

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Preservação do membro em cães com osteossarcoma apendicular através da técnica de congelamento em nitrogênio líquido: viabilidade em cadáveres e aplicação clínica

Aline Silva Gouvêa

PORTO ALEGRE

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Preservação do membro em cães com osteossarcoma apendicular através da técnica de congelamento em nitrogênio líquido: viabilidade em cadáveres e aplicação clínica

Autor: Aline Silva Gouvêa

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias na área de Morfologia, Cirurgia e Patologia Animal.

Orientador: Marcelo Meller Alievi

Co-orientadora: Luciana Sonne

PORTO ALEGRE

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Gouvêa , Aline Silva Gouvêa

Preservação do membro em cães com osteossarcoma apendicular através da técnica de congelamento em nitrogênio líquido: viabilidade em cadáveres e aplicação clínica / Aline Silva Gouvêa Gouvêa . -- 2015.

106 f.

Orientador: Marcelo Meller Alievi Alievi.

Coorientador: Luciana Sonne Sonne.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. tumor ósseo. 2. canino. 3. crioterapia. 4. cirurgia. 5. oncologia. I. Alievi, Marcelo Meller Alievi, orient. II. Sonne, Luciana Sonne, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Aline Silva Gouvêa

Preservação do membro em cães com osteossarcoma apendicular através da técnica de congelamento em nitrogênio líquido: viabilidade em cadáveres e aplicação clínica

Aprovado em 01 de abril de 2015.

APROVADO POR:

Prof. Dr. MARCELO MELLER ALIEVI

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. CÁSSIO RICARDO AUADA FERRIGNO

Membro da Banca

Prof. Dr. EMERSON ANTONIO CONTESINI

Membro da Banca

Prof. Dr. MÁRCIO POLETTO FERREIRA

Membro da Banca

DEDICATÓRIA

À minha família, que eu amo tanto.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e possibilidade de usufruir tantas oportunidades.

Ao José parceiro de todos os momentos, pela paciência, incentivo e ajuda inclusive no cuidado com meus pacientes. Muito obrigada meu amor.

Aos meus pais Terezinha e Ayrton por sempre confiarem em mim, e me incentivarem a seguir em frente, e meus irmãos Marcelo e Alexandra por sempre estarem ao meu lado. A minha sogra Vera pelo exemplo de pessoa que és e pelo incentivo.

Ao meu orientador Marcelo Meller Alievi, muito obrigado por tudo que tem feito por mim, serei eternamente grata, tu és um exemplo a ser seguido, que eu admiro pelo profissionalismo, inteligência e paciência.

A minha estagiária Juliana, meu braço direito, sem a tua ajuda e competência este projeto não seria possível, muito obrigada de coração por tudo. E ao seu esposo Juliano, muito obrigado pelas ilustrações do trabalho, ficaram incríveis. E a Dona Darlene pela confecção do termoprotetor.

A equipe SOTVET, Simone, Kauê, Paula, Verônica, Alessandra, Lenise, Bernardo, Lucas, Mari e Titi pelos bons momentos e ajuda nos procedimentos cirúrgicos.

As amigas: Simone, Liziane, Verônica, Elisa e Fabíola; por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando, muito obrigada. Ao amigo Natan pelo apoio de sempre e a amiga e professora Virginia pela ajuda com inglês e conselhos.

Ao professor Afonso, um grande exemplo de integridade, profissionalismo e dedicação, obrigada por sempre me escutar, aconselhar e ajudar nos momentos difíceis.

A professora e minha coorientadora Luciana Sonne, sempre disposta a me ajudar. Aos professores David e Saulo, pela ajuda nas necropsias e laudos e a professora Ana Cristina pela ajuda na anatomia, obrigada.

Aos professores Emerson, Márcio e Cássio pela participação na banca e correção da tese, contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional, muito obrigada.

Aos residentes do HCV-UFRGS pela compreensão e incentivo nos momentos de ansiedade.

Aos funcionários do bloco cirúrgico de grandes e pequenos animais, em especial dona Karen e Maysa por toda ajuda e paciência e Denise e Nei pela ajuda com os

materiais e disponibilidade. E aos funcionários Lourdes, Leila e Marco pelo apoio de sempre e Amarildo, que tantas vezes foi buscar o nitrogênio comigo. Muito obrigada.

