

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA

Instituto de Ortopedia e Traumatologia

**“Avaliação de diferentes níveis de energia
de terapia por ondas de choque na formação
de tecido ósseo em cães (Canis familiaris)”**

M.V. Ana Cristina Ferreira Bassit

**Orientador: Prof. Dr. Tarcísio Eloy Pessoa de Barros F°
Dra Márcia Uchoa de Rezende.**

I INTRODUÇÃO

As ondas de choque são basicamente ondas acústicas, pulsos sônicos originários de uma explosão (12) (13). Possuem características físicas específicas associadas a diversas aplicações, inclusive no contexto biológico. As propriedades físicas básicas de uma onda de choque causam expansão e contração dentro de um meio, modificando a densidade local. É gerada uma amplitude de alta pressão (às vezes maior que 100 MPa) com um tempo de resposta de poucos nanossegundos (aproximadamente 10 ns), uma amplitude de tensão baixa (até 10 MPa), um ciclo de vida curto de aproximadamente 10 μ s e um espectro amplo de frequência (16 Hz a 20 MHz), abrangendo desde o nível audível até o ultra-sônico. Existe uma intensa troca de pressão, que produz ondas fortes que podem se propagar através de um meio elástico como o ar, a água ou certas substâncias sólidas. Para uma onda de choque ser efetiva clinicamente, a energia de pulso deve ser focada (concentrada) no ponto que carece de tratamento (1). Há dois efeitos básicos: geração direta de forças (efeito primário) e a geração indireta de forças mecânicas por cavitação (efeito secundário). Há três métodos de geração de ondas de choque: eletrohidráulico, eletromagnético e piezoelétrico. Todos os três métodos dependem da conversão de energia elétrica em energia mecânica (13). Sua utilização em Medicina teve início na Segunda Guerra Mundial, ao se notar danos pulmonares graves nos pulmões de tripulantes de submarinos atingidos por explosão de cargas em profundidade, sem que sinais externos de trauma pudessem ser notados. Foi a primeira observação da ação em tecidos humanos (5) (6). A introdução terapêutica inicial das ondas de choque foi o tratamento não invasivo de cálculos renais, a litotripsia. Atualmente é considerado o tratamento de eleição para a maior parte dos cálculos renais e ureterais (cerca de 98 %), além de cálculos biliares e salivares (11).

O osso tem impedância acústica muito similar à dos cálculos renais (5), o que deu origem a estudos para sua aplicação na desintegração de calcificações do sistema músculo – esquelético (11). A aplicação em fraturas baseou-se em observações obtidas durante estudos sobre litotripsia em animais e efeitos nos tecidos adjacentes, ao notar-se que, as ondas de choque que atingiam a pelve,

provocavam significativa resposta osteogênica (6). Estudos em animais encontraram um padrão de resposta osteoblástica que levou ao interesse no uso potencial da terapia por ondas de choque em várias patologias ortopédicas. Exames histológicos confirmaram que ondas de choque de alta pressão causam micro-fraturas no osso, com destruição de osteócitos, formação de hematomas focais e certo sangramento no canal intramedular. Isto promoveria a migração de células mesenquimais e células com potencial osteogênico, levando a um aumento na produção de osteoblastos (5). Diversos autores (1), (5), (6), (10), (11), (12), (13), (14) relatam que a terapia por ondas de choque mostrou-se efetiva no tratamento de retardo na consolidação óssea e não-uniões crônicas ou pseudoartroses. Schaden, Fischer e Sailer (11) trataram 115 pacientes com retardo de consolidação e não-união com uma única sessão de tratamento por ondas de choque, utilizando o aparelho OssaTron® da High Medical Technologies (Suíça), que produz ondas de choque pelo princípio eletro-hidráulico e possibilita trabalhar com um amplo espectro de ação, de baixa a alta energia. A aplicação de alta energia parece ser crucial no tratamento da pseudo-artrose, bem como a adequada estabilização da fratura e área de diastase inferior a 5 mm. Também pode-se observar melhores resultados em não-uniões hipertróficas em relação às atróficas. O tratamento levou à consolidação óssea em 75,7% dos casos. Ocorreram apenas reações locais mínimas como edema, formação e hematomas e petéquias hemorrágicas que cederam após poucos dias, sem outras complicações presentes após o tratamento (5). O mecanismo de ação das ondas de choque no tratamento de condições ortopédicas ainda se encontra sob investigação científica (1), mas o tratamento por ondas de choque pode ser considerado como uma alternativa não-invasiva, de baixo risco e morbidade, que evitaria as possíveis complicações de um procedimento cirúrgico, diminuindo o tempo de tratamento e possibilitando um retorno mais precoce do paciente às suas atividades normais (10).

