

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ENXERTOS ÓSSEOS:
uma alternativa no tratamento de animais de companhia

Henrique Nunes Machado

PORTO ALEGRE
2016/2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ENXERTOS ÓSSEOS:
uma alternativa no tratamento de animais de companhia

Autor: Henrique Nunes Machado

Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para a obtenção da graduação em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Meller Alievi

Coorientador: M. Sc. Lucas Antonio Heinen Schuster

PORTO ALEGRE

2016/2

RESUMO

Restaurar a integridade esquelética e a regeneração do tecido ósseo ainda é um desafio significativo. A enxertia óssea tem sido utilizada para reparos ortopédicos em cirurgia humana e veterinária por várias décadas e está em busca de novas abordagens para aprimorar a cicatrização óssea. Os enxertos ósseos são transplantes ósseos que podem ser classificados de acordo com a sua composição estrutural (esponjoso, cortical ou corticoesponjoso), origem (autógenos, alógenos ou xenógenos), método de conservação (fresco, congelado, liofilizado, desmineralizado, em mel, em glicerina ou em óxido de etileno) e forma de apresentação (em pó, gel, grânulos, tiras, blocos ou maciço). Cada um dos tipos e classificações de enxerto tem suas vantagens e desvantagens. Encontrar novos instrumentos e novos locais para a colheita de enxerto são as principais preocupações dos pesquisadores, a fim de reduzir as morbidades do sítio doador em enxertos autógenos, enquanto a procura de agentes que estimulem a osteoindução dos enxertos alógenos é a principal preocupação em relação a esses materiais de enxerto. Relacionar estes principais elementos que envolvem os enxertos ósseos com seu emprego no campo da cirurgia ortopédica em animais de companhia é o principal objetivo desta revisão.

ABSTRACT

Restoring the bone integrity and bone tissue regeneration is still a significant challenge. Bone grafting has been used to orthopedic repairs in human and veterinary surgery for several decades and is in search of new approaches to improve the bone healing. Bone grafts are bone transplants that may be classified according to their structural composition (cancellous, cortical or corticocancellous), origin (autogenous, allogeneic or xenogene), conservation method (fresh, frozen, lyophilized, demineralized, in honey, in glycerin or in ethylene oxide) and presentation form (in powder, gel, granules, strips, blocks or massive). Each one of the graft types and classifications has their advantages and disadvantages. Find new tools and new places for the graft harvest are the researchers' main concerns in order to reduce the morbidities of the donor site in autogenous grafts, while the search for agents that stimulate the osteoinduction of allogeneic grafts is the main concern related to these graft materials. Relating the main elements that involve bone grafts to their use in the field of orthopedic surgery in companion animals is the main objective of this review.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	7
2.	HISTÓRICO.....	8
3.	PROPRIEDADES DE ENXERTOS ÓSSEOS	10
4.	CLASSIFICAÇÃO DOS ENXERTOS QUANTO À COMPOSIÇÃO ESTRUTURAL.....	12
4.1.	ENXERTO ÓSSEO ESPONJOSO	12
4.2.	ENXERTO ÓSSEO CORTICAL	12
4.3.	ENXERTO ÓSSEO CORTICOESPONJOSO.....	13
5.	CLASSIFICAÇÃO DOS ENXERTOS QUANTO À ORIGEM	14
5.1.	ENXERTO ÓSSEO AUTÓGENO	14
5.2.	ENXERTO ÓSSEO ALÓGENO	15
5.3.	ENXERTO ÓSSEO XENÓGENO	16
6.	IMPLANTAÇÃO E INCORPORAÇÃO DO ENXERTO ÓSSEO.....	17
7.	OBTENÇÃO DOS ENXERTOS ÓSSEOS.....	19
8.	PROCESSAMENTO E CONSERVAÇÃO	20
8.1.	LIOFILIZAÇÃO.....	20
8.2.	CONGELAMENTO.....	21
8.3.	GLICERINA 98%	22
8.4.	MEL.....	22
8.5.	ÓXIDO DE ETILENO	23
9.	ADJUVANTES AUTÓGENOS	24
9.1.	MEDULA ÓSSEA	24
9.2.	PROTEÍNAS ÓSSEAS MORFOGENÉTICAS (BMP)	24
9.3.	PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP)	25
9.4.	FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS (L-PRF)	26

10. INDICAÇÕES DE ENXERTOS ÓSSEOS NA MEDICINA VETERINÁRIA	27
10.1. FRATURAS DE PELVE.....	27
10.2. PERDAS ÓSSEAS	28
10.3. OSTEOTOMIAS CORRETIVAS	28
10.4. PRESERVAÇÃO DE MEMBRO.....	28
10.5. ARTRODESE	29
11. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS.....	31

1. INTRODUÇÃO

Em Medicina Veterinária surgem todos os dias inúmeras situações de competência da cirurgia ortopédica que exigem a utilização de enxertos ósseos. O estímulo da cicatrização óssea por aplicação de enxerto ósseo é utilizado em um número significativo de cirurgias ortopédicas a cada ano. O número de enxertos ósseos no ano de 2006 ultrapassou 500 mil nos EUA e 2,2 milhões em todo o mundo (LAURENCIN et al., 2006).

As indicações mais comuns para a utilização de enxerto ósseo em cirurgia ortopédica incluem falhas nos locais de fratura, fraturas cominutivas, fraturas com união tardia ou não-união, artrodeses, osteotomias corretivas, fusão espinhal, perda óssea devido à neoplasia ou cistos ósseos. Outras indicações para o uso de enxertos ósseos são procedimentos de alongamento de membros, aprimoramento de próteses de substituição de articulação, preenchimento de orifícios deixados por parafusos após remoção de placas, neurocirurgias, cirurgias maxilofaciais e procedimentos odontológicos (ZAMPROGNO, 2004; KAVEH et al., 2010).

O enxerto ósseo autógeno é definido como o tecido ósseo colhido de um sítio e transplantado em outro sítio no mesmo indivíduo. Já no enxerto ósseo alógeno, o doador e o receptor são indivíduos diferentes, porém da mesma espécie. Finalmente, o enxerto ósseo xenógeno é realizado com o tecido ósseo colhido de um indivíduo e implantado em outro de diferente espécie. Os enxertos ósseos podem ainda ser classificados de acordo com sua composição estrutural em esponjosos, corticais e corticoesponjosos (KAVEH et al., 2010).

A incorporação do enxerto ósseo é definida pela taxa de reabsorção e substituição do enxerto pelo osso hospedeiro. Tal processo depende do contato entre o leito receptor e o tecido doador, juntamente com o início de vários processos independentes, como a osteogênese, osteoindução e osteocondução (ZAMPROGNO, 2004).

Esta revisão aborda uma breve parte da história dos enxertos ósseos, suas propriedades necessárias, suas definições e classificações, seu processo de incorporação ao leito receptor, os principais locais anatômicos de sua obtenção, os métodos de seu processamento e conservação, as possíveis associações com materiais autógenos osteoindutores, as principais situações clínicas e técnicas cirúrgicas veterinárias em que sua utilização é recomendada e, por fim, como selecionar em cada caso clínico a melhor opção disponível.

