempo de exposição de 0,0032s e kVp de 42, sendo obtidas nas posições mediolateral e Sky-line, incidindo na atitude ântero-posterior. As reações periosteais e osteólises foram quantificadas como pequena (+), média (++) e alta (+++). Também avaliou-se a presença de linha de separação e aderência do enxerto com o leito receptor e deslocamento e alteração estrutural da patela.

Empregou-se o teste da Binominal para comparar as amostras independentes nas proporções entre os dois grupos e o Teste de *Kruskal-Wallis* para comparar os grupos independentes do tratado e controle. Para os testes utilizou-se o nível de significância ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

A fração celular contendo $2,0 \times 10^6$ células mononucleares diluídas em DMEM, com viabilidade entre 81,97% e 97,09%, em média de 91,79% como utilizada por Borges (2010), resultou na solução final a ser inoculada na articulação fêmoro-tíbio-fíbulo-patelar submetida ao procedimento cirúrgico. Nas análises radiográficas notou-se que os animais de ambos os grupos completaram o processo de reparação óssea, porém, não houve correlação estatisticamente significativa quando comparado o GI com o GII em relação à evolução do processo de cicatrização. O emprego da técnica radiológica, neste experimento, aos 45 e 90 dias de PO permitiu o acompanhamento do comportamento do enxerto no leito na tróclea dos coelhos. Notou-se que os implantes permaneceram acomodados em seus leitos receptores, sem sinal de proliferação e/ou lise óssea, ou reações que caracterizassem infecção e ou rejeição. As avaliações realizadas nos períodos preestabelecidos nas posições mediolateral e Sky-line, incidindo na atitude anteroposterior permitiram verificar a evolução da reparação óssea (ROCHA et al., 2011). Não foram observadas reações que caracterizassem lise ou proliferações ósseas no implante leito-receptor, que pode estar relacionado à infecção que pudessem interferir na estabilidade do implante.

¹⁰DMEM. Invitrogen Brasil. São Paulo, SP. Brasil.

¹¹Vicryl 4-0. Ethicon. Sao Paulo, SP. Brasil.

¹²Nylon 3-0. Polysuture Indústria e Comércio. São Sebastião do Paraíso, MG. Brasil.

¹³Rifocina spray. Hoechst Marion Roussel. Suzano, SP. Brasil.

Em relação à aderência do enxerto com o sítio receptor quanto às proporções para GI (91,67%) e GII (66,67%) não houve diferença significativa ($p=0,1316$). Na linha de separação entre o enxerto e leito receptor nos do grupo GI (16,67%) e GII (66,67%) ocorreu correlação estatisticamente significativa ($p=0,013$). Em relação à alteração periosteal na patela quando comparada as duas proporções entre GI (25%) e GII (33,33%) não foi notado correlação expressiva ($p=0,6534$) e para a reação periosteal entre os grupos dos animais do GI-45 com GII-45 e GI-90 com GII-90 observou-se ausência de correlação significativa entre os grupos avaliados ($p=0,7041$). Em relação à osteólise entre os animais do GI-45 com GII-45 e GI-90 com GII-90 não foi verificado

correlação significativa ($p=0,8069$). Os resultados obtidos neste experimento diferem dos verificados por Nishimore et al. (2006) por ter referido que a medula óssea é uma fonte de células mononucleares da medula óssea, que adicionadas às cartilagens defeituosas podem acelerar sua recuperação. As reações periosteais observadas na patela, possivelmente, foram ocasionadas em consequência ao contato com o local irregular do enxerto. A distribuição dos dados referentes à aderência do enxerto, linhas de separação, alteração periosteal da patela, reação periosteal e osteólise para ambos os grupos submetidos ao enxerto osteocondral alógeno no sulco intertrocLEAR, encontram-se apresentadas na Tabela 1 que distribui os animais do GI e na Tabela 2 os do GII.

Tabela 1: Aspectos radiográficos da articulação fêmoro-tíbio-patelar dos coelhos do grupo controle (GI) aos 45 e 90 dias de PO.

