

INFLUÊNCIA DA DECORTICAÇÃO VERTEBRAL NA NEOFORMAÇÃO DOS TECIDOS DA INTERFACE DO ENXERTO ÓSSEO

INFLUENCE OF VERTEBRAL DECORTICATION ON TISSUE NEOFORMATION AT BONE GRAFT INTERFACE

FABIANO RICARDO TAVARES CANTO¹, SERGIO BRITO GARCIA¹, JOÃO PAULO MADERGAN ISSA¹, ANDERSON MARIN, ELAINE DEL-BEL², HELTON LUIZ APARECIDO DEFINO¹

RESUMO

Objetivo: Determinar a influência da decorticação dos elementos posteriores da coluna vertebral na integração do enxerto ósseo, considerando a avaliação quantitativa e qualitativa dos tecidos (ósseo, cartilaginoso e fibroso) da interface entre o leito receptor e o enxerto ósseo. **Métodos:** Foram utilizados 24 ratos Wistar, divididos em dois grupos de acordo com a realização da decorticação do leito receptor do enxerto. Foi utilizado enxerto autólogo derivado dos processos espinhosos das duas primeiras vértebras lombares. A neoformação tecidual na interface entre o leito receptor e seu enxerto ósseo foi avaliada após três semanas por meio de análise histomorfométrica. **Resultados:** No grupo de animais com o leito receptor decorticado a média da porcentagem de osso neoformado foi de $40\% \pm 6,1$, e $7,7\% \pm 3,5$ no grupo não decorticado ($p=0,0001$). A média da porcentagem de formação do tecido cartilaginoso no grupo decorticado foi de $7,2\% \pm 3,5$, no não decorticado de $10,9\% \pm 5,6$ ($p=0,1123$). A formação de tecido fibroso no grupo decorticado apresentou média de $8,6\% \pm 3,9$ e no não decorticado de $24\% \pm 10,1$, ($p=0,0002$). **Conclusões:** A decorticação acelerou o processo histológico da integração do enxerto ósseo. Ocorrendo maior produção de tecido ósseo neoformado e predominância da ossificação do tipo intramembranosa no grupo de animais nos quais a decorticação foi realizada.

Descritores: Transplante ósseo. Osteogênese. Coluna vertebral.

ABSTRACT

Objective: To determine the influence of vertebral posterior elements decortication in bone graft integration, considering a qualitative and quantitative evaluation of the (bone, cartilaginous, and fibrous) tissues in the interface between the receptor bed and the bone graft. **Methods:** Twenty-four Wistar rats were divided into two groups according to the decortication of the bone graft receptor bed. Autologous bone graft from the first and second lumbar vertebrae were used. The new tissue formation in the interface between the receptor bed and its bone graft was evaluated after three weeks by histomorphometric analyses. **Results:** In the animals group with the decorticated posterior bed the mean percentage of new bone formation was $40\% \pm 6.1$, and $7.7\% \pm 3.5$ in the not decorticated group. ($p=0.0001$). The mean percentage of cartilaginous tissue formation in the decorticated group was $7.2\% \pm 3.5$, and in the not decorticated $10.9\% \pm 5.6$ ($p=0.1123$). The fibrous tissue formation in the decorticated group presented a mean of $8.6\% \pm 3.9$ and, in the not decorticated group, of $24\% \pm 10.1$, with which is a statistically significant difference ($p=0.0002$). **Conclusion:** Decortication accelerated the histologic process of bone graft integration. More production of new bone tissue and predominance of intramembranous type of ossification occurred in the decorticated group.

Keywords: Bone transplantation. Osteogenesis. Spine.

Citação: Canto FRT, Garcia SB, Issa JPM, Marin A, Del-Bel E, Defino HLA. Influência da decorticação vertebral na neoformação dos tecidos da interface do enxerto ósseo. *Acta Ortop Bras.* [periódico na Internet]. 2010; 18(4):187-90. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>

Citation: Canto FRT, Garcia SB, Issa JPM, Marin A, Del-Bel E, Defino HLA Influence of vertebral decortication on tissue neoformation at bone graft interface. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2010; 18(4):187-90. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

1 – Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP
2 – Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto -USP

Trabalho realizado no Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP
Endereço para Correspondência: Prof. Dr. Helton Luiz Aparecido Defino – Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor - FMRP-USP. Av. Bandeirantes, 3900 – 11º andar – Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – Campus Universitário. Ribeirão Preto/SP, Brasil . CEP: 14048-900 – E-mail: hладefin@fmrp.usp.br