2. HISTÓRICO

O primeiro procedimento envolvendo um enxerto ósseo bem sucedido foi descrito em 1668. Nesta ocasião, o cirurgião holandês Van Meekeren utilizou um fragmento de crânio canino como transplante para o crânio de um soldado russo, obtendo uma boa integração do enxerto com o sítio receptor (WEIGEL, 1993).

Muitas tentativas de enxertos de tecidos foram realizadas pelo cirurgião escocês John Hunter (1728-1793). Grande parte do seu conhecimento pode ser atribuído à sua prática militar e sua experiência com animais. Hunter pensava que a cura depende do poder inato do corpo e que a missão do cirurgião é contribuir para esse poder. Isso o motivou a realizar pesquisas sobre corpos livres em articulações, pseudoartrose e cicatrização de fraturas, descrevendo a transformação do hematoma de fratura em calo fibrocartilaginoso, com posterior deposição de osso novo, trabeculação, reestabelecimento do canal medular e reabsorção do excesso de tecido ósseo (KAVEH et al., 2010).

Louis Leopold Ollier (1830-1900) foi um cirurgião francês pioneiro em procedimentos de enxertos ósseos. Embora tivesse sucesso, seus métodos e as teorias por trás deles estavam em desacordo. Ollier descreveu pela primeira vez a discondroplasia, ou doença de Ollier. Realizou extensas pesquisas sobre o crescimento ósseo e acreditava que poderia ser possível algum dia tratar os pacientes estimulando a sua cartilagem para ossificar (KAVEH et al., 2010).

Outros cirurgiões também se destacaram neste segmento da ortopedia. O cirurgião escocês Sir William Macewen (1848-1924) efetuou muitos enxertos ósseos, além de ter executado diversas osteotomias e ter criado o osteótomo de uma peça. Houve também Robert Jones (1848-1924), uma das mais significativas figuras na área de enxertos ósseos e considerado por muitos como o maior cirurgião ortopédico que o mundo já tinha visto. Além destes, Willis Campbell (1880-1941) também foi uma figura importante para a ortopedia, realizando enxertos ósseos *inlay* de espessura total em casos de não-união, fixados com parafuso de osso bovino (KAVEH et al., 2010).

O primeiro relato do uso de enxerto ósseo em medicina veterinária foi em 1976, quando Wadsworth e Henry utilizaram enxertos ósseos corticais em dois felinos, sendo que em um dos animais o fragmento ósseo enxertado era fresco, e no outro, que apresentava

uma fratura cominutiva de fêmur, congelado. As intervenções foram bem sucedidas, com cura óssea satisfatória (WADSWORTH e HENRY, 1976).

3. PROPRIEDADES DE ENXERTOS ÓSSEOS

Osteogênese, em se falando de enxertos, é a propriedade responsável pela formação óssea a partir das células transplantadas do tecido ósseo doador, o que a faz totalmente dependente da sobrevivência dos osteoblastos e osteócitos nele presentes. Tais células são preservadas por difusão dos tecidos circundantes do hospedeiro, até que ocorra a revascularização (KAVEH et al., 2010). A formação óssea requer que a maquinaria celular fabrique seus componentes estruturais, portanto, técnicas que objetivem a regeneração óssea não podem negligenciar a introdução de células. Os métodos mais eficazes nutrem um ambiente celular precoce (CARDOSO et al., 2006).

A osteoindução consiste em empregar ativamente células osteogênicas e fatores de crescimento do tecido ósseo transplantado, provocando a formação óssea indiretamente. As células osteoindutoras recrutam células osteogênicas do receptor para infiltrar o enxerto (quimiotaxia e migração) e induzem as células pluripotentes a multiplicarem e se diferenciarem em células que compõem o calo ósseo regenerador (proliferação e diferenciação) (CARDOSO et al., 2006; KAVEH et al., 2010).

A propriedade encarregada de fornecer o espaço necessário para que a osteoindução e a osteogênese possam ocorrer é a osteocondução. Baseia-se em proporcionar, através dos materiais de enxerto, o arcabouço adequado para a migração e distribuição das células envolvidas na vascularização e cicatrização óssea, as quais necessitam de apoio estrutural e maior superfície de contato possível com o enxerto. O processo varia muito nos diferentes materiais de enxerto e depende das estruturas tridimensionais do enxerto, porosidade, propriedades químicas da superfície e taxa e mecanismo de degradação (CARDOSO et al., 2006; KAVEH et al., 2010).

Fornecer suporte mecânico é particularmente importante em circunstâncias em que é fundamental a formação de um calo ósseo que una com relativa rapidez os fragmentos ósseos. São exemplos os casos de enxertos ósseos no tratamento de excisão de neoplasias ósseas ou fragmentação de fraturas após a sua osteossíntese, com o intuito de resistir às forças que são exercidas sobre o enxerto quando do apoio do membro, minimizando a possibilidade de falha das referidas osteossínteses (PIERMATTEI, 2006; DIAS et al., 2013).

Seguramente o sucesso da incorporação do enxerto ósseo vai requerer a combinação destas propriedades. Estes processos são importantes, contudo há outros fatores que também podem desempenhar papel na fisiologia do enxerto, como a textura da superfície do enxerto, a idade e o nível de saúde do receptor (ZAMPROGNO, 2004).

4. CLASSIFICAÇÃO DOS ENXERTOS QUANTO À COMPOSIÇÃO ESTRUTURAL

4.1. Enxerto ósseo esponjoso

Enxertos formados por osso esponjoso são caracterizados por finas trabéculas separadas por espaços repletos de células hematopoiéticas, condição que facilita a migração de vasos, células e deposição de tecido ósseo (WEIGEL, 1993). A neoformação óssea nestes tecidos ocorre de forma aposicional, com substituição completa do material enxertado ao passar do tempo, pois são vascularizados mais rapidamente e de maneira mais completa (CASTANIA, 2002).

O enxerto ósseo esponjoso atua como um bom preenchedor de falhas ósseas, guiando o processo de regeneração óssea. Este é um aspecto clinicamente importante quando se deseja restabelecer o formato anatômico exato da estrutura óssea danificada (MORATO, 2013).

Por ser extraído da cavidade medular da região metafisária de ossos longos, o enxerto esponjoso tem como principais locais para a colheita a metafise do úmero, a crista ilíaca e a da metafise da região proximal tibial. Todos os três locais têm cobertura mínima de tecidos moles e são facilmente acessíveis (FOSSUM, 2015).

Apesar de não proporcionar suporte mecânico significativo, a presença do enxerto esponjoso em falha óssea gera preenchimento radiográfico maior em comparação a animais que não recebem enxerto (MORATO, 2013).