Aos técnicos do setor de radiologia pela ajuda nos procedimentos radiográficos.

Aos meus queridos colegas técnicos Irene, Nina, Dai, Lú Merini, Eglete, Piui, Lú Vieira, Claudinha, Luciana, Gabi, Fabíola, Flávia, Suzana, Luciano, Fábio, Mauro, pela ajuda, incentivo e compreensão, em todos os momentos, muito obrigada.

Aos meus companheirinhos Juma, Cabeça e Jolie, sempre ao meu lado, me fazendo companhia nos dias em frente ao computador.

Ao Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS por sempre oportunizar o crescimento de quem quer aprender.

Ao CNPq pelo apoio financeiro através do Edital Universal 2014.

Aos animais e seus tutores pela confiança e dedicação.

“Se você sabe, não se priva de ensinar a quem não aprendeu. O ensino é como o sol a criar um novo dia: A mente clareia para quem ensina e ilumina-se para quem aprende”.

Inácio Dantas

RESUMO

Dentre os tumores ósseos que acometem os cães, o osteossarcoma (OSA) ou sarcoma osteogênico é o mais frequentemente diagnosticado e representa cerca de 85 % das neoplasias de origem esquelética. Acomete mais cães de raça grande e gigante, com idade média de sete anos, envolvendo, geralmente, a metáfise de ossos longos. Os principais sinais clínicos são claudicação e aumento de volume no membro afetado. Ao exame radiográfico obtêm-se imagens compatíveis com neoplasia óssea, sendo utilizada a biópsia com exame histopatológico como diagnóstico definitivo. A terapêutica comumente indicada é a amputação do membro, seguida de quimioterapia. No entanto, a preservação do membro afetado e outras técnicas mais recentes de tratamento, têm sido utilizadas com o propósito de melhorar a qualidade de vida e a sobrevida do animal. As razões mais comuns para a realização da preservação do membro são pacientes com afecções neurológicas ou ortopédicas concomitantes, que contra indicam a amputação radical ou tutores relutantes em aceitar a amputação, muitas vezes preferindo a eutanásia à amputação. Existem muitas técnicas para preservação do membro, porém ainda com muitas complicações e limitações. Em razão disso, o objetivo do presente estudo é descrever a técnica de preservação de membro através de pedículo congelado em nitrogênio líquido utilizando cadáveres de cães e avaliação da mesma associada à quimioterapia adjuvante em pacientes com tumores ósseos. Para descrição da técnica foram realizadas 30 cirurgias, sendo 15 na região distal de rádio-ulna e 15 na região distal de tibia. A técnica cirúrgica empregada consistiu na desarticulação do rádio ou da tibia distal, com divulsão dos tecidos moles, criando assim o pedículo ósseo a ser tratado através do congelamento, seguindo protocolo recomendado por Tsuchiya *et al.* (2005). Neste, o pedículo permanece submerso 20 minutos no nitrogênio líquido, depois 15 minutos a temperatura ambiente e 10 minutos em água destilada, sendo que sua descrição foi realizada utilizando cadáveres de cães descongelados. A técnica pedicular também foi aplicada em cinco pacientes, sendo três na região de rádio distal, um em fêmur proximal e outro em fêmur distal. Em todos pacientes foi possível a realização da cirurgia sem conversão imediata para amputação. Foram realizados controles radiográfico e clínico, mensalmente no pós-operatório. O uso funcional do membro operado foi de bom a excelente em todos os casos. Em dois pacientes houve infecção, em um houve recidiva e outro desenvolveu necrose dérmica. E em um paciente não houve qualquer tipo de complicação. O tempo médio de

sobrevida não foi menor estatisticamente do que o grupo controle que realizou amputação e quimioterapia. É possível concluir que apesar das complicações encontradas é uma técnica factível e que não alterou a expectativa de vida dos pacientes, porém exige estudos em uma população maior para que possa ser considerada opção cirúrgica na medicina veterinária.

Palavras-chave: tumor ósseo, canino, crioterapia.

