

Modelo experimental de falha óssea por meio de ostectomia do rádio em coelhos

Antonio Carlos Cunha Lacreta Junior^{1*}

Everton Regonato²

Lucas Bahdour Cossi³

Ciro Alexandre Teixeira Cruvinel³

Júlio Carlos Canola²

¹Universidade Federal Rural da Amazônia
Instituto de Saúde e Produção Animal, Av. Presidente Tancredo Neves, nº 2501
Bairro Montese, Caixa Postal 917, CEP 66077-530, Belém – PA, Brasil

²Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP, Brasil

³Centro Universitário de Rio Preto, São José do Rio Preto – SP, Brasil

*Autor para correspondência
antonio.lacreta@ufra.edu.br

Submetido em 07/04/2010
Aceito para publicação em 18/06/2010

Resumo

Muitos modelos experimentais são utilizados para estudar o processo de consolidação de fraturas, no entanto, devido às diferenças anatômicas, biológicas e técnicas, nem sempre tais modelos possuem parâmetros adequados para a espécie de interesse final, para qual se realiza o experimento. O coelho é um modelo experimental muito utilizado nos estudos que envolvem a fisiopatologia óssea frente às fraturas e seus diferentes tipos de tratamento, correspondendo à aproximadamente 35% de todos os estudos científicos do sistema músculo-esquelético. Diversas técnicas cirúrgicas já foram utilizadas em ossos de coelhos para estudos experimentais, e a ostectomia parcial do rádio é uma delas. Neste estudo, foram utilizados 14 coelhos (*Oryctolagus cuniculus familiaris*), machos, adultos jovens, da raça Nova Zelândia branca, não castrados, com peso corpóreo variando entre três a quatro quilos. Clinicamente os animais não apresentaram alterações que comprometessem o estudo. Os mesmos foram avaliados por meio de exame radiográfico nos dias zero, 30 e 60 após o procedimento cirúrgico nos quais foram visibilizadas a qualidade da falha cirúrgica e as alterações pertinentes à proliferação óssea. O exame histológico permitiu verificar a arquitetura óssea neoformada e seus componentes. A eficácia da técnica foi comprovada, podendo ser reproduzida para diversos fins dentro da cirurgia ortopédica.

Unitermos: coelho, ostectomia, ortopedia, rádio

Abstract

Experimental model of a bone gap by radial ostectomy in rabbits. A lot of experimental models have been used to study the process of a fracture's consolidation, but the problem is that due to anatomic, biologic and technical differences, these models do not always have appropriate parameters for the exact species, for which the experiment was done. The rabbit is an experimental model that is widely used in studies involving bone

physiopatologia in the face of fractures and their different types of treatment, corresponding to approximately 35% of all the musculoskeletal system's scientific studies. Several surgical techniques have been used on rabbit's bone for experimental studies, and the partial osteotomy of the radius bone is one of them. In this study, 14 rabbits (*Oryctolagus cuniculus familiaris*), males, adults, of white New Zeland breed, neutered, with weight between three and four kilograms, were used. Clinically, the animals did not present any alterations that compromised the study. There were evaluated through radiographic exam on days zero, 30 and 60 after the surgery, visualizing the quality of the gap and the relevant alteration of bone proliferation. The histologic exam elucidated the neoformed bone architecture and its components. The efficacy of the technique was proved and it could be reproduced for many purposes in orthopedic surgery.

Key words: osteotomy, orthopedic, rabbit, radius

Introdução

Muitos modelos experimentais são utilizados para estudar o processo de consolidação de fraturas, no entanto, devido às diferenças anatômicas, biológicas e técnicas, nem sempre tais modelos possuem parâmetros adequados para a espécie de interesse final, para qual se realiza o experimento. Existem descritos com sucesso, o camundongo, o cavalo, o rato, o cão, a ovelha, a galinha, o pombo, os primatas, os coelhos e outros menos comuns. Independente das vantagens e desvantagens próprias de cada modelo, o ideal será aquele que melhor se adequar ao estudo proposto (Matos et al., 2001).