Animal	Aderência do enxerto	Linha de separação enxerto/receptor	Reação periosteal a patela	Reação periosteal enxerto/receptor	Osteólise enxerto/receptor
01-45 PO	Sim	Sim	Não	Sim ++	Sim ++
02-45 PO	Sim	Não	Sim	Sim++	Não
03-45 PO	Não	Não	Não	Sim ++	Sim +
04-45 PO	Sim	Não	Não	Sim +	Sim +
05-45 PO	Sim	Não	Não	Sim ++	Sim ++
06-45 PO	Sim	Não	Não	Sim +++	Sim +++
07-90 PO	Sim	Não	Sim	Sim +	Sim +++
08-90 PO	Sim	Não	Não	Sim ++	Sim ++
09-90 PO	Sim	Não	Não	Sim +	Sim ++
10-90 PO	Sim	Não	Não	Sim +++	Sim +
11-90 PO	Sim	Não	Sim	Sim +	Sim ++
12-90 PO	Sim	Sim	Não	Sim ++	Sim +

Foi referido por Silva et al (2008) que a dexametasona não interfere na reparação do enxerto ósseo em ratos. A observação também foi verificada neste experimento na administração de 2,0mg/kg, IM de 12 em 12 horas na dose, por três dias. Não se pode referir sobre os efeitos da dexametasona, por não sido ter observado diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

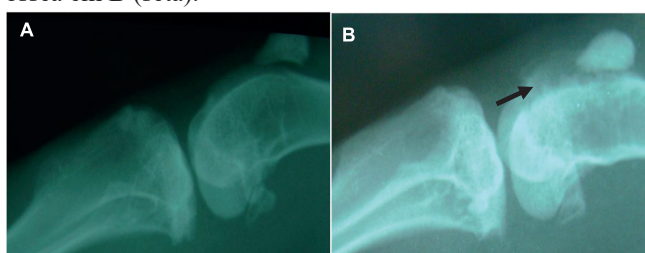
A ocorrência de osteólise foi classificada em diferentes níveis, sendo quantificada como pré-estabelecido. Em apenas um animal (8,33%) do GI e outro do GII (8,33%) não ocorreu osteólise. Notou-se neoformação óssea nos que apresentavam osteólise de média a alta em três coelhos (50,0%) do GI-45 dias de PO e quatro (66,7%) nos do GI-90 dias de PO.

Tabela 2: Aspectos radiográficos da articulação fêmoro-tíbio-patelar dos coelhos do grupo tratado (GII) com células mononucleares da medula óssea e dexametasona aos 45 e 90 dias de PO.

Animal	Aderência do enxerto	Linha de separação enxerto/receptor	Reação periosteal na patela	Reação periosteal enxerto/receptor	Osteólise enxerto/receptor
01-45 PO	Não	Sim	Não	Sim++	Sim+
02-45 PO	Não	Sim	Não	Sim+++	Sim++
03-45 PO	Sim	Sim	Sim	Sim+	Sim+
04-45 PO	Não	Sim	Não	Sim+++	Sim++
05-45 PO	Sim	Sim	Sim	Não	Sim+
06-45 PO	Sim	Não	Sim	Não	Sim++
07-90 PO	Sim	Não	Sim	Sim+	Sim+
08-90 PO	Sim	Sim	Não	Sim++	Sim++
09-90 PO	Sim	Não	Não	Sim++	Não
10-90 PO	Não	Sim	Não	Sim+	Sim++
11-90 PO	Sim	Não	Não	Sim+++	Sim+++
12-90 PO	Sim	Sim	Não	Sim+++	Sim+++

No GII-45 dias de PO foram três animais (50,0%) e, no GII-90 dias de PO em quatro (66,7%). O aloenxerto forneceu estabilidade da patela, podendo ter atuado como suporte mecânico no início do processo de recuperação. Notou-se baixa osteólise no aloenxerto em dois coelhos (33,33%) do GI-45 dias de PO, dois (33,33%) do GI-90 dias de PO, três (50,0%) no GII-45 dias de PO e um (16,7%) no do GII-90 dias de PO. Observou-se diferença na manifestação de osteólise no do GII-45 e GII-90, sendo que no animal número nove foi ausente e no número 12 foi notada intensa lise óssea (Figura 3).

Figura 3: Aspectos radiográficos da articulação fêmoro-tíbio-patelar dos coelhos 9-A e 12-B do grupo tratado com enxerto osteocondral alógeno associado à administração de células mononucleares da medula óssea e dexametasona intramuscular. Notar em A, ausência de osteólise e intensa lise óssea em B (seta).