Fraturas agudas em ossos longos, principalmente quando causadas por traumas de alta energia que comprometem a circulação local, freqüentemente resultam em retardo na consolidação ou não-uniões. Tradicionalmente, o tratamento de escolha para não-uniões inclui procedimentos de enxertia óssea, além de estabilização da fratura (10) (14). Os tratamentos cirúrgicos podem oferecer riscos de infecção e os pacientes podem apresentar dor e incapacidade

funcional, implicando em substancial aumento nos custos com tratamento médico. No caso de fraturas agudas potencialmente complicáveis, a terapia por ondas de choque agiria como tratamento adjunto e preventivo destas complicações, utilizando o mesmo tempo anestésico e reduzindo o risco de novas cirurgias, bem como o tempo de recuperação.

A terapia por ondas de choque em fraturas agudas de ossos longos ainda está sendo estudada. Wang (15) observou aumento na quantidade de osso cortical e na formação de calo ósseo em fraturas agudas de tíbia em cães após osteossíntese com placas, através de avaliações radiográficas (1, 4, 8 e 12 semanas) e histológica (12 semanas), com coloração por hematoxilina-eosina e avaliação percentual de contagem em campo com aumento 40 X . Seus resultados estimularam a realização de mais pesquisas sobre o efeito da terapia por ondas de choque em fraturas agudas. No estudo proposto por Bassit (3), a estabilização de fraturas de fêmur em cães foi realizada através de fixação intramedular com hastes bloqueadas, seguida de terapia por ondas de choque. A consolidação foi avaliada através de exames radiológicos (1,4, 8 e 12 semanas) e cintilográficos (2,4,6,8,10 e 12 semanas). Os resultados radiológicos evidenciaram maior proliferação periosteal nos fêmures tratados. Os valores obtidos nos exames cintilográficos foram, também, estatisticamente superiores nos fêmures tratados, demonstrando maior atividade osteogênica com a utilização da terapia por ondas de choque.

Em urologia, o volume focal deve ser ajustado ao tamanho do cálculo renal e pode ser relacionado ao número de pulsos aplicados e à energia total para determinar a capacidade de desintegração específica para o material em questão. Para o osso, no entanto, não foram estabelecidas relações entre o volume de tecido, suas características biológicas e os parâmetros físicos das ondas de choque na indução de cicatrização óssea.

II OBJETIVO

Avaliar e estabelecer correlação mais precisa entre os parâmetros físicos da terapia por ondas de choque e seus efeitos no volume focal de tecido ósseo a

ser tratado, visando não somente a aplicação terapêutica em fraturas, como também em casos de enfermidades que levem a perda de tecido ósseo.

A avaliação do crescimento ósseo será realizada através de histologia e histomorfometria com marcação por tetraciclina, formação do calo ósseo através de exames radiológicos. e atividade osteogênica através de cintilografia.

III MATERIAL E METODOLOGIA

Serão utilizados 20 cães machos, adultos, sem raça definida (SRD), pesando cerca de 20 kg, hípidos e vacinados (contra raiva, cinomose, leptospirose, parvovirose, coronavirose, adenovírus tipo 2 e parainfluenza), provenientes do Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, conforme acordo prévio para sua utilização.

A justificativa para o modelo animal escolhido reside no fato de que o osso cortical canino consiste em um arranjo complexo de osso lamelar cercado circunferencialmente um canal neurovascular ou de Havers. Este tipo de osso cortical é semelhante ao dos seres humanos, diferentemente dos ratos, coelhos e animais ungulados. As diferenças existentes na estrutura e vascularização do osso entre as várias espécies animais e a humana podem limitar sua aplicabilidade aos seres humanos nos estudos envolvendo esses animais. Já o modelo canino mostrou-se adequado para procedimentos experimentais referentes à vascularização óssea. A remodelação óssea em ratos e coelhos também difere do que ocorre no osso humano. O cão, mais uma vez, é um bom modelo para estudos sobre consolidação, uma vez que a sua remodelação óssea é semelhante à do osso humano (2) (4), (9).

METODOLOGIA:

Os cães serão divididos em dois grupos, com dez animais em cada grupo. Será produzido defeito cortical no terço médio de ambas as tíbias com tamanho pré-determinado de 12 por 4,5 mm.

No grupo 1, será realizada terapia por ondas de choque em um dos membros logo após o término da cirurgia, aplicando-se 2000 pulsos com 18 KV, com energia equivalente a 5mJ para área de -6dB.

No grupo 2, será realizada terapia por ondas de choque ao término da sutura da pele, aplicando-se 2000 pulsos com 22 KV, com energia equivalente 7,7 mJ para área de -6dB.

As tíbias não tratadas representarão o controle do membro contra-lateral submetido à terapia por ondas de choque.