ABSTRACT

Among the bone tumor affecting dogs, osteosarcoma (OSA) or osteogenic sarcoma is the most often diagnosed and represents about 85% of tumors of skeletal origin. It affects more large or giant dog breeds, at an average age of seven years old, usually involving the metaphysis of long bones. The main clinical signs are lameness and swelling in the affected limb. Radiographic exam is compatible with bone cancer images, being the biopsy and histopathological examination used as a definitive diagnosis. The therapy commonly applied is limb amputation followed by chemotherapy. However, the preservation of the affected limb and other newer treatment techniques have been used for the purpose of improving the quality of life and survival of the animal. The most common reasons for the limb sparing procedure are patients with concomitant neurological or orthopedic conditions that contraindicate radical amputation or owners reluctant to accept the amputation, often preferring euthanasia to amputation. There are many techniques for limb sparing, but still have many complications and limitations. For this reason the aim of this study is to describe the technique of limb sparing through pedicle frozen in liquid nitrogen using cadaver dogs, and assessing the technique in patients with bone tumors associated with adjuvant chemotherapy. Thirty experimental surgeries were performed to describe the technique, 15 surgeries in the distal region of the radius-ulna and 15 surgeries in the distal tibia. In both groups the surgical technique consisted in releasing the radio and distal tibia, with divulsion of the soft tissues and disarticulation, thus creating the pedicle to be treated by freezing following the protocol recommended by Tsuchiya et al. (2005), wherein the pedicle remains immersed 20 minutes in liquid nitrogen, 15 minutes at room temperature and 10 minutes in distilled water, and his description was possible using thawed cadaver dogs. The pedicle technique was applied to five patients, three in the distal radius region, one in proximal femur and the other in the distal femur. The surgery was possible in all patients without being necessary conversion. Radiographic and clinical controls were performed monthly. The functional use of the operated limb was good to excellent in all cases. In two patients there was infection, and one local recurrence, other dermal necrosis and one patient did not have any kind of complication. The average survival time was not statistically lower than the control group that underwent amputation and chemotherapy. It was concluded that despite the

complications encountered, it is a feasible procedure and did not change the life expectancy of patients, but requires further study in a larger population in order to be considered as a surgical option in veterinary medicine

Keywords: bone tumor, canine, cryotherapy.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Técnicas excisional (a) e pedicular (b) para tratamento de tumores ósseos..... 38
- Figura 2 - Técnicas de criocirurgia: tipo 1, tipo 2 e tipo 3 para tratamento de tumores ósseos..... 38
- Figura 3 - Exemplos da utilização da técnica pedicular de tratamento de tumores ósseos. Em (A) técnica com osteotomia, e (B) com desarticulação..... 39
- Figura 4 - Membro torácico esquerdo de cadáver canino, preparado para cirurgia da técnica pedicular em rádio-ulna, a extremidade coberta com malha tubular (A e B). Acesso a ulna, incisão no aspecto caudolateral do membro torácico, para exposição óssea os músculos extensor ulnar do carpo e flexor ulnar do carpo foram afastados (C e D)..... 49
- Figura 5 - Membro torácico esquerdo de cadáver canino, após a realização de osteotomia ulnar (A e B). Incisão craniodorsal de acesso ao rádio e carpo-metacarpos (C e D)..... 50
- Figura 6 - Membro torácico esquerdo cadáver canino, aspecto cranial, após divulsão do subcutâneo, em destaque a veia cefálica dissecada. Visualização parcial dos tendões dos músculos extensor radial do carpo, extensor comum dos dedos e extensor lateral dos dedos (A e B). Após ligadura da veia cefálica e dissecção do tendão do músculo extensor comum dos dedos (C e D)..... 51
- Figura 7 - Membro torácico de cadáver canino, aspecto cranial. Divulsão do tendão do músculo extensor radial do carpo para posterior tenotomia (A e B). Incisão do retináculo extensor e cápsula articular, para exposição da articulação rádio-cárpica (C e D)..... 52