O coelho é um modelo experimental muito utilizado nos estudos que envolvem a fisiopatologia óssea frente às fraturas e seus diferentes tipos de tratamento, correspondendo à aproximadamente 35% de todos os estudos científicos do sistema músculo-esquelético (Pearce et al., 2007). Já foram descritos estudos ortopédicos utilizando coelhos como modelos experimentais com diversas finalidades, dentre elas, o uso de enxertos, comportamento da consolidação de fraturas, técnicas cirúrgicas ortopédicas, uso de fatores de crescimento, utilização de materiais biológicos e sintéticos como indutores de crescimento ósseo, entre outras.

Algumas vantagens do uso desses animais são: a facilidade de manuseá-los, seu pequeno porte, baixo custo de manutenção, requisição de pequeno espaço para mantê-los durante o período experimental e principalmente a curta maturidade esquelética, cerca de seis meses após a maturidade sexual (Matos et al., 2001; Pearce et al., 2007). Em comparação com outras espécies, as alterações ou mudanças no esqueleto do coelho são

mais rápidas, assim como a fase de remodelação óssea (Pearce et al., 2007).

O imperativo para utilização do coelho como modelo experimental é que o profissional, neste caso o cirurgião veterinário, conheça os acidentes anatômicos do local onde se realizará a correção cirúrgica e ainda esteja familiarizado com as técnicas anestésicas e tratamentos para a dor e desconforto às vezes associados com as injúrias ortopédicas (Rich, 2002).

Diversas técnicas cirúrgicas foram utilizadas e aplicadas em vários ossos dos coelhos para estudos experimentais. Dentre elas, a osteotomia do osso rádio (Tavares et al., 1994; Barros et al., 2001; Del Carlo et al., 2003; Lima et al., 2004; Moraes et al., 2004; Miranda et al., 2005; Ciani et al., 2006; Dehghani et al., 2008; Kasten et al., 2008), osteotomia do rádio (Lima et al., 2007), osteotomia do úmero (Petroianu et al., 2004), osteotomia do fêmur (Doria et al., 2007), osteotomia da tíbia (Kesemenli et al., 2003; Colmanetti et al., 2004; Aleksynienè et al., 2006), osteotomia da ulna (Perka et al., 2000; Walters et al., 2000; Vital et al., 2006), osteotomia da fibula (Matos et al., 2001; Matos et al., 2006; Guarniero et al., 2007), além de estudos utilizando osteotomia perfurante dos ossos chatos do crânio (Clokiet al., 2002; Monteiro et al., 2007), demonstrando a versatilidade da espécie como modelo experimental para fins ortopédicos. Também existem diversas modalidades anestésicas, tanto de anestésias fixas como voláteis, para essas técnicas cirúrgicas.

O objetivo desse estudo é descrever a técnica cirúrgica de osteotomia parcial do rádio, bem como a modalidade anestésica, para obtenção de falhas ósseas em que possam ser experimentados e testados tipos de enxertos e uso de materiais osteoindutores, estudando

etapas de neoformação óssea e também alterações e comportamento da consolidação de fraturas com grandes perdas ósseas, onde não há possibilidade de justaposição dos fragmentos fraturados.

Material e Métodos

Os protocolos da pesquisa seguiram as normas recomendadas pelo Institute of Laboratory Animal Research (1996).

Para o experimento proposto utilizaram-se 14 animais da espécie leporina (*Oryctolagus cuniculus familiaris*, Lilljeborg, 1874), machos, adultos jovens, da raça Nova Zelândia branca, não castrados, com peso corpóreo variando entre três e quatro quilos; provenientes do biotério do hospital veterinário Halim Atique, da Universidade de Rio Preto (UNIRP). Foram mantidos em gaiolas individuais, localizadas em sala própria equipada com ar condicionado e exaustores e alimentados com água potável e ração apropriada [Ração para coelhos Linha Natural – PURINA] *ad libitum*. Os 14 animais foram divididos em dois grupos de sete, denominados grupo A e B. Os indivíduos do grupo A foram eutanasiados após 30 dias do procedimento cirúrgico e do grupo B, após 60 dias.