Alguns fatores podem ocasionar a osteólise como os micromovimentos na interface implante-osso e pressões efetivas no espaço articular (ARISTIDE et al., 1996). Para consolidação óssea é necessário existir continuidade óssea e o uso do enxerto auxilia as consolidações de fraturas cominutivas ou com grandes defeitos. Isto porque induz a formação de calo ósseo precoce por meio do processo conhecido por substituição invasiva associada ao processo de osteoindução (REMEDIOS, 1999). Neste trabalho, o aloenxerto pode ter produzido uma resposta imunológica e ser reabsorvido, pro-

movendo formação de tecido ósseo do próprio animal, o que fortaleceu a área traumatizada.

A consolidação óssea é a união que ocorre entre o enxerto e o osso hospedeiro e incorporação é a reabsorção e recolonização celular entre enxerto e o osso hospedeiro que, resultam na progressiva substituição de um pelo outro (GONÇALVES, HONDA, ONO, 2003). Dessa forma, a maneira mais confiável de avaliar os resultados obtidos com a utilização do enxerto ósseo é a histológica após a biopsia. As técnicas de diagnóstico por imagem são limitadas, resultando em baixa sensibilidade e especificidade e a associação dos recursos como clínicos, laboratoriais e radiográficos diminui a margem de erros (BOLDT et al., 2001). Neste trabalho, pelas análises radiográficas não foi possível confirma se nos enxertos ocorreu consolidação ou incorporação.

Aos 45 dias de PO observou-se formação óssea a partir do perióstio e sobre o enxerto. Em 22 animais (91,67%) ocorreu a reação periosteal, sendo que em apenas um (4,16%) do GII-45 dias de PO adveio reação periosteal alta (Tabela 3). Resultado que pode ter sido ocasionado pela falta de imobilização do membro submetido à intervenção cirúrgica no período pós-cirúrgico. Assim como devido à capacidade de indução osteogênica das células da medula óssea (BARROS et al., 2001). No GII-45 dias de PO foi verificado no coelho número dois, intensa reação periosteal, entretanto, não foi notado nos outros pertencentes também do GII-45 dias de PO (Figura 4).

Figura 4: Aspectos radiográficos da articulação fêmoro-tíbio-patelar dos coelhos do grupo tratado. Notar intensa reação periosteal em A e ausente em B.

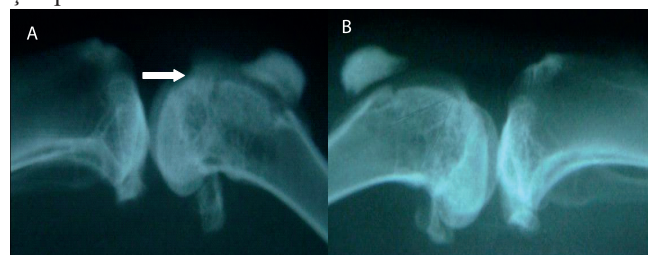


Tabela 3: Avaliação radiológica (%) da articulação fêmoro-tíbio-patelar de coelhos do grupo controle (GI) e tratado (GII) com células mononucleares da medula óssea e dexametasona IM, aos 45 e 90 dias de PO.

Grupos	Linha de fratura enxerto/receptor	Osteólise enxerto/receptor	Reação periosteal na patela	Reação periosteal enxerto/receptor
45 dias - GI	16,7%	33,3%(+)	16,7%	16,7%(+)
		33,3%(++)		66,7%(++)
		50%(+++)		16,7%(+++)
45 dias - GII	83,2%	50%(+)	50%	16,7%(+)
		50%(++)		16,7%(++)
				16,7%(+++)
				16,7%(++++)
90 dias - GI	16,7%	33,3%(+)	33,3%	50%(+)
		50%(++)		33,3%(++)
		16,7%(+++)		16,7%(+++)
90 dias - GII	50%	16,7%(+)	16,7%	33,3%(+)
		33,3%(++)		33,3%(++)
		33,3%(+++)		33,3%(+++)

Em 17 coelhos (70,8%) tanto do GI quanto do GII houve mudanças estruturais da patela ocasionadas possivelmente pela osteólise, compressão por deslocamento do enxerto ou reação periosteal tanto externa como internamente. Com a posição radiográfica Sky-line projection empregada neste experimento foi possível verificar se a patela encontrava-se luxada assim como os aspectos da profundidade do sulco troclear, devido à incidência horizontal dos RX (PEREIRA, 2010). É importante ressaltar que no período pré-estabelecido de pós-operatório não foi notada luxação da patela, arrasamento do sulco troclear femoral e perda das bordas trocleares. Entretanto, Oliveira (2009) referiu a ocorrência de luxação medial de grau quatro em coelhos submetidos à enxertia óssea e administração de células mononucleares da medula óssea.