4.2. Enxerto ósseo cortical

Obtido do córtex dos ossos longos, o enxerto ósseo cortical possui uma microarquitetura bastante compacta, formada por lâminas justapostas, intensamente mineralizadas, dispostas concentricamente ao redor dos canais de Havers, que são túneis por onde as arteríolas penetram para nutrir os osteócitos. Por promover principalmente suporte estrutural, o tratamento de fraturas cominutivas é a maior indicação para o uso de enxerto cortical na medicina veterinária. Também pode ser utilizado em alongamento

ósseo, tratamento de não-união de fraturas e preservação de membros (KAVEH et al., 2010).

O enxerto ósseo cortical permanece mesclado ao osso neoformado pelo hospedeiro por muito tempo, o que é justificado por sua densidade, que dificulta a difusão de nutrientes e células e retarda o processo de reabsorção (GOLDBERG e STEVENSON, 1987).

4.3. Enxerto ósseo corticoesponjoso

Os enxertos compostos tanto pelo tecido ósseo esponjoso quanto pelo compacto é denominado corticoesponjoso. Assim como o enxerto cortical, sua obtenção através do próprio receptor se torna impraticável, visto que lesionaria demasiadamente uma região óssea secundária. Teoricamente este tipo de enxerto fornece tanto o suporte mecânico que falta aos enxertos esponjosos, quanto a melhor osteocondução que é escassa nos fragmentos corticais. Seu uso é mais difundido no campo da odontologia humana que em outras áreas, sendo utilizado em casos de perdas ósseas severas e reconstruções bucomaxilofaciais (BORGES, 2014).

5. CLASSIFICAÇÃO DOS ENXERTOS QUANTO À ORIGEM

5.1. Enxerto ósseo autógeno

O enxerto é denominado autógeno quando transplantado de um sítio a outro no mesmo indivíduo, evitando incompatibilidade imunológica e, por conseguinte, favorecendo os processos de revascularização e reparação. Considerado padrão-ouro, o enxerto ósseo autógeno reúne em si as três propriedades mais relevantes em materiais de enxerto ósseo: é simultaneamente osteogênico, osteoindutor e osteocondutor. Outro benefício de seu uso é eliminar a possibilidade de transmissão de doenças infectocontagiosas (CASTANIA, 2002; RAGETLY e GRIFFON, 2011).

A necessidade de um procedimento cirúrgico secundário, em uma superfície óssea adicional, demonstra que o enxerto autógeno possui também marcadas limitações. A dor pós-operatória, o aumento do risco de infecção, o aumento do tempo cirúrgico, a variabilidade da qualidade do osso e a limitada quantidade de material que é possível retirar para o enxerto são as principais adversidades existentes (RAGETLY & GRIFFON, 2011).

O enxerto ósseo esponjoso autógeno é o enxerto mais comumente utilizado na Medicina Veterinária, sendo indicado para quase todas as situações que exijam enxerto ósseo. Contudo, este material é especialmente útil em casos que o sítio receptor é pobre em osteoblastos e a neoformação óssea ocorre mais lentamente. São exemplos os defeitos de ossos longos, locais afetados por infecção e ossos com danos vasculares significativos (KAVEH et al., 2010).

Kim et al. (2009) utilizaram questionários especificamente elaborados para mensurar a dor em humanos que tiveram osso autógeno colhido da crista íliaca. Os resultados demonstraram que, mesmo 12 meses após a cirurgia, 15,1% dos pacientes relataram dor na região óssea doadora capaz de gerar dificuldade em caminhar, enquanto 14,1% manifestaram dificuldade em realizar as tarefas domésticas. Além disso, 29,1% dos pacientes revelaram ainda sentir dormência, sendo que 11,3% referiram que essa dormência era incomodativa. Estes resultados são particularmente importantes para sustentar a ideia de que, relacionada à utilização do osso autógeno para material de enxerto, existe uma persistência de dor na região doadora considerada pelos pacientes como limitante.

Em teoria, não existe nada que indique que a coleta de osso autógeno gere menos dor em animais de companhia. É indiscutível que o acesso e a coleta possam ser mais dolorosos em determinados ossos que em outros, ou ainda que a técnica cirúrgica de coleta possa influenciar a persistência da dor pós-operatória. Contudo, não há razão para pensar que não exista dor igualmente relevante associada a procedimentos correspondentes em espécies veterinárias. A utilização deste material de enxerto, portanto, não deveria ser ponderada antes de serem consideradas todas as alternativas disponíveis (SILVEIRA, 2013).

A obtenção do enxerto autógeno pode implicar em risco para o paciente, devendo-se levar em conta o aumento da morbidade pós-operatória e o possível enfraquecimento do sítio doador. Além disso, o tempo cirúrgico sofre um acréscimo devido à colheita do osso autógeno (CASTANIA, 2002).

5.2. Enxerto ósseo alógeno

São denominados enxertos ósseos alógenos aqueles que são obtidos de um doador da mesma espécie que o animal receptor. Seu uso tem se tornado cada vez mais comum, tanto na medicina veterinária, quanto na humana, por não proporcionar a debilidade de uma região óssea secundária, como ocorre nos procedimentos realizados para obtenção de enxerto ósseo autógeno. Outra vantagem dos enxertos alógenos é que pode ser obtido em quantidade ilimitada, além de possibilitar maior liberdade na escolha da composição estrutural do enxerto, como enxertos corticais ou corticoesponjosos. Este material pode ser utilizado sozinho ou como um extensor de enxertos autógenos (KAVEH et al., 2010).

O tecido ósseo alógeno pode passar por diferentes processos para conservação, como congelamento, liofilização, radiação ou esterilização com óxido de etileno. Sua utilização enquanto fresco não é indicada devido ao potencial que sua porção celular tem de induzir uma severa resposta imune do receptor, além de poder transmitir doenças infecciosas. Materiais para enxertos ósseos alógenos na veterinária estão disponíveis comercialmente em diferentes formas, como gel, pó, pasta, bloco ou fitas (KAVEH et al., 2010).

5.3. Enxerto ósseo xenógeno

Caracterizados por terem o doador e o receptor de espécies diferentes, os enxertos xenógenos são uma alternativa aos enxertos autógenos e alógenos, pois estão disponíveis em grande quantidade e com fácil acesso. Contudo, assim como os enxertos alógenos, necessitam de técnicas de processamento para inibir a imunogenicidade do material a ser implantado (PADILHA FILHO et al., 2008).

Em um estudo realizado por Morato (2013) com coelhos, que receberam enxerto ósseo esponjoso liofilizado de cães em falha óssea de um centímetro no rádio, não foram evidenciadas fístulas ou reações inflamatórias intensas. Na avaliação radiográfica observou-se um baixo índice de falha de enxertia, com grau de incorporação do enxerto ausente em apenas 15,8% das 108 interfaces avaliadas. Foi possível observar a formação de ponte óssea radiograficamente perceptível em 75% das interfaces avaliadas, sendo a maioria dentre estas (54,6%) classificada como intensa, demonstrando boa consolidação óssea. A autora concluiu, portanto, que o enxerto ósseo canino é osteointegrável quando aplicado de maneira xenógena e, provavelmente o será quando da aplicação alógena.