Os coelhos foram colocados em jejum alimentar por oito horas, com água a vontade, previamente às condutas operatórias. No pré-operatório imediato receberam antibioticoterapia à base de enrofloxacin [Enrotec 50® (50mg/ml) – FATEC S/A] a 5%, na dose de 5mg/Kg, por via subcutânea.

A modalidade anestésica utilizada foi anestesia volátil. Foram pré-medicados com 0,06mg/kg de sulfato de atropina [Sulfato de atropina (0,5mg/ml) – ARISTON] via subcutânea e 1mg/kg de cloridrato de tramadol [Cloridrato de tramadol (50mg/ml) genérico – UNIÃO QUÍMICA] via intramuscular. Após 15 min, foi realizada a indução anestésica com cloridrato de cetamina [Dopalen® (100mg/ml) – VETBRANDS] 30mg/kg e xilazina [Dopaser® (20mg/ml) – CALIER] 2mg/kg, na mesma seringa, via intramuscular. A manutenção anestésica foi realizada em aparelho de anestesia inalatória [Aparelho de anestesia 2605 serie Origami – TAKAOKA] com uma mistura de oxigênio

comprimido medicinal – WHITE MARTINS] (O₂) e isoflurano [Forane® – ABBOTT], por meio de vaporizador universal, com máscara, em sistema aberto tipo Baraka [Multiagente Modular 1410 – TAKAOKA]. Após o procedimento cirúrgico os animais receberam via intramuscular flunixin meglumina [Meflosyl® (50mg/ml) – FORT DODGE] na dose de 1mg/kg e ioimbina [Ioimbina (0,5%) – FARMÉDICA] na dose de 0,8mg/kg.

Na técnica operatória empregada (Moraes et al., 2004), os membros torácicos foram tricotomizados e preparados adequadamente com a devida anti-sepsia. Para o acesso cirúrgico do osso rádio foi realizada uma incisão longitudinal com aproximadamente quatro centímetros incluindo pele e tecido subcutâneo na face dorso-medial do membro (Figura 1A), até a localização do periósteo, que também foi incisado longitudinalmente, afastado e mantido aderente à musculatura adjacente, assim sendo, expondo a diáfise do rádio. Com o intuito de preservar a ulna e os tecidos moles adjacentes ao local da ostectomia, foram utilizadas lâminas metálicas e curetas odontológicas entre o rádio e a ulna, através do ligamento interósseo, que também foi excisado (Figura 1B). Com auxílio de uma régua de aço foi mensurada a área da ostectomia (Figura 1C). A mesma foi realizada perpendicularmente ao eixo longitudinal da diáfise do rádio, no terço médio distal, a quatro centímetros da articulação do carpo, com auxílio de uma serra oscilante [Gison pneumatic tools – Modelo Nº GP-931] (Figura 1D), umedecendo o local constantemente com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% [JP indústria farmacêutica S.A.], evitando assim o aquecimento e consequente necrose do tecido ósseo. O fragmento foi retirado (Figura 1E) e proporcionou uma falha óssea de aproximadamente um centímetro de extensão (Figura 1F). A falha óssea foi inspecionada e lavada com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, para retirar qualquer esquirola óssea. Ato contínuo foi realizada a sutura da fáscia muscular e da pele com pontos simples separados, utilizando fio de nylon 4-0 [Mononylon 4-0 Ethicon®] (Figura 1G e 1H).