Figura 8 -	Membro torácico esquerdo de cadáver canino, aspecto cranial. Abertura da cápsula articular com maior exposição da articulação rádio-cárpica (A e B). Desarticulação entre o rádio e a ulna e desinserção do ligamento interósseo e exposição do músculo pronador quadrado para formação do pedículo (C e D).....	53
Figura 9 -	Membro torácico esquerdo de cadáver canino, após criação do pedículo, proteção dos tecidos moles com compressas e o termoprotetor e isolamento do rádio distal para posterior congelamento (A e B). Visualização da porção pedicular congelada (C e D).....	54
Figura 10 -	Posicionamento do paciente em decúbito esternal, sugerido para congelamento, em nitrogênio líquido, do rádio-ulna distal do membro torácico esquerdo. Observar o posicionamento do cirurgião e auxiliar lado a lado.....	55
Figura 11 -	Membro torácico esquerdo de cadáver canino. Osteossíntese com placa e parafusos da ulna (A e B). Artrodese pancarpal com placa e parafusos (C e D).....	56
Figura 12 -	Membro torácico esquerdo de cadáver canino. Demonstração da sutura dérmica do acesso à ulna e do rádio (A e B)	57
Figura 13 -	Membro pélvico direito de cadáver canino, preparado para cirurgia da técnica pedicular de tíbia. Extremidade do membro coberta com malha tubular (A e B). Incisão craniodorsal de acesso à tíbia, tarso e metatarsos (C e D).....	59
Figura 14 -	Membro pélvico direito de cadáver canino. Aspecto cranial mostrando dissecação do arco venoso dorsal para posterior ligadura da veia safena (A e B). Após divulsão e abertura do retináculo extensor, visualização do tendão do músculo extensor longo dos dedos e do músculo tibial cranial (C e D).....	60

- Figura 15 - Membro pélvico direito de cadáver canino. Visualização da tenotomia do músculo extensor longo dos dedos e manutenção do tendão do músculo tibial cranial (A e B). No aspecto lateral visualização da tenotomia do músculo fibular longo (C e D)..... 61
- Figura 16 - Membro pélvico direito de cadáver canino. Aspecto lateral visualização da tenotomia do músculo extensor lateral dos dedos (A e B). Aspecto cranial demonstrando desarticulação entre a tíbia e o talo (C e D)..... 62
- Figura 17 - Membro pélvico direito de cadáver canino. Visualização da desarticulação e divulsão da tíbia para formação do pedículo. Observa-se o tendão calcâneo comum íntegro (A e B). Visualização da primeira proteção aos tecidos moles com compressa e isolamento da porção pedicular a ser tratada (C e D)..... 63
- Figura 18 - Membro pélvico direito de cadáver canino. Visualização da proteção aos tecidos moles com termoprotetor e isolamento do pedículo para o congelamento (A e B). Visualização do pedículo submerso em nitrogênio líquido para congelamento (C e D)..... 64
- Figura 19 - Posicionamento do paciente em decúbito esternal, sugerido para congelamento, em nitrogênio líquido, da tíbia distal do membro pélvico direito. Observar o posicionamento do cirurgião e auxiliar no mesmo lado..... 65
- Figura 20 - Membro pélvico direito de cadáver canino. Visualização do pedículo congelado e aspecto dos tecidos moles preservados (A e B). Visualização após descongelamento e artrodese pantarsal com placa e parafusos (C e D)..... 66
- Figura 21 - Membro pélvico direito de cadáver canino. Visualização da sutura dérmica do acesso realizado à tíbia, tarso e metatarsos (A e B)..... 67