Trabalho recebido em 10/05/07, aprovado em 07/09/07

INTRODUÇÃO

O conceito da decorticação do leito receptor do enxerto ósseo nas artrodeses vertebrais foi introduzido por Hibbs¹. A decorticação implica na remoção da parte superficial do osso cortical que recobre os elementos posteriores da vértebra (processo espinhoso, lâmina e faceta articular), expondo desta maneira o osso esponjoso vertebral. A consolidação da artrose posterior da coluna vertebral depende da integração do enxerto ósseo com o seu leito receptor, processo esse relacionado à neoformação óssea nessa interface, onde estão presentes os tecidos ósseo, cartilaginoso e fibroso.^{2,3} A decorticação eleva o metabolismo tecidual na interface pelo aumento do aporte vascular para essa região, acelerando a integração do enxerto ósseo ao leito receptor, e desencadeando maior neoformação óssea.^{2,4} Apesar de vários estudos demonstrarem o efeito da decorticação do leito receptor sobre a integração do enxerto ósseo,⁵⁻⁷ os mecanismos envolvidos na osteogênese da interface leito receptor enxerto não estão totalmente esclarecidos. O objetivo desse trabalho foi determinar a influência da decorticação dos elementos posteriores sobre a integração do enxerto ósseo, considerando a avaliação quantitativa e qualitativa dos tecidos (ósseo, cartilaginoso e fibroso) presentes na interface.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados no estudo 24 ratos Wistar do sexo masculino, pesando entre 250g e 350g. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais de acordo com a decorticação dos elementos vertebrais posteriores. Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal utilizando-se 0,1ml de Ketamina e 0,07ml de Xilazina para cada 100 gramas de peso do animal. As duas primeiras vértebras lombares eram bilateralmente expostas através de incisão longitudinal posterior. Os processos espinhosos dessas vértebras eram seccionados na sua base, divididos ao meio no plano sagital e utilizado como enxerto ósseo. (Figura 1)

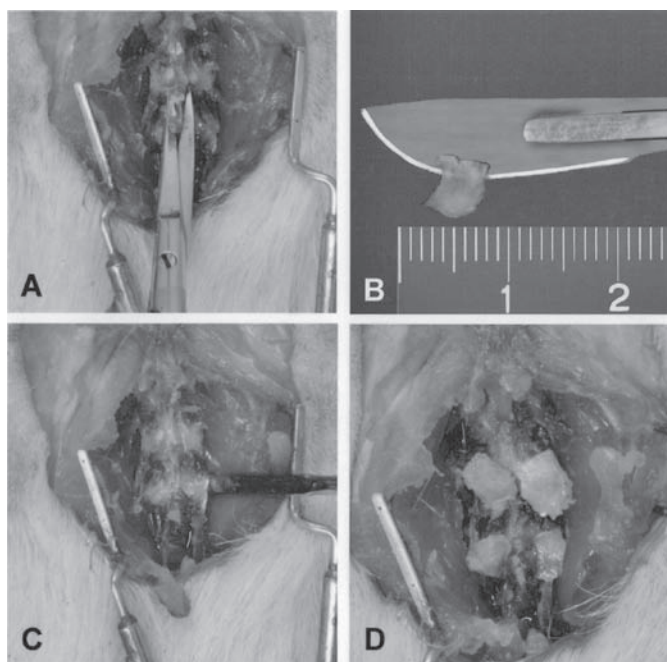


Figura 1 – Fotografia ilustrando as principais etapas do procedimento cirúrgico. Exposição cirúrgica das duas primeiras vértebras lombares. A) retirada do enxerto do processo espinhoso. B) subdivisão do enxerto em fragmentos menores. C) decorticação dos elementos posteriores. D) aposição do enxerto ósseo sobre o seu leito receptor.

Em 12 animais os elementos posteriores da vértebra (lâmina, faceta articular, processo transversos) foram decorticados, tendo sido utilizado osteótomo para a remoção do osso cortical, e nos outros 12 animais os elementos vertebrais posteriores foram mantidos íntegros. O processo espinhoso era colocado sobre os elementos vertebrais posteriores (decorticados ou não decorticados) de acordo com o grupo experimental e a incisão cirúrgica fechada por planos com fio absorvível.