Onze coelhos aos 45 e 90 dias de PO do GI (91,67%) e oito (72,7%) do GII-45 e 90 dias de PO apresentavam enxertos aderidos ao leito receptor. A aderência do enxerto com o leito receptor foi evidenciada pelo desaparecimento da linha de fratura. Salienta-se a importância que os enxertos se apresentem aderidos no local da enxertia, mantendo a estrutura do sulco intertroclear. Neste experimento não foi verificado neoformação óssea alterada no processo de cicatrização do enxerto, o que poderia contribuir para deformação da área e efeitos indesejáveis, como relatados por Blair, Robinson e Zaidi (2005).

Os enxertos alógenos congelados e secos possuem uma quantidade de células e proteínas da matriz orgânica reduzida, com ausência de vascularização e de células vivas do doador, não havendo, portanto, um alvo para a reação antigênica (KALIL et al. 2012). Em nenhum dos animais do grupo tratado apresentou, ao exame radiográfico, sinais de reação características de enxerto-contrahospedeiro ocasionadas pelas células "T" do doador imunologicamente competente, histoincompatibilidade entre hospedeiro e doador e pela falta de capacidade do hospedeiro para rejeitar os linfócitos do doador (SANTOS, LIMA, MAGALHÃES, 2005). Possivelmente, a dexametasona contribuiu na imunossupressão com redução inflamatória ou rejeição (SILVA et al., 2008), assim como a resposta imune ao tecido pode ter sido minimizada pela glicerina a 98% (RAISER et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2003; MAZZANTI et al., 2004).

Para reparação de defeito ósseo na tíbia de cães, Oliveira et al. (2010) utilizaram células-tronco mononucleares autólogas e verificaram pela avaliações radiográficas a indução da cicatrização óssea mais rápida aos 30 e 45 dias de PO. Assim como no reparo de defeitos da tíbia de ovinos, Niemeyer et al. (2010) notaram aumento significativo na neoformação óssea. Avaliação semelhante foi realizada por Monteiro et al. (2012) na reparação de defeitos críticos em calvaria de camundongos por meio da associação de células-tronco mesenquimais da medula óssea com plasma rico em plaquetas. Neste experimento, por meio de avaliações das imagens radiográficas, notou-se que com a administração de células mononucleares autógenas intra-articular e dexametasona intramuscular, aumento significativo da neoformação óssea.

Conclusões

Nos coelhos do grupo tratado e controle não foi notado sinais de reação características de enxerto-contrahospedeiro e aos 45 e 90 dias de PO ocorre osteólise devido ao micromovimentos na interface implante-osso e pressão efetiva nos espaços articular.

A implantação de enxerto alógeno conservado em glicerina, associado à inoculação de células mononucleares autógenas e dexametasona intramuscular promove intensa neoformação óssea e com bom reparo do defeito ósseo em coelhos.

Referências

AMEZIANE, L.; DAOUDI, A.; SOUHAIL, M. S. Coverage of tissue loss in the upper limb (ten cases). **Chirurgie Main**, v. 22, p. 95-98, 2003.

ARISTIDE, R. S. A. et al. Dispositivo centrador distal das hastas femorais cimentadas: eficácia e proposta de classificação. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 31, n.10, p.815-820, 1996.

BARROS, S. V. S. G. Auto-enxerto percutâneo de medula óssea em coelhos I. Coleta, preparo e aplicação. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1013-1018, 2001.

BITTENCOURT, R. A. C. Isolamento das células-tronco mesenquimais da medula óssea. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 22-24, 2006.

BLAIR, H. C.; ROBINSON, L. J.; ZAIDI, M. Osteoclast signaling pathways. **Biochemical Biophysical Research Communications**, v. 328, n. 3, p. 718-738, 2005.

BOLDT, J. G. Revision total hip arthroplasty using impaction bone grafting with cemented nonpolished stem and charnley cups. **Journal Arthroplasty**, v. 16, n. 8, p. 943-952, 2001.

BORGES, L. A. **Enxerto osteocondral alógeno no reparo do sulco troclear de coelhos através da inoculação de células mononucleares e associado à dexametasona**. Faculdade de Medicina Veterinária, 2010. 64 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

BURG, K. J.; PORTER, S.; KELLAM, J. F. Biomaterial developments for bone tissue engineering. **Biomateriais**, v. 21, n. 2, p. 2347-2359. 2000.