Padilha Filho et al. (2008) utilizaram enxerto ósseo cortical bovino na osteotomia femoral em gatos, avaliando clínica e radiograficamente a eficácia dos xenoenxertos como substitutos aos pinos intramedulares de metal na correção de fraturas femorais diafisárias. Os autores concluíram que o enxerto xenógeno pode ser empregado nesta situação, proporcionando suporte mecânico em tempo suficiente para a união óssea. Contudo, o estudo mostrou que houve fratura do enxerto em três dos dez animais que foram submetidos ao procedimento, além de acavamento ósseo associado à fratura da cortical do fêmur em outros dois animais.

6. IMPLANTAÇÃO E INCORPORAÇÃO DO ENXERTO ÓSSEO

A quantidade de calo ósseo formada durante a consolidação do enxerto vai depender diretamente do grau de movimentação no foco da falha óssea, por isso, quanto maior a instabilidade, maior o diâmetro dos calos interno e externo. Para que se obtenha uma correta implantação, é necessário também que o ferimento esteja livre de infecção, o que pode causar reabsorção precoce do enxerto e osteomielite com formação de sequestro ósseo (STEVENSON, 2005; MILLIS e MARTINEZ, 2007).

O emprego de enxerto deve levar em conta a lesão vascular que pode ocorrer durante o procedimento. É necessária atenção redobrada aos princípios da cirurgia atraumática para que se alcance resultados satisfatórios. A principal preocupação reside na manipulação dos fragmentos fraturados durante o posicionamento do enxerto. Além disso, a necessidade de rebater os tecidos ao redor da fratura, por vezes em área extensa, pode posteriormente desvitalizar partes do osso, retardando a consolidação e aumentando o risco de infecção (HULSE e HYMAN, 2007).

Dentre os principais eventos biológicos ocorridos junto ao enxerto durante o processo de incorporação estão: formação de hematoma, com liberação de citocinas e fatores de crescimento; vascularização do enxerto, com inflamação, migração e proliferação de células mesenquimais, juntamente com formação de tecido fibrovascular dentro e ao redor do enxerto; fase de osteoindução, com revascularização do enxerto pelos canais de Havers e Volkmann; fase de osteocondução, com reabsorção osteoclástica das trabéculas ósseas enxertadas, simultaneamente à formação de tecido ósseo não lamelar sobre as trabéculas em necrose, por meio dos osteoblastos com origem no sítio receptor; fase de remodelação, com conversão em osso lamelar induzida pelas forças mecânicas que se exercem sobre o local do enxerto (BAUER e MUSCHLER, 2000).

Podemos determinar o grau de incorporação de um enxerto ósseo baseado em sua análise histológica ou em sua avaliação clínica. Histologicamente define-se como incorporado quando há revascularização e substituição do enxerto por osso novo do leito receptor. Quanto ao ponto de vista clínico, é considerado incorporado quando ocorrer união das interfaces enxerto-hospedeiro, sendo possível a sustentação do peso ao apoio sem manifestação de dor ou fratura (STEVENSON e HOROWITZ, 1992).

A incorporação dos enxertos corticais, diferentemente dos enxertos esponjosos, inicia com maior atividade dos osteoclastos em relação aos osteoblastos. Isto ocorre devido ao osso cortical ser extremamente denso e desprovido de porosidade, sendo necessária a reabsorção óssea periférica para que ocorra infiltração vascular. Sendo assim, enquanto a formação de osso novo no enxerto esponjoso ocorre de forma uniforme, com rápida revascularização, no enxerto cortical o novo osso se desenvolve principalmente a partir do leito receptor, dirigindo-se para o enxerto. Em alguns pacientes, a substituição do enxerto pode nunca ocorrer completamente (BAUER e MUSCHLER, 2000; MILLIS e MARTINEZ, 2007).

O período de consolidação óssea previsto é variável, sendo influenciado pela idade e raça do animal, localização e configuração da fratura, grau de lesão dos tecidos moles adjacentes, presença de defeitos ósseos e estabilidade do enxerto (MILLIS E MARTINEZ, 2007).

O processo de rejeição do enxerto ósseo é caracterizado por inflamação com presença linfocitária, ruptura vascular, encapsulamento fibroso, reabsorção da periferia do enxerto, não-união e fratura por fadiga. Aparentemente o componente mais imunogênico do osso é a medula óssea (SALBEGO, 2010).

7. OBTENÇÃO DOS ENXERTOS ÓSSEOS

Os locais de colheita mais comuns para a obtenção enxertos autógenos são: a crista ilíaca, a crista tibial, o tubérculo maior do úmero e o trocânter maior do fêmur. A escolha do local depende de diferentes fatores, como o posicionamento do paciente, quantidade de enxerto necessário, tipo de cirurgia, instrumentação disponível e preferência do cirurgião (KAVEH et al., 2010).

Os enxertos alógenos devem ser colhidos com o animal doador sob plano profundo de anestesia ou ainda poucos minutos depois da eutanásia (HENRY e WADSWORTH, 1981). Contudo, em seu estudo, Salbego (2010) realizou a colheita dos enxertos corticais entre duas e quatro horas após o óbito, mantendo os cadáveres em câmara frigorífica até que fosse possível realizá-la.

Para a obtenção de um enxerto alógeno seguro, o doador deve ser hígido, esqueleticamente maduro e livre de sequelas decorrentes de trauma ósseo, doença infectocontagiosa ou neoplásica (MILLIS e MARTINEZ, 2007).

É necessário que o método de colheita e conservação dos enxertos ósseos seja viável, de fácil utilização e acessível à rotina das clínicas de pequenos animais. O emprego de técnica asséptica é crítico durante a colheita do enxerto, a menos que o fragmento a ser enxertado passe por um processo de esterilização, não havendo interesse na porção orgânica do osso (STEVENSON, 2005).

Evidências da preservação das propriedades dos enxertos ósseos por meio da glicerina, assim como por outros conservadores, possibilitam que sejam criados bancos de ossos destinados à enxertia. A criação do banco de ossos possibilita a disponibilidade de material biológico para variados procedimentos ortopédicos, sendo que um único doador pode fornecer muitos segmentos ósseos. Por haver uma crescente necessidade de tecidos musculoesqueléticos para transplante decorrente do desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas, diversos serviços hospitalares estão se dispondo a ter sua própria fonte de tecidos para transplante (OLIVEIRA et al., 2013).

8. PROCESSAMENTO E CONSERVAÇÃO

Enxertos ósseos alógenos e xenógenos frescos apresentam resultados clinicamente insatisfatórios devido à resposta imunogênica e à lenta incorporação consequente. Métodos de modificações e conservação de enxertos ósseos têm sido desenvolvidos com o objetivo de reduzir a imunogenicidade destes tecidos, permitindo seu armazenamento em longo prazo e garantindo segurança em sua utilização (FERREIRA et al., 2012).