- Figura 22 - Paciente no transoperatório da técnica pedicular. Formação pedicular por meio da desarticulação rádio-carpica (A), imersão pedicular em um recipiente contendo o nitrogênio líquido (B), porção pedicular congelada (C) e descongelada apresentando fragmento ósseo destacado (D)..... 72
- Figura 23 - Representação gráfica comparativa do tempo cirúrgico entre os grupos das diferentes técnicas: rádio-ulna e tibia..... 77
- Figura 24 – Aspecto da ferida cirúrgica do paciente submetido à preservação do membro em que houve crioneecrose, no pós-operatório imediato (A), após oito dias da cirurgia de preservação (B) e após debridamento do tecido necrótico (C)..... 81
- Figura 25 – Avaliações no pós-operatório paciente submetido à preservação do fêmur distal. Segundo dia de pós-operatório com edema e hematoma do membro pélvico direito (A). No oitavo dia de pós-operatório: redução do edema e hematoma, e lesão de pele hiperêmica mais evidente (B). Aos 15 dias após a cirurgia sem os pontos de pele e lesão de pele (C). Após 40 dias com lesão cicatrizada..... 82
- Figura 26 - Imagem radiográfica do acompanhamento pós-operatório da técnica pedicular. Imagem radiográfica pré-operatória (A), após três meses do procedimento cirúrgico (B) e após seis meses do procedimento cirúrgico (C) em que observa-se a reabsorção óssea no rádio distal..... 83
- Figura 27 - Representação gráfica demonstrando o comparativo do tempo de sobrevida entre os diferentes grupos conforme o tratamento estabelecido: amputação e quimioterapia, paliativo e preservação e quimioterapia..... 84

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Perfil dos pacientes entre os diferentes grupos de tratamento: amputação e quimioterapia, paliativo e preservação e quimioterapia..... 78
- Tabela 2 - Técnica cirúrgica e evolução dos pacientes do grupo preservação do membro e quimioterapia..... 80
- Tabela 3 - Causa do óbito dos pacientes submetidos à técnica de preservação do membro e quimioterapia..... 85

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	20
2.1	Geral	20
2.2	Específicos	20
3	REVISÃO	21
3.1	Incidência	21
3.2	Etiologia e classificação	22
3.3	Diagnóstico	23
3.3.1	Histórico e sinais clínicos	23
3.3.2	Exame radiográfico	24
3.3.3	Citologia e biopsia óssea	25
3.3.4	Avaliação do paciente	27
3.4	Tratamento	28
3.4.1	Amputação	28
3.4.2	Preservação do membro (<i>Limb sparing</i>)	29
3.4.3	Técnicas de preservação do membro	30
3.4.3.1	Enxerto cortical alógeno	30
3.4.3.2	Endoprótese metálica.....	31
3.4.3.3	Irradiação	32
3.4.3.4	Pasteurização	33
3.4.3.5	Autoclavagem.....	34
3.4.3.6	Transposição da ulna	34
3.4.3.7	Transporte osteogênico	35
3.4.3.8	Criocirurgia	35
3.4.4	Controle da dor	41
3.4.5	Quimioterapia	42
3.5	Prognóstico	43
3.6	Uso de cadáver para treinamento em cirurgia	44
4	MATERIAL E MÉTODOS	46
4.1	Considerações gerais	46
4.2	Técnica de preservação do membro em cadáveres	46

4.2.1	Técnica pedicular em rádio-ulna distal.....	47
4.2.2	Técnica pedicular em tíbia distal.....	57
4.3	Técnica de preservação do membro em pacientes.....	67
4.3.1	Considerações gerais.....	67
4.3.2	Pacientes avaliados.....	68
4.4	Pré-operatório.....	68
4.5	Procedimento anestésico.....	69
4.6	Procedimento cirúrgico.....	70
4.6.1	Acessos cirúrgicos e formação do pedículo.....	70
4.6.1.1	Fêmur distal.....	70
4.6.1.2	Fêmur proximal.....	70
4.6.1.3	Rádio distal.....	71
4.6.2	Crioterapia.....	71
4.7	Pós-operatório.....	73
4.8	Avaliação clínica.....	73
4.9	Controle da dor.....	73
4.10	Avaliação radiográfica.....	74
4.11	Quimioterapia.....	74
4.12	Eutanásia.....	74
4.13	Necropsia.....	75
5	RESULTADOS.....	76
5.1	Técnica de preservação do membro em cadáveres.....	76
5.2	Perfil dos pacientes.....	78
5.3	Técnica de preservação do membro em pacientes.....	79
5.3.1	Procedimentos anestésico e cirúrgico.....	79
5.3.2	Avaliação clínica no pós-operatório.....	81
5.4	Sobrevida entre os grupos.....	84
6	DISCUSSÃO.....	86
7	CONCLUSÃO.....	95
	REFERÊNCIAS.....	96
	ANEXO A – Carta de aprovação da Comissão de Ética no uso de animais.....	102
	APÊNDICE A – Termo de consentimento informado.....	103
	APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	104
	APÊNDICE C – Termo de doação do corpo.....	105

1 INTRODUÇÃO

Na medicina veterinária os tumores ósseos primários tem relevante importância, pois os cães possuem alta prevalência, sendo o osteossarcoma o tipo histológico mais frequente. Acomete principalmente o esqueleto apendicular e sendo mais comum na região distal do rádio e ulna.