GONÇALVES, H. R.; HONDA, E. K.; ONO, N. K. Análise da incorporação do enxerto ósseo acetabular. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 38, n. 4, p. 149-160, 2003.

KALIL, M.V. et al. Enxerto ósseo particulado aplicado à implantodontia. **Revista Fluminense de Odontologia**, v. 2, n. 18, p.33-38, 2012.

KRAUS, K. H.; KIRKER-HEAD, C. Mesenchymal stem cells and bone regeneration. **Veterinary Surgery**, v. 35, n. 3, p. 232-242, 2006.

MAZZANTI, A. Homoimplante ortotópico conservado, associado a terapia "soft laser" na reparação tenopatelar em cão. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 429-437, 2004.

- MONTEIRO, B. S. et al. Association of mesenchymal stem cells with platelet rich plasma on the repair of critical cavariar defects in mice. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 27, n. 3, p. 201-209, 2012.
- MUSCOLO, D. L.; AYERZA, M. A. Allografts. In: CALLAGHAN, J. J.; ROSENBERG, A. G.; RUBASH, H. E. **Adult Hip**. New York: Lippincott-Raven, 1998. p.297-312.
- NIEMEYER, P. Comparison of mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue for bone regeneration in critical size defect of the sheep tibia and the influence of platelet-rich plasma. **Biomaterial**, v. 31, p. 3572-3579, 2010.
- NISHIMORE, M. Repair of chronic osteochondral defects in the rat. A bone marrow-stimulating procedure enhanced by culture allogenic bone marrow mesenchymal stromal cells. **Journal Bone Joint Surgery**, v. 88b, n. 9, p. 1236-1244, 2006.
- OLIVEIRA, B. J. N. A. **Enxerto osteocondral alógeno, associado à inoculação de células mononucleares da medula óssea e proteína morfogenética óssea no reparo do sulco troclear de coelhos**. Faculdade de Medicina Veterinária, 2009. 53p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.
- OLIVEIRA, S.T. et al. Reparação do ligamento cruzado cranial de cães por tendão homólogo conservado em glicerina e associado a fio de náilon. **Ciência Rural**, v. 33, n. 24, p. 717-723, 2003.
- OLIVEIRA, G. K. et al. Células-tronco mononucleares autólogas e proteína óssea morfogenética na cicatrização de defeitos tibiais experimentalmente induzidas em cão. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 62, n. 1, p.72-79, 2010.
- PEREIRA, J. C. **Luxação da patela**. Boletim da diretoria de criação, n.74. Disponível em: <<http://www.oocities.com/gescanis/patela.htm>>. Acesso em: 14 jul. 2010.
- PITTENGER, M. F. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. **Science**, v. 284, n. 5411, p.143-147, 1999.
- RAISER, A.G. et al. Homoimplante ortotópico de tendão calcâneo em cães. Conservação, assepsia e implantação. **Ciência Rural**, v. 31, n. 1, p. 89-94, 2001.
- REMEDIOS, A. Bone and bone healing. **Veterinary Clinical North American Small Animal Practice**, v. 29, p.1029-1044, 1999.
- ROCHA, F. S. et al. Organic bovine graft associated with PRP in rabbit calvaria. **International Archives of Otorhinolaryngology**, v. 15, p. 208-213, 2011.
- SANTOS, P. S. S.; LIMA, R. B.; MAGALHÃES, M. H. C. G. Doença do Enxerto-Contra-Hospedeiro (DECH) em pacientes transplantados de medula óssea – relato de caso. **RPG. Revista Pós Graduação**. v. 12, n. 4, p. 506-511, 2005. Disponível em: <<http://dc383.4shared.com/doc/V3LcxKV-/preview.html>>. Acesso em: 21 ago. 2013.
- SILVA, R. A. et al. Efeito de anti-inflamatórios na integração de enxerto ósseo autógeno e de matriz óssea bovina desvitalizada em ratos **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 23, n. 2, p. 140-148, 2008.
- TOGNOLI, G. K. et al. Isolamento, quantificação e viabilidade da fração total de células mononucleares da medula óssea em cães. **Acta Science Veterinary**, v. 35, n. 2, p. 368-369, 2007.
- WEIGEL, J.P. Bone grafting. In: BOJRAB, M. J.; SMEAK, D. D.; BLOOMBERG, M. S. **Disease mechanisms in small animal surgery**, 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.678-684.

Recebido em: 05.08.2014

Aceito em: 12.07.2016