8.1. Liofilização

A técnica de liofilização consiste no congelamento rápido do osso, previamente lavado e desengordurado, seguido de desidratação por sublimação. Este processo acontece por meio do liofilizador, que mantém em seu interior condições de baixa temperatura e pressão necessárias. Assim, ocorre mínima alteração bioquímica do tecido e preservação da sua estrutura celular, o que não seria possível no processo de desidratação convencional por evaporação (BOSS, 2004).

A utilização de enxertos mantidos em temperatura ambiente, como os obtidos por liofilização, mostra-se prática. A facilidade no armazenamento e transporte, simplicidade do acesso aos enxertos durante os procedimentos cirúrgicos e a possibilidade de conservação por longos períodos proporcionados pela técnica possuem grande relevância, principalmente quando se leva em consideração o aprimoramento de procedimentos cirúrgicos ortopédicos (MORATO, 2013).

Durante o preparo de enxertos alógenos e xenógenos, é indicado que seja realizado o desengorduramento previamente à liofilização com o intuito de remover os possíveis agentes imunogênicos, como células medulares e gordura. Além disso, a completa remoção celular elimina virtualmente o risco de transmissão de doenças tumorais (GALIA et al., 2005).

Em seu estudo, Morato (2013) observou que após serem lavados com água corrente sob alta pressão, os ossos esponjosos não aparentavam possuir gordura aderida em meio às trabéculas. Contudo, ao fazer o desengorduramento por imersão em solução homogênea de álcool e clorofórmio, foi possível observar uma quantidade considerável de gordura

remanescente formando sobrenadante espesso na solução. Há variação na quantidade de imersões necessárias para cada fragmento ósseo até que o sobrenadante deixe de se formar, sendo em média de 2 a 3 banhos.

Morato (2013) concluiu que o desengorduramento e a liofilização ocasionam adequada redução da antigenicidade do osso esponjoso canino. Constatou também que há um potencial osteoindutor remanescente no osso esponjoso liofilizado, contudo destaca que seria importante a realização de estudos microscópicos de marcação celular que confirmem tal propriedade.

Comparando diferentes técnicas de conservação, Ferreira et al. (2012) observaram que os enxertos corticais alógenos liofilizados apresentaram incorporação do enxerto ao sítio receptor em um percentual muito menor de animais, em relação aos enxertos autógenos e alógenos congelados ou preservados em mel. Entre os métodos estudados, portanto, a liofilização mostrou ser o menos eficaz em relação ao manuseio e à frequência de consolidação.

Os enxertos liofilizados necessitam ser esterilizados, pois o processo de liofilização não é asséptico. A esterilização, quando realizado em autoclave, pode reduzir a resistência à compressão dos enxertos ósseos liofilizados em até 70%, aumentando significativamente o risco de fraturas do enxerto no pós-cirúrgico (FERREIRA et al., 2012).

8.2. Congelamento

O congelamento diminui de forma considerável a imunogenicidade do enxerto ósseo, preservando suas propriedades biomecânicas e osteoindutivas. Sua maior vantagem é a simplicidade de preparação e armazenamento. Contudo, tem como desvantagem a persistência de risco significativo de transmissão bacteriana e viral para o receptor (OLIVEIRA, 2002).

Baptista et al. (2003) realizaram um estudo com ossos humanos, analisando histologicamente os ossos de vinte indivíduos no momento da coleta asséptica (48h após sua chegada no Serviços de Verificação de Óbitos) e os ossos colaterais dos mesmos indivíduos preservados durante trinta dias a menos 80°C. Os autores observaram que os possíveis aloenxertos tiveram 85% de sua vascularização preservada, fato que pode

viabilizar sua incorporação mais precocemente. Os autores concluíram que o congelamento ósseo altera a viabilidade celular, contudo não altera suas propriedades de maneira que possa ser contra-indicado em cirurgias ortopédicas.

8.3. Glicerina 98%

A glicerina atua como eficiente meio de conservação de fragmentos ósseos, mantendo-os livres de contaminação durante o armazenamento e agindo como redutora da antigenicidade. Além disso, preserva as funções de osteoindução e osteocondução e apresenta baixo custo (ZILIOTTO et al., 2003; SALBEGO, 2010).

Devido à ação desidratante da glicerina, o fragmento ósseo conservado torna-se ressecado e de difícil manuseio, o que requer uma hidratação prévia à sua implantação cirúrgica no leito receptor. Diferentes tempos de hidratação de implantes ósseos conservados em glicerina 98% não produzem alteração estatisticamente significativa à resistência biomecânica do osso cortical (SALBEGO, 2010).

Um dos cuidados que deve ser observado durante a conservação dos enxertos com este método é a troca da glicerina após sete dias de conservação, visto que na fase inicial do processo ocorre liquefação do meio por desidratação do implante. Por este motivo é recomendada a troca do meio para garantir a manutenção de sua integridade e proporcionar o efeito conservante apropriado (SALBEGO, 2010).

O tempo mínimo de conservação do implante em glicerina recomendado é de 28 dias, para que ocorra a total inativação das propriedades imunogênicas do enxerto, assim como o controle da contaminação (SALBEGO, 2010).

8.4. Mel

O mel é recomendado como um bom conservante de enxertos ósseos alógenos para uso em cães e gatos, sendo eficaz na redução da antigenicidade do material ósseo. Os custos de manutenção envolvidos na preservação de enxertos ósseos no mel são baixos, sua obtenção é fácil e dispensa equipamentos especiais para colheita e estocagem. A única precaução consiste em evitar a exposição do mel à luz e altas temperaturas, condições que

podem comprometer suas propriedades antimicrobianas: alta osmolaridade, produção de peróxido de hidrogênio, baixo pH e enzimas e flavonoides com ação antibacteriana (FERREIRA et al, 2012).

Em seu experimento, Alievi et al. (2007) utilizaram enxerto cortical alógeno conservado em mel no reparo de falha óssea induzida no fêmur de 14 cães. Os resultados foram satisfatórios, apresentando incorporação do enxerto 79,2% das interfaces analisadas.

8.5. Óxido de etileno

A esterilização com gás óxido de etileno tem como vantagens a possibilidade de o doador possuir doenças infectocontagiosas, a despreocupação quanto à assepsia da coleta e a simplicidade de implantar tal método.

Assim como precede à liofilização, é necessário o desengorduramento total do fragmento ósseo. Além disso, os enxertos ósseos devem ser desidratados em álcool absoluto por 48 horas antes de serem expostos ao óxido de etileno (CASTANIA, 2002).

Ensaio mecânicos realizados por Castania (2002) demonstraram que o processamento do fragmento ósseo em óxido de etileno provocou diminuição nos parâmetros de algumas propriedades mecânicas, como tensão, deformação e elasticidade. Isso deve implicar no uso cauteloso de enxertos que sofrem este processo, principalmente em sítios receptores que recebem grandes esforços.