Na terceira semana após a cirurgia os animais eram sacrificados com dose letal de anestésico e o segmento vertebral operado era removido e preparado para o estudo histológico por meio da fixação em formol a 10% e descalcificação em solução de ácido tricloro acético a 30%. As peças foram incluídas em parafina e realizados cortes histológicos de 5 μ m que foram corados pelo Tri-crômico de Masson, para o estudo da interface entre os elementos posteriores da coluna vertebral e o enxerto ósseo. Essa interface foi o alvo do estudo, tendo sido quantificado o tecido ósseo neoformado, o tecido cartilaginoso e o tecido fibroso presentes no corte histológico. O estudo histomorfométrico foi realizado com aumento de 100X.

Os tecidos analisados apresentavam colorações distintas. O tecido ósseo antigo apresentava cor vermelha escura, o tecido cartilaginoso cor azul clara, o tecido fibroso cor azul escura e o tecido ósseo neoformado cor azul intermediária entre o azul claro do tecido cartilaginoso e o azul escuro do tecido fibroso.

A área total do corte histológico foi considerada como possuindo forma retangular devido às dimensões apresentadas, tendo sido utilizado o cálculo da área dessa figura geométrica para a medida da área total do corte histológico na avaliação quantitativa por meio da histomorfometria.

Com uma régua em escala decimal acoplada a objetiva do microscópio foi calculada a área total do corte histológico e a área de cada um dos diferentes tecidos histológicos neoformados presentes no corte, com 25 medidas por corte histológico. A área dos três tecidos neoformados foi expressa em porcentagem com relação à área total do corte histológico. A intersecção em linhas paralelas é um método histomorfométrico descrito na literatura e que permite estimar a porcentagem ocupada por cada tipo de tecido em linhas paralelas graduadas.⁸⁻¹¹

A análise estatística da comparação dos resultados quantitativos dos tecidos neoformados foi realizada por meio do teste de Kurtosis para avaliação da normalidade da amostra. A normalidade da amostra não foi constatada por meio desse teste, tendo sido utilizado o teste de Mann-Whitney para comparar as variáveis estudadas. Foi adotado nível de significância de 5%.

RESULTADOS

A avaliação quantitativa do osso neoformado, tecido cartilaginoso e tecido fibroso presentes na interface leito receptor e enxerto ósseo apresentou diferença entre os animais considerando-se a realização da decorticação.

No grupo de animais em que a decorticação foi realizada foi observado maior quantidade de osso neoformado, menor quantidade de tecido cartilaginoso e tecido fibroso, quando comparado com o grupo não decorticado. (Tabelas 1 e 2)

No grupo de animais em que a decorticação foi realizada a média de osso neoformado foi de $40\% \pm 6,1$, e no grupo não decorticado de $7,7\% \pm 3,5$, tendo sido observado diferença estatística entre os dois grupos ($p = 0,0001$). Com relação à formação de tecido cartilaginoso o grupo decorticado apresentou média de $7,2\% \pm 3,5$ e o grupo não decorticado de $10,9\% \pm 5,6$, essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p = 0,1123$).

Tabela 1 – Porcentagens dos tecidos neoformados do grupo decorticado com as respectivas médias e desvios padrões

	osso novo	cartilagem	fibrose
1	35,20%	10,00%	16,40%
2	41,20%	9,20%	14,40%
3	43,20%	8,00%	8,40%
4	44,40%	7,20%	11,60%
5	34,00%	4,40%	9,60%
6	47,20%	6,40%	5,60%
7	42,40%	8,00%	7,60%
8	49,20%	7,60%	7,60%
9	41,60%	1,60%	6,00%
10	28,40%	8,40%	6,00%
11	39,60%	8,00%	6,80%
12	33,60%	7,20%	2,80%
média	40%	7,20%	8,60%
desvio padrão	6,1	3,5	3,9

Tabela 2 – Porcentagens dos tecidos neoformados do grupo não decorticado com as respectivas médias e desvios padrões.

	osso novo	cartilagem	fibrose
1	5,20%	5,60%	35,20%
2	6,00%	11,60%	25,20%
3	3,60%	3,60%	27,20%
4	5,60%	18,80%	13,60%
5	10,00%	16,40%	25,60%
6	6,40%	19,60%	30,80%
7	8,80%	9,60%	16,00%
8	8,40%	15,60%	16,00%
9	4,40%	10,00%	9,20%
10	8,80%	5,20%	19,60%
11	16,80%	5,20%	45,60%
12	8,40%	9,20%	24,80%
média	7,70%	10,90%	24,00%
desvio padrão	3,5	5,6	10,1

O grupo decorticado apresentou média de 8,6% ± 3,9 de tecido fibroso neoformado e o grupo não decorticado de 24% ± 10,1, tendo sido observado diferença estatística entre os dois grupos (p = 0,0002). (Figura 2)

A avaliação histomorfométrica da interface entre o leito receptor e o enxerto ósseo mostrou porcentagens diferentes de tecidos neoformados nos dois grupos experimentais.