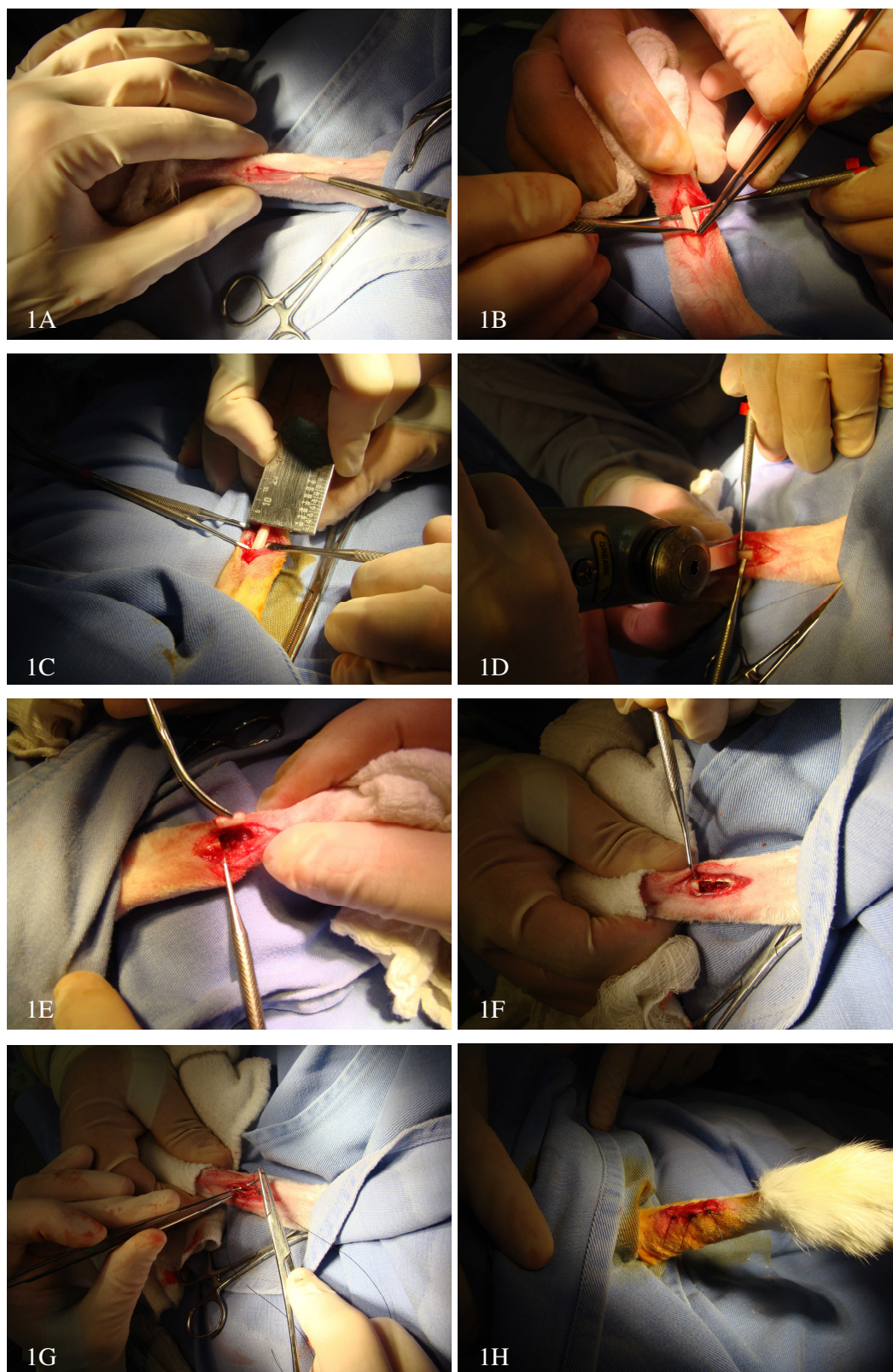


FIGURA 1: (A-H) Imagens fotográficas do procedimento cirúrgico. Em 1A, incisão da pele; em 1B, exposição da diáfise do osso rádio e colocação das curetas entre o rádio e a ulna; em 1C, mensuração da região da ostectomia do rádio; em 1D, corte do osso com serra oscilante; em 1E, retirada do fragmento ósseo; em 1F, falha óssea; em 1G, fechamento das fâscias musculares e em 1H, sutura de pele.