9. ADJUVANTES AUTÓGENOS

9.1. Medula óssea

Métodos que tornam possíveis a concentração e obtenção de células osteoprogenitoras, como a centrifugação da medula óssea, são uma alternativa para potencializar a osteogênese dos enxertos ósseos, uma vez que a formação óssea estaria diretamente relacionada ao número de células-tronco mesenquimais disponíveis no local do transplante. A medula óssea contém células mesenquimais pluripotentes (células-tronco osteoprogenitoras) que são responsáveis pela neoformação de osso, quando combinadas com elementos da matriz óssea (DEL CARLO et al., 2004; MILLIS e MARTINEZ, 2007).

Existem poucos estudos sobre o uso de medula óssea associada a enxertos ósseos de cão, pois a maioria relata seu uso combinado com carreadores como esponjas de gelatina, matriz óssea desmineralizada, proteína morfogênica óssea ou implantes cerâmicos (MORATO, 2013).

Em seu experimento, Morato (2013) constatou que o osso esponjoso de cão atua como um adequado carreador da medula óssea aplicada, evitando que estes componentes se espalhassem para áreas distantes da falha óssea, complicação comumente observada, sobretudo no caso da medula óssea. O autor observou também que o uso de medula óssea associada ao enxerto ósseo esponjoso de cão, utilizado em falha óssea induzida no rádio de coelhos, proporcionou união com maior formação de pontes ósseas entre o leito receptor e o enxerto quando comparado ao uso isolado do osso liofilizado.

A crista ilíaca é o melhor lugar para a coleta de medula óssea, podendo ser facilmente aspirada mediante punção. Baixas taxas de complicações relacionadas à coleta e custo praticamente ausente também são fatores que podem encorajar os cirurgiões a associarem medula óssea autógena ao enxerto ósseo canino (MORATO, 2013).

9.2. Proteínas ósseas morfogenéticas (BMP)

As proteínas ósseas morfogenéticas ósseas são proteínas não colágenas, presentes na matriz óssea, responsáveis pelo recrutamento de células osteoprogenitoras para os locais

de formação óssea e sua diferenciação em osteoblastos e osteoclastos. As BMP são rapidamente difusíveis, portanto necessitam ser associadas a um carreador apropriado para que sejam efetivas (DEL CARLO et al., 2007).

Del Carlo et al. (2007) realizaram um estudo com 16 cães com o intuito de avaliar a integração de enxertos ósseos corticais alógenos, preservados em glicerina 98%, associados ou não a BMP, implantados em falhas induzidas na tíbia dos animais. Os autores concluíram que os animais que tiveram o enxerto alógeno combinado com as proteínas ósseas morfogenéticas demonstraram precocidade na formação óssea.

Monteiro et al. (2007) avaliaram a reparação óssea após implantação de enxerto autógeno associado a BMP em falhas ósseas produzidas no crânio de 20 coelhas. Ao fim do experimento, os autores concluíram que as BMP influenciaram positivamente na formação de novo tecido ósseo, promovendo maior mobilização, diferenciação, organização e remodelação celular e abrevia o tempo de formação óssea que se dá, predominantemente, por ossificação endocondral.

9.3. Plasma rico em plaquetas (PRP)

O PRP contém uma alta concentração de fatores de crescimento, sendo que estes possuem propriedades extremamente osteoindutoras, agindo na diferenciação das células osteoprogenitoras na osteogênese. Sua função é promover o crescimento vascular e a proliferação de fibroblastos, que proporcionam um aumento na síntese de colágeno (BARBOSA et al., 2008).

É fundamental que a contagem de plaquetas prévia ao preparo de PRP apresente níveis dentro dos padrões fisiológicos para a espécie, visto que a trombocitopenia pode ser considerada fator limitante para o processo. A divergência nos resultados dos estudos pode estar diretamente relacionada ao fato de que não há um protocolo padrão para a obtenção do PRP, variando a concentração e a disponibilidade das plaquetas no material de cada experimento (MAIA e SOUZA, 2009; SILVEIRA, 2013).

A ativação do PRP deve ser feita imediatamente antes da sua utilização terapêutica para adequado aproveitamento dos fatores de crescimento. É possível que um maior tempo

de espera após a ativação do PRP esteja relacionado à menor formação de ponte óssea (MORATO, 2013).

Em seu experimento, Morato (2013) testou também o PRP associado ao enxerto ósseo esponjoso canino aplicado em coelhos, demonstrando maior quantidade de osso neoformado em relação aos grupos experimentais de enxerto de osso esponjoso isolado ou associado à medula óssea. Assim o autor concluiu que o enxerto ósseo também é um carreador eficiente para concentrados plaquetários.

9.4. Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF)

Considerado por muitos como o método mais promissor de concentração de plaquetas, o protocolo de obtenção de Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos é bastante prático. O sangue é colhido na ausência de qualquer tipo de anticoagulante e imediatamente centrifugado, permitindo então a obtenção fácil de um coágulo, sem manipulação bioquímica do sangue. Assim, essa técnica acaba sendo a mais simples e barata para obtenção de um concentrado de plaquetas (EHRENFEST et al, 2008).

Ao contrário de outras técnicas, em que há adição de grandes quantidades de trombina exógena para que a coagulação aconteça, o protocolo para obtenção de L-PRF implica uma coagulação com concentrações de trombina praticamente fisiológicas. Tal fator possibilitará a estruturação tridimensional da malha de fibrina em uma rede fina, elástica e flexível, suportando a infiltração por fatores de crescimento e células (DOHAN et al., 2006). Sendo assim, o L-PRF associado a enxertos ósseos se apresenta como uma alternativa viável, contendo características que possibilitam a osteoindução e também a osteocondução (SILVEIRA, 2013).

É complexo avaliar a eficácia da terapêutica da utilização de concentrados de plaqueta em geral devido à infinidade de técnicas disponíveis para a sua obtenção, resultando em diferentes produtos finais, com concentrações plaquetárias, celulares e moleculares variadas. Além da concentração de plaquetas final, outra divergência acerca destes adjuvantes é a força e o tempo empregados na centrifugação no momento da sua preparação (SILVEIRA, 2013).

10. INDICAÇÕES DE ENXERTOS ÓSSEOS NA MEDICINA VETERINÁRIA

10.1. Fraturas de pelve

Fraturas de pelve são frequentes na rotina veterinária, sendo recomendado o tratamento conservador quando o deslocamento dos fragmentos fraturados é mínimo. Entretanto, caso ocorra um deslocamento grave dos fragmentos, com estreitamento do canal pélvico e comprometimento do suporte de peso, a fixação cirúrgica é a terapia melhor indicada. Nestes casos, os enxertos ósseos podem ser uma alternativa ao uso de placas (PIERMATTEI, 2006).