A análise histológica observacional mostrou que o mecanismo de osteogênese na interface leito receptor e enxerto ósseo não foi semelhante nos dois grupos estudados. Nos animais decorticados ocorreu osteogênese pelo mecanismo de ossificação endocondral e intramembranosa, com um predomínio da ossificação intramembranosa, enquanto que nos animais não decorticados a osteogênese ocorreu por ossificação endocondral. (Figura 3)

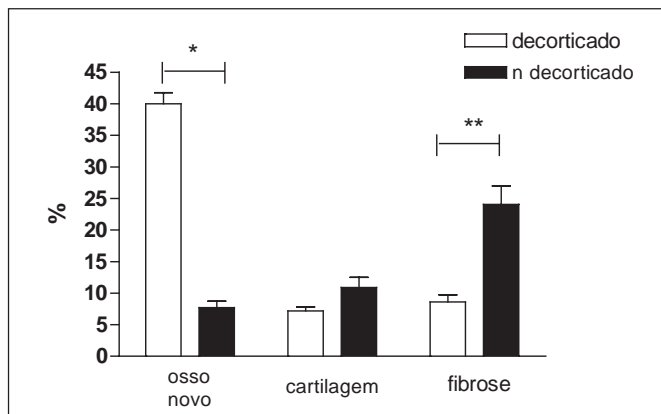


Figura 2 – Neoformação tecidual nos dois grupos de animais analisados. * p=0,0001 ** p=0,0002.

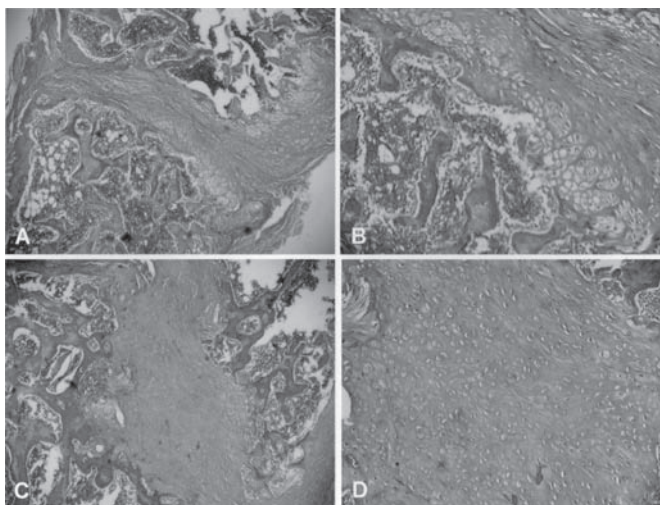


Figura 3 – A e B Fotomicrografia do grupo de animais não decorticados, demonstrando padrão de ossificação endocondral, A 28X e B 103X. C e D Fotomicrografia do grupo de animais decorticados, demonstrando um padrão de ossificação predominantemente intramembranoso.

DISCUSSÃO

A integração do enxerto ósseo na artrodese vertebral está relacionada a fatores locais e sistêmicos e o leito receptor do enxerto ósseo atua como importante fator local para a integração do enxerto.¹² A decorticação do leito ósseo receptor do enxerto acelera a integração óssea.⁴ Os fatores biológicos envolvidos nesse fenômeno ainda não são totalmente conhecidos,¹³ tendo sido a motivação para a elaboração do modelo experimental, em que se utilizou um animal de pequeno porte como o rato para quantificar o fenômeno da osteogênese entre o leito receptor decorticado ou não decorticado e o enxerto ósseo.

O tempo de integração do enxerto ósseo é variável nas diferentes espécies, entre de 2 a 3 semanas em ratos, 3 a 4 semanas em coelhos e alguns meses em humanos e primatas,^{2,14} com base nessa informação o tempo de sacrifício dos animais na terceira semana foi selecionado.