Os animais receberam durante cinco dias no pós-operatório enrofloxacina a 5% [Enrotec 50® (50mg/ml) – FATEC S/A] na dose de 5mg/kg, por via subcutânea uma vez ao dia e por três dias flunixinina meglumina [Meflosyl® (50mg/ml) – FORT DODGE] na dose de 1mg/kg, por via subcutânea também uma vez ao dia. Também foi realizado curativo da ferida cirúrgica uma vez a cada dois dias até a retirada dos pontos com 10 dias. O acompanhamento e a observação clínica diária sucederam-se até o final do experimento, a fim de se verificar qualquer alteração de comportamento, reação tecidual na ferida cirúrgica e eventual claudicação ou resistência em apoiar o membro.

O exame radiográfico do membro torácico foi realizado no pós-operatório imediato, quatro e oito semanas após a cirurgia. Foram confeccionadas radiografias em projeções craniocaudais e mediolaterais dos membros operados. Para tais, utilizou-se aparelho de Raios-X [Raicenter modelo RC 600 plus] e filmes radiográficos [Kodak MXG 18X24] montados em chassi metálico [Metaltronica 18x24] com écrans intensificadores [Kodak Lanex®]. As radiografias foram confeccionadas com chassi sobre a mesa a uma distância foco-filme (DFF) de 90cm, utilizando técnica radiográfica com 30Kvp e 3mAs. Os filmes foram identificados com auxílio de um identificador luminoso [Metaltronica] e processados automaticamente [Macrotec MX-2].

A avaliação quantitativa da reparação óssea das falhas, através da reação proliferativa periosteal foi realizada por meio de avaliação e interpretação radiográfica.

Nos tempos estabelecidos para o experimento, os animais foram eutanasiados e a ulna e o rádio direitos dos animais removidos em bloco. Em seguida, foram removidos os tecidos moles, os ossos foram fixados em formol tamponado a 10% por 48h e depois descalcificados em solução de ácido nítrico a 5% por cinco dias em temperatura ambiente. Após a descalcificação, os cotos distal e proximal à falha foram separados do restante do rádio e passaram por processos de desidratação em bateria crescente de álcool, diafanização em xylol e de inclusão em parafina [Erv-plast – ERVIEGAS]. Os blocos prontos foram levados ao microtomo [Leitz mod 1512] e cortados em tiras transversas de 4µm, montados em lâminas e lamínulas e corados com hematoxilina

[Hematoxilina-Harris – INBRALAB] e eosina [Eosina amarela – VETEC]. As lâminas foram avaliadas por microscopia de luz [Microscópio Leica mod DMLS] em aumentos de 40x, 100x e 400x. Durante a avaliação histológica foram observadas a espessura do córtex, arquitetura tecidual, presença de necrose ou apoptose e morfologia da neoformação óssea.

Resultados

A manipulação dos animais ocorreu sem problemas, com o passar do tempo e o contato diário, os mesmos tornaram-se dóceis facilitando a administração dos medicamentos e a realização dos curativos.

Só o jejum alimentar foi o bastante para evitar qualquer transtorno durante a indução anestésica. A técnica, utilizando derivado opióide na medicação pré-anestésica (cloridrato de tramadol) associado a um hipnoanalgésico benzodiazepínico (diazepan); um agonista α_2 -adrenérgico (cloridrato de xilazina) associado a um anestésico dissociativo (cloridrato de cetamina) na indução e o isoflurano na manutenção, promoveu uma ótima analgesia. Não foi possível realizar a intubação orotraqueal dos animais para a administração dos agentes voláteis, entretanto, não houve intercorrências com o emprego da máscara para a manutenção anestésica.

Durante a monitoração não houve oscilações dignas de nota nos parâmetros dos pacientes, que também tiveram um retorno anestésico sem excitações.

A técnica cirúrgica proporcionou fácil acesso ao osso rádio, bem como a realização da ostectomia. O tempo cirúrgico a partir da incisão de pele e seu fechamento, não excederam 15min. O material cirúrgico utilizado para a confecção da falha também foi suficiente não necessitando de instrumentos extremamente específicos.