Em um estudo experimental (FILGUEIRAS et al., 2004), 16 cadelas receberam enxerto corticoesponjoso alógeno, oriundo de duas outras cadelas que tiveram a eutanásia recomendada por causas não infecciosas. O procedimento adotado deveria solucionar o estreitamento do canal pélvico e a instabilidade articular decorrentes da hemipelvectomia completa ou incompleta. Os enxertos, conservados em glicerina 98%, foram utilizados na reconstrução isquiopúbica após a ressecção por osteotomia bilateral. Os autores puderam concluir que o uso deste material foi positivo, pois os enxertos, além de não apresentarem reações imunogênicas, foram capazes de manter o espaçamento da pelve e a integridade das articulações coxofemorais. Filgueiras et al. (2004) ressaltam que se a largura do enxerto é menor que a da área da pelve receptora, pode haver deslocamento, instabilidade e conseguinte osteólise.

Garcia (2010) comparou biomecanicamente o uso de um enxerto ósseo cortical alógeno preservado em mel com o uso de hemicerclagem de fio de aço isoladamente frente às forças de flexão. As duas técnicas foram utilizadas na estabilização de osteotomia transversa de ílio em 13 pelves de cães mortos por causas não infectocontagiosas. Os resultados demonstraram que a fixação de osteotomia ilíaca com o uso de enxerto ósseo cortical alógeno canino preservado em mel apresenta maior resistência frente à força de flexão em relação à hemicerclagem de fio de aço isoladamente. Os autores advertem que sejam realizados estudos experimentais *in vivo* do método proposto antes de indicá-lo para a rotina cirúrgica veterinária.

10.2. Perdas ósseas

O uso de enxertos ósseos tem sido o procedimento de eleição na correção de perdas ósseas em ortopedia veterinária, como é o caso dos espaços resultantes da remoção de cistos ósseos. A etiologia da doença é desconhecida e a lesão cística em si não apresenta sinais clínicos, entretanto os animais podem apresentar claudicação, dor, rigidez articular e tumefação local devido à fragilidade proporcionada aos ossos. O tratamento recomendado para cistos ósseos simples é cirúrgico, por meio de drenagem, curetagem e posterior aplicação de enxerto ósseo autógeno, com o objetivo de obter consolidação óssea precocemente, visto que a ocorrência de fraturas está comumente associada a esta enfermidade. Miyazawa et al. (2005) relataram o resultado positivo do emprego da técnica em um cão Lhasa Apso, macho, de 3 anos de idade, que chegou ao consultório com histórico de claudicação intensa e dificuldades de locomoção do membro torácico esquerdo por mais de três meses. Após dez dias de pós-operatório, o animal já conseguia apoiar o membro normalmente.

10.3. Osteotomias corretivas

A técnica de avanço da tuberosidade da tíbia (TTA) é uma técnica que objetiva a correção da instabilidade articular quando há ruptura do ligamento cruzado cranial através de osteotomia da tíbia. A utilização de enxerto ósseo autógeno para preencher a lacuna produzida pela osteotomia resultante deste procedimento é uma excelente demonstração da aplicabilidade dos enxertos ósseos. Além disso, a TTA fornece grande oportunidade para que novos recursos no segmento de enxertos ósseos sejam experimentados e aprimorados sem que haja a necessidade de provocar falhas ósseas em animais hígidos (SILVEIRA, 2013).

10.4. Preservação de membro

Assim como na medicina humana, o osteossarcoma é o tumor que mais comumente afeta a extremidade dos ossos longos dos animais de companhia, representando cerca de 85% das neoplasias originárias do esqueleto em cães, estando 75% dentre estas no

esqueleto apendicular. O tratamento pode ser conservador, cirúrgico (amputação), quimioterápico, radioterápico e a associação entre esses, tendo em vista a individualidade de cada caso (LUONGO, 2013).

Um estudo experimental Ziliotto (2003) removeu o terço distal do rádio de seis cães e os substituiu por um enxerto cortical alógeno, conservado em glicerina 98% e com o canal medular preenchido com poliuretana de mamona. Ao fim do experimento, foi possível observar que a consolidação óssea ocorreu de forma apropriada em todos os animais, sendo que, após os trinta dias de pós-operatório, apresentaram função do membro classificada como boa a excelente. Tal resultado demonstra que o uso do enxerto cortical alógeno é uma alternativa à amputação do membro para cães com osteossarcoma, merecendo ainda mais estudos quanto a seu uso em animais doentes.

Em situações como essa, preservar o membro do animal não apenas lhe proporciona uma sobrevivência de maior qualidade, mas também agrada ao proprietário, que em muitos casos se recusa a autorizar a amputação (ZILIOTTO, 2003).

10.5. Artrodese

Em modelo experimental com 12 cães, Festugatto et al. (2013) concluíram que não existe diferença quanto ao grau de fusão articular e formação óssea quando a técnica de artrodese atlantoaxial em cães é associada a enxerto ósseo esponjoso alógeno ou até mesmo autógeno, afirmando então, que a remoção da cartilagem articular isoladamente é uma alternativa eficiente.

Isso vai contra o estudo de Drespe et. al (2005), que afirmam que o enxerto ósseo autógeno é crucial para o sucesso deste tipo de procedimento, contribuindo ativamente na osteogênese por meio das células que sobrevivem a enxertia.

11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É indiscutível a contribuição que o uso de enxertos ósseos tem concedido ao campo da cirurgia ortopédica em animais de companhia, abreviando o período de cicatrização óssea e até mesmo permitindo a prática de procedimentos que antes eram inimagináveis, como é o caso da preservação de membros. A busca incessante por novos usos para os enxertos ósseos tem possibilitado desfrutar de vantagens tais qual a redução do custo de procedimentos, como no exemplo do enxerto enquanto alternativa à placa em fraturas de pelve. Recursos como esse podem ser a única chance que alguns animais terão de viver com melhor qualidade de vida.

Escolher o enxerto ósseo a ser utilizado é uma tarefa que exige grande responsabilidade e conhecimento por parte do médico veterinário. No momento da decisão, todos os fatores possíveis devem ser levados em conta. É válido dar destaque a isso e lembrar que as condutas médicas não podem ser tratadas como “receitas de bolo”. Entre os fatores que devem ser considerados, estão os transtornos resultantes da coleta de enxerto autógeno. Obter a incorporação óssea algumas semanas antes não parece vantagem quando o preço que se paga por isso é dores recorrentes para o resto da vida.

Conhecer os métodos de conservação de enxertos ósseos é a chave para uma grande porta: a criação de bancos de enxertos ósseos em clínicas e hospitais veterinários. Muitos animais são eutanasiados ou acabam morrendo nesses locais todos os dias por causas não infecciosas, como atropelamentos, e levam consigo a oportunidade de outros animais que ainda vivem.