O método histomorfométrico que utiliza uma régua acoplada à objetiva do microscópio e a área total de uma figura geométrica plana permite quantificar de forma satisfatória os diferentes tecidos formados no processo de osteogênese, sendo um método de fácil utilização e baixo custo.^{8,15}

A capacidade de indução e aceleração da formação óssea nas áreas decorticadas tem sido experimentalmente observada.^{4,5} Estudos histológicos com marcadores da neoformação vascular indicam que o suprimento vascular inicial para a massa da artrodese origina-se dos processos transversos decorticados e não dos tecidos moles adjacentes.¹⁶ Essa seria a explicação para a maior neoformação óssea no grupo de animais decorticados. A profusão de nutrientes proporcionados pela irrigação sanguínea mais abundante representa um fator importante de estímulo à osteogênese.¹⁷ Além disso, a decorticação dos elementos posteriores coloca o enxerto ósseo em contato direto com células do sistema retículo endotelial e com fatores osteoindutores e osteogênicos presentes na corrente sanguínea.¹⁶ O enxerto ósseo sofre um processo de necrose e reabsorção.¹⁸ As células do sistema retículo endotelial são atraídas e quando em contato com esse ambiente tem a capacidade de se transformar em células progenitoras da linhagem osteoblástica.¹⁸ O contato direto do enxerto ósseo com a área cruenta permitiria maior abundância dos fatores indutores e osteogênicos, como as proteínas morfogênicas do osso na interface leito posterior e enxerto.¹⁹ O estudo mais detalhado da interface entre o enxerto ósseo e o leito receptor permitiu a observação e a quantificação dos diferentes tecidos neoformados. A maior quantidade de tecido ósseo neoformado, com uma menor quantidade de tecido cartilaginoso e fibroso na interface no grupo decorticado seria mais vantajosa para a integração do enxerto ósseo, porque a ponte óssea se forma mais rapidamente, garantindo maior resistência para a integração do enxerto ósseo.⁵

A quantidade de tecido ósseo neoformado e de tecido fibroso apresentou diferença estatística nos grupos experimentais, mostrando a interferência da decorticação sobre a integração do enxerto ósseo. Não somente a quantidade dos tecidos neoformados, mas também o processo de osteogênese da integração do enxerto ósseo foi modificado pela decorticação.

A osteogênese na interface não foi semelhante entre os animais decorticados e não decorticados. No grupo de animais decorticados ocorreu osteogênese pelo mecanismo de ossificação in-

tramembranosa e endocondral, com predomínio da ossificação intramembranosa, enquanto que no grupo não decorticado a ossificação endocondral foi predominante.

A maior abundância de oxigênio na interface decorticada poderia induzir a ossificação de origem intramembranosa. Em condições de baixa concentração de oxigênio há tendência para o modelo de ossificação endocondral.¹⁰ O aumento do aporte de proteínas morfogênicas do osso para a interface seria outro possível estímulo para a ocorrência de ossificação intramembranosa.¹⁶

A maior quantidade de tecido fibroso na interface dos animais do grupo não decorticado poderia estar relacionada com a maior lentidão do modelo de ossificação endocondral para formar uma ponte óssea estável entre o leito posterior e o enxerto ósseo e também com a menor estabilidade na interface, conferida pela menor área de contato entre o leito posterior e o enxerto ósseo. Tem sido observado que nas regiões de menor estabilidade existe formação de tecido fibroso.²⁰ A decorticação do leito receptor do enxerto ósseo influenciou o processo de integração do enxerto ósseo com o seu leito receptor. Foi observada diferença na quantidade do tecido ósseo neoformado, do tecido fibroso na interface e também do processo de osteogênese. A decorticação interfere no processo de integração do enxerto ósseo, permitindo a sua integração mais rápida, em decorrência da maior formação de tecido ósseo neoformado e predomínio da ossificação intramembranosa.

CONCLUSÃO

A decorticação do leito receptor do enxerto ósseo interfere no seu processo histológico de integração. Ela acelera a integração do enxerto com o seu leito, ocorrendo maior produção de tecido ósseo neoformado e predomínio da ossificação intramembranosa na interface entre o enxerto ósseo e o seu leito receptor.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos as Sras. Célia A. da Silva (Técnica do Laboratório de Neurofisiologia da FORP-USP e Rosângela Orlandim Lopes e Auristela de Melo Martins (Técnicas do do Depto de Patologia FMRP-USP).