A – Técnica

Os animais serão submetidos à anestesia geral inalatória com halotano, após tranquilização com Acepran 0,2% e indução com Ketamina e Midazolam. Na seqüência serão realizadas:

- tricotomia, antissepsia, assepsia do membro;
- abordagem à porção média da tíbia através de incisão cutânea efetuada na face medial do membro pélvico, segundo a técnica de Brinker (7),(8);
- produção de defeito cortical no terço médio da diáfise da tíbia;
- lavagem com solução fisiológica;
- sutura por planos;
- bandagem semi-imobilizante com camadas de esparadrapos.

O membro esquerdo de cada animal, antes da realização dos curativos será submetido a 2000 choques de 18 KV da máquina Ossatron® em dois pontos (um proximal e um distal à linha da fratura) próximos à fratura.

Os animais receberão medicação analgésica, cloridrato de tramadol (Tramal®), por quatro dias, e antibioticoterapia, enrofloxacina (Flotril®), por dez dias começando imediatamente após a cirurgia.

Os animais ficarão restritos em um canil individual de 2 m² evitando o esforço físico excessivo.

Trocas de curativos diárias até a cicatrização da ferida cirúrgica.

Os animais serão mantidos até a décima-segunda semana quando serão anestesiados com barbitúrico e submetidos à eutanásia com cloreto de potássio.

B – Avaliações

1 - Quanto à função no pós-operatório:

Poderá ser classificada como:

- Ruim (não apoia o membro ou só toca o solo com a extremidade do dígito)
- Regular (animal ainda apresenta claudicação leve a moderada)
- Boa (leve claudicação somente após exercício)

2 - Quanto à evolução radiográfica:

Devem ser obtidas imagens radiográficas com 4, 8 e 12 semanas após os procedimentos cirúrgicos.

3 - Quanto às alterações histológicas:

A biópsia óssea incluindo o local da fratura será obtida com doze semanas de pós-operatório. Após a eutanásia, repetir-se-á a via de acesso prévia e serão recolhidas amostras, abrangendo a circunferência completa do osso.

O material será então encaminhado para preparo das lâminas:

- O espécime recebido será fixado em solução de formol ou formalina 10% por 24 horas.
- descalcificação com ácido nítrico a 10%
- neutralização com sulfato de sódio a 5 % ;
- Serão feitos cortes transversais a cada 3 mm.
- Processamento histológico em histotécnico.
- Cortes em inclusão de parafina.
- Coloração histológica pelo método de hematoxilina e eosina.

O exame microscópico irá quantificar (porcentagem média em campos de pequeno aumento - 40x) a formação de tecido fibroso, fibrocartilaginoso, osso esponjoso e osso cortical.

4 - Quanto às alterações histomorfométricas:

Os animais receberão dose de tetraciclina de 25mg/kg de peso a partir da realização da cirurgia, permitindo marcações constantes e diferenciação do osso recém-formado do pré-existente, sem que ocorra toxicidade ou inibição da formação óssea

5 – Quanto às alterações cintilográficas:

Durante os exames serão obtidos valores de contagem da captação do radiofármaco (tecnécio 99) nas áreas correspondentes à produção de defeito cortical.

IV ANÁLISE DO RISCO, MEDIDAS DE PROTEÇÃO E SUSPENSÃO DA PESQUISA

As complicações que ocorrem nas cirurgias ortopédicas de rotina em cães raramente envolvem riscos de vida, com exceção de animais politraumatizados com lesões em vários órgãos e / ou hemorragia. Animais de biotérios, entretanto, podem não ser muito sociáveis e colaborativos, e muitos deles removem pontos, bandagens e imobilizações, comprometendo os resultados do procedimento. Para evitar que isso ocorra, serão utilizados colares elizabetanos ou colares cervicais rígidos que limitarão o acesso ao local da cirurgia pelo animal.

Os cães serão mantidos em gaiolas individuais e sob condições semelhantes de manejo e alimentação.

O risco para a saúde dos pesquisadores será minimizado selecionando-se animais hígidos, após rigoroso exame clínico e período de observação (quarentena). Serão também vacinados, conforme já descrito, para evitar que uma possível enfermidade venha a comprometer a consolidação óssea, bem como os resultados do experimento.

O experimento será interrompido com aqueles animais que, por qualquer intercorrência, não possam mais ter seus parâmetros avaliados, colocando em risco as conclusões. Assim, acidentes ou doenças sistêmicas durante o período de estudo, que comprometam a consolidação óssea, serão considerados critérios de exclusão.

V CRONOGRAMA

1 – Estabelecimento dos grupos experimentais

A seleção dos animais e preparação para sua utilização, conforme já citado, deverá ocupar os 3 primeiros meses. Este período ser também aproveitado para realização de um experimento “piloto”, que indicará possíveis falhas a serem corrigidas no transcorrer do trabalho.