REFERÊNCIAS

- ALIEVI, M. M. et al. 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, 2007.
- BAPTISTA, A. D. et al. Estudo histológico dos enxertos ósseos homólogos humanos. **Acta ortop. bras.**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 220-224, 2003.
- BARBOSA, A. L. T. et al. Plasma rico em plaquetas para reparação de falhas ósseas em cães. **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1335-1340, 2008.
- BAUER, T. W.; MUSCHLER, G. F. Bone Graft Materials: An Overview of the Basic Science. **Clinical orthopaedics and related research**, v. 371, p. 10-27, 2000.
- BORGES, A. P. N. **Enxerto ósseo autógeno: revisão de literatura**. 2014. Trabalho de Conclusão da Especialização. Faculdade Sete Lagoas.
- BOSS, E. A. **Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel**. 2004. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas.
- CARDOSO, A. L. et al. Histologia e fisiologia do enxerto ósseo autógeno revisão de literatura. **Innovations implant journal**, v. 1, n. 1, p. 10-14, 2006.
- CASTANIA, V. A. **Enxerto córtico-esponjoso homogêneo processado quimicamente e esterilizado em óxido de etileno, em cães: análise mecânica e estudo da integração por meio de radiografias**. 2002. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- DEL CARLO, R. J. et al. Medula óssea autógena. Uma alternativa de enxerto em ortopedia veterinária. **Revista Ceres**, p. 411-418, 2004.
- DIAS, I. R. et al. Enxertos e substitutos ósseos em cirurgia ortopédica reconstrutiva nos animais de companhia: uma breve revisão. **Revista brasileira de medicina veterinária**, v. 35, n. 4, p. 339-350, 2013.
- DOHAN, D. M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 101, n. 3, p. e45-e50, 2006.
- DRESPE, I.H. et al. Animal models for spinal fusion. **Spine Journal**, v.5, p.209-216, 2005.
- EHRENFEST, D. et al. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). **Trends in biotechnology**, v. 27, n. 3, p. 158-167, 2009.

FERREIRA, M. P. et al. Comparison of lyophilization, and freezing in honey as techniques to preserve cortical bone allografts used to repair experimental femoral defects in domestic adult cats. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 2, p. 263-273, 2012.

FESTUGATTO, R. et al. Remoção da cartilagem articular associada ou não a implante homogêneo ou enxerto autógeno de osso esponjoso em cães submetidos à artrodese atlantoaxial. **Ciencia rural**, v. 43, n. 3, p. 466-473, 2013.

FILGUEIRAS, R. R. et al. Aloenxerto ósseo, preservado em glicerina, na reconstrução isquiopúbica após acesso ventral à cavidade pélvica de cadelas. **Ceres**, v. 51, n. 298, 2015.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 4. ed. São Paulo: Elsevier, 2015. cap. 32, p. 1062-1065.

GALIA, C. R. et al. Uso de enxerto ósseo homólogo e heterólogo em diáfise femoral de ratos: comparação entre enxerto ósseo congelado e liofilizado. **Revista brasileira de ortopedia**. São Paulo. Vol. 40, n. 3, p. 141-146, 2005.

GARCIA, E. F. V. et al. Análise biomecânica ex vivo de dois métodos de osteossíntese de ílio em cães. **Ciência Rural**, v. 40, n. 9, p. 1980-1986, 2010.

GOLDBERG, V.; STEVENSON, S. Natural history of autografts and allografts. **Clin Orthop Relat Res**, n.225, p.7-16, 1987.

HENRY JR, W. B.; WADSWORTH, P. L. Diaphyseal allografts in the repair of long bone fractures. **The Journal of the American Animal Hospital Association**, 1981.

HULSE, D.; HYMAN, B. Biomecânica e biologia das fraturas. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3. ed. Barueri: Manole, 2007. cap. 122, p. 1785-1792.

KAVEH, K. et al. Bone grafting and bone graft substitutes. **J. Anim. Vet. Adv**, v. 9, p. 1055-1067, 2010.

KIM, D. H. et al. Prospective study of iliac crest bone graft harvest site pain and morbidity. **The Spine Journal**, v. 9, n. 11, p. 886-892, 2009.

LAURENCIN, C. et al. Bone graft substitutes. **Expert review of medical devices**, 2014.

LUONGO, C. I. S. **Osteossarcoma canino: revisão de literatura e relato de caso**. 2013. Trabalho de Conclusão da Graduação. Universidade de Brasília.

MAIA, L.; SOUZA, M. V. Componentes ricos em plaquetas na reparação de afecções tendo-ligamentosas e osteo-articulares em animais. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, 2009.

MILLIS, D. L.; MARTINEZ, S. A. Enxertos ósseos. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3. ed. Barueri: Manole, 2007. cap. 133, p. 1875-1891.

MIYAZAWA, M. K. et al. Emprego de enxerto ósseo autógeno no tratamento de cisto ósseo. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 5, 2005.

MONTEIRO, B. S. Proteínas morfogenéticas ósseas associadas a osso esponjoso autógeno na reparação de falhas experimentais na calota craniana de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.6, p.1451-1461, 2007.

MORATO, G. O. **Osso esponjoso liofilizado de cão utilizado como enxerto puro e associado a plasma rico em plaquetas ou medula óssea em falhas ósseas induzidas em coelhos: estudo experimental**. 2013. Tese de Mestrado. Universidade Estadual Paulista.

OLIVEIRA, A. C. P. **Comparação entre enxerto ósseo autólogo, homólogo congelado e homólogo liofilizado em modelo de cranioplastia em ratos**. 2002. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

OLIVEIRA, G. K. et al. Implantação do banco de ossos de cães do Hospital Veterinário da Faculdade Integrado de Campo Mourão-PR. **Campo Digital**, v. 8, n. 1, 2013.

PADILHA FILHO, J. G. et al. 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.

PIERMATTEI, D. L. et al. Bone grafting. In: Brinker W.O. et al. **Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair**. 4. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006. p. 160-167.

RAGETLY, G. R.; GRIFFON, D. J. The rationale behind novel bone grafting techniques in small animals. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology (VCOT)**, v. 24, n. 1, p. 1-8, 2011.

SALBEGO, F. Z. **Enxerto ou implante homólogo na correção de defeito ósseo segmentar femoral em cães associado à inoculação da fração de células mononucleares da medula óssea**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

SILVEIRA, F. R. **Comparação da utilização exclusiva de osso esponjoso autólogo com a utilização mista de osso esponjoso autólogo e fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) na cicatrização do espaço criado pela osteotomia realizada na técnica de tibial tuberosity advancement (TTA)**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de Lisboa.

STEVENSON, S. Enxertadura óssea. In: BOJRAB, M. Joseph. **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Editora Roca, 2005. v. 1, p. 786-793.

STEVENSON, S.; HOROWITZ, M. The response to bone allografts. **J Bone Joint Surg Am**, v. 74, n. 6, p. 939-950, 1992.

WADSWORTH, P. L.; HENRY, W. B. Entire segment cortical bone transplant. **Journal of the American Animal Hospital Association**, 1976.

WEIGEL, J. Bone grafting. In: BOJRAB, J. M. et al. **Disease mechanisms in small animal surgery**. 2. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 678-685.

ZAMPROGNO, H. C. D. D. M. **Evaluation of bone grafting materials in cats: A comparison of cancellous autograft, cancellous allograft and bioglass in a femoral defect model**. 2004. Tese de Mestrado. Mississippi State University.

ZILLOTTO, L. et al. 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. 107-115, 2003.