REFERÊNCIAS

- Hibbs RA. An operation for progressive spinal deformities. *NY Med J.* 1911; 93:1013-6.
- Boden SD, Schimandle JH, Hutton WC. An experimental lumbar intertransverse process spinal fusion model. Radiographic, histologic, and biomechanical healing characteristics. *Spine (Phila Pa 1976).* 1995;20:412-20.
- Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1983; (174):28-42.
- Conti OJ, Pastorello MT, Defino HLA. Estudo experimental da decorticação óssea na integração dos enxertos na coluna vertebral. *Acta Ortop Bras.* 2006;14:67-71.
- Foster MR, Allen MJ, Schoonmaker JE, Yuan HA, Kanazawa A, Park SA et al. Characterization of a developing lumbar arthrodesis in a sheep model with quantitative instability. *Spine J.* 2002;2:244-50.
- Sandhu HS, Kanim LE, Toth JM, Kabo JM, Liu D, Delamarter RB et al. Experimental spinal fusion with recombinant human bone morphogenetic protein-2 without decortication of osseous elements. *Spine (Phila Pa 1976).* 1997;22:1171-80.
- Ishikawa S, Shin HD, Bowen JR, Cummings RJ. Is it necessary to decorticate segmentally instrumented spines to achieve fusion. *Spine (Phila Pa 1976).* 1994;19:1686-90.
- Aherne W, Durnill MS. *Morphometry.* London: Edward Arnold; 1982.
- Frenkel SR, Moskovich R, Spivak J, Zhang ZH, Prewett AB. Dmineralized bone matrix. Enhancement of spinal fusion. *Spine (Phila Pa 1976).* 1993;18:1634-9.
- Kusec V, Jelic M, Borovecki F, Kos J, Vukicevic S, Korzinek K. Distraction osteogenesis by ilizarov and unilateral external fixators in a canine model *International Orthopaedics.* 2003;27:47-52.
- Byers S, Moore AJ, Byard RW, Fazzalari NL. Quantitative histomorphometric analysis of the human growth plate from birth to adolescence. *Bone.* 2000;27:495-501.
- Boden SD, Grob D, Damien C. Ne-Osteo bone growth factor for posterolateral lumbar spine fusion: results from a nonhuman primate study and a prospective human clinical pilot study. *Spine (Phila Pa 1976).* 2004;29:504-14.
- Vaccaro AR, Chiba K, Heller JG, Patel TC, Thalgott JS, Truemes E, et al. Bone grafting alternatives in spinal surgery. *Spine J.* 2002;2:206-15.
- Boden SD, Moskovitz PA, Morone MA, Toribitake Y. Video-assisted lateral intertransverse process arthrodesis. Validation of a new minimally invasive lumbar spinal fusion technique in the rabbit and nonhuman primate (rhesus) models. *Spine (Phila Pa 1976).* 1996;21:2689-97.
- Li JP, Habibovic P, van den Doel M, Wilson CE, de Wijn JR, van Blitterswijk CA, et al. Bone ingrowth in porous titanium implants produced by 3D fiber deposition. *Biomaterials.* 2007 ;28(18):2810-20.
- Cunningham BW, Shimamoto N, Seftor JC, Dmitriev AE, Orbegoso CM, McCarthy EF, et al. Osseointegration of autograft versus osteogenic protein-1 in posterolateral spinal arthrodesis: emphasis on the comparative mechanisms of bone induction. *Spine J.* 2002;2:11-24.
- Romith M, Delécrin J, Heyman D, Passuti N. The vertebral interbody grafting site's low concentration in osteogenic progenitors can greatly benefit from addition of iliac crest bone marrow. *Eur Spine J.* 2005;14:645-8.
- Burwell RG. Studies in the transplantation of bone: VII. The fresh composite homograft-autograft of cancellous bone. An analysis of factors leading to osteogenesis in marrow transplants and in marrow-containing bone grafts. *J Bone Joint Surg Br.* 1964;46:110-20.
- Boden SD. Overview of the biology of lumbar spine fusion and principles for selecting a bone graft substitute. *Spine (Phila Pa 1976).* 2002;27:S26-S31.
- Zimmermann CE, Thurmüller P, Troulis MJ, Perrot DH. Histology of the porcine distraction wound. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34:411-9.