2 – Obtenção do material e aplicação dos diversos métodos

As cirurgias – osteotomias seguidas de osteossíntese e terapia por ondas de choque serão realizadas nos 12 meses seguintes, estabelecendo-se uma programação semanal.

3 – Avaliação pós-operatória

Após as cirurgias, os animais serão radiografados após a cirurgia, com 4, 8 e 12 semanas. Os exames cintilográficos serão realizados quinzenalmente. Após a eutanásia, as amostras serão encaminhadas para avaliação histológica e histomorfométrica.

4 – Análise dos resultados

A análise dos resultados obtidos deverá durar 3 meses e a elaboração da dissertação de mestrado 3 meses. Uma vez concluída a dissertação e realizada a sua demonstração, o trabalho será encaminhado e submetido à apreciação para publicação em revistas conceituadas na área de cirurgia e pesquisa em ortopedia, tanto em medicina humana quanto veterinária, uma vez que será de valia nas duas áreas. Isto deverá ser obtido num período de 3 a 4 meses.

Resumo do Cronograma

Fases	Duração em meses
Seleção e preparação dos animais	3 meses
Realização de estudo-piloto	
Obtenção do material e aplicação dos diversos métodos	12 meses
Avaliação pós osteossíntese	3 meses
Avaliação histológica	3 meses
Análise dos resultados	3 meses
Elaboração da dissertação de mestrado e apresentação do trabalho	3 meses
Encaminhamento para publicação	3 a 4 meses

VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMNI, A., HAFEZ M.; ZHOU S.; GARCIA, E.; COOMBS, R. Shockwave Treatment for Chronic Non-union. In: **Musculoskeletal Shockwave Therapy – GMM – Coombs, Schaden, Zhou. 2000 – p. 197 – 2000.**
2. ANSON, L.W. Emergency Management of Fractures. In: Slatter, D. (ed): **Textbook of Small Animal Surgery**, ed. 2 Philadelphia, WB Saunders, p. 1603 1993.
3. BASSIT, A.C.F. **Efeito da terapia por ondas de choque na consolidação de óssea após osteossíntese com hastes bloqueadas em cães (Canis familiaris)** [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2004. 92 p.
4. DE YOUNG D.J.; PROBST C.W. Methods of internal fracture fixation – general principles. In: Slatter, D (ed): **Textbook of Small Animal Surgery**, ed 2. Philadelphia, WB Saunders, p. 1610 – 1631, 1993.
5. HAIST, J. - Shockwave Therapy For Pseud arthroses. In: **Musculoskeletal Shockwave Therapy – GMM – Coombs, Schaden, Zhou. 2000 – p. 197 – 2000.**
6. OGDEN, J.A.; TÓTH –KISCHKAT, A; SCHULTHEISS, T. Principles of Shock Wave Therapy. **Clinical Orthopedics and Related Research**, Number 387, pp 8- 17, 2001.
7. PIERMATTEI, D.L. “Brinker, Piermattei and Flo’s”. **Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair**. 3 rd ed., 1997:99.

8. PIERMATTEI, D.L.; GREELEY, R.G. **An Atlas of - Surgical approaches to the bones of the dog and cat.** 2nd ed. W.B. Saunders, 1979.
9. ROE, SIMON. Biomechanical Basis of Bone Fracture and Fracture Repair. In: **Manual of Small Animal Fracture Repair and Management – BSAVA**, p. 17-28, 1998.
10. SCHADEN, W. Shockwave Treatment for chronic non-unions and pseudoarthroses. In: **Musculoskeletal Shockwave Therapy – GMM – Coombs, Schaden, Zhou . 2000 – p. 197 – 202**
11. SCHADEN, W., FISCHER, A., SAILLER, A.: Single Session Shockwave Treatment for 115 Patients with Delayed Union or Chronic Non-union. In: **Musculoskeletal Shockwave Therapy – GMM – Coombs, Schaden, Zhou. 2000 – p. 197 – 2000.**
12. THIEL, M. Shockwave therapy in Medicine – An overview of Basic Research. In : **Musculoskeletal Shockwave Therapy – GMM – Coombs, Schaden, Zhou . 2000 – p. 197 – 2000.**
13. TÓTH-KISCHKAT, A. Principles of Shockwave Therapy. In : **Musculoskeletal Shockwave Therapy – GMM – Coombs, Schaden, Zhou . 2000 – p. 197 – 202.**
14. WANG, C.S.; HUANG, H.Y.; CHEN, H.H.; PAI, C.H.; YANG, K.D. - The Treatment of Fracture Non-Unions with Shockwaves. In: **Musculoskeletal Shockwave Therapy – GMM – Coombs, Schaden, Zhou . 2000 – p. 197 – 2000.**
15. WANG, C.S.; HUANG, H.D.; Effect of Shockwave Therapy on Acute Fractures of the Tibia. **Clinical Orthopedics And Related Research Number 387**, pp 118 – 118.