O tratamento do osteossarcoma tem como objetivos o controle local da doença e a prevenção de metástase. Amputação ou preservação do membro podem ser opções para o tratamento do tumor primário e a quimioterapia é necessária para minimizar o risco de desenvolvimento de metástases. A cirurgia de preservação do membro, denominada “*Limb-sparing*”, foi desenvolvida para casos especiais, em que o paciente possua outra afecção concomitante, neurológica ou ortopédica, importante ou em situações em que o tutor não permita a amputação.

A cirurgia de preservação do membro preconiza o uso funcional e isento de dor para o paciente, sem que seja adversamente afetada sua sobrevida. Existem muitas técnicas que podem ser aplicadas para preservação do membro, sendo o enxerto alógeno ou autógeno a técnica mais utilizada. A utilização de reconstrução com o próprio osso neoplásico necessita de tratamento (desvitalização) que pode ser com autoclavagem, pasteurização ou irradiação. Porém, estes tratamentos necessitam de equipamentos especiais e envolvem aquecimento ósseo, o que pode enfraquecê-lo e diminuir a osteoindução. Por esses motivos Tsuchiya *et al.* (2005) idealizaram outra abordagem de tratamento, ao invés de aquecimento para desvitalização, utilizaram o congelamento com nitrogênio líquido. Obtiveram resultados satisfatórios *in vitro* e *in vivo* com boas perspectivas de desenvolvimento da técnica de criocirurgia utilizando o nitrogênio líquido.

As vantagens do tratamento utilizando nitrogênio líquido incluem simplicidade, baixo custo, manutenção das propriedades de osteoindução e osteocondução, perfeita adaptação entre as interfaces ósseas, suficiente força biomecânica, sem transmissão de doenças, sem rejeição imunológica, sem necessidade de manutenção de banco de ossos ou equipamentos especializados.

Dentre as técnicas de preservação do membro utilizadas estão a excisional, que é a remoção em bloco do segmento tumoral para posterior desvitalização e a técnica pedicular, na qual disseca-se a porção tumoral sem excisão completa, apenas com um ponto de osteotomia ou desarticulação. Essa técnica possui algumas vantagens em

relação à excisional, como precoce recuperação após a cirurgia, diminuição dos locais de osteotomia o que propicia menores taxas de complicações na consolidação óssea.

Em razão disso o objetivo do presente estudo é descrever a técnica de preservação de membro através de pedículo congelado em nitrogênio líquido utilizando cadáveres de cães e avaliação da mesma em pacientes com tumores ósseos associando à quimioterapia adjuvante.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Descrever e avaliar a viabilidade da técnica de pedículo congelado na preservação do membro, utilizando nitrogênio líquido para desvitalização óssea em cadáveres de cães e pacientes com tumores em ossos longos.

2.2 Específicos

- Descrever a técnica cirúrgica de pedículo congelado em nitrogênio líquido em rádio e tíbia de cadáveres de cães;
- Avaliar a técnica de pedículo congelado em nitrogênio líquido na preservação de membro em cães portadores de neoplasias ósseas apendiculares;
- Descrever as complicações relacionadas à técnica de pedículo congelado em nitrogênio para preservação do membro;
- Relatar a sobrevida dos pacientes portadores de tumores ósseos submetidos ao método de preservação do membro com quimioterapia adjuvante.

3 REVISÃO

3.1 Incidência

Dentre os tumores ósseos primários que acometem os cães estão: osteossarcoma, condrossarcoma, osteocondroma, hemangiossarcoma, fibroma e lipossarcoma. De todas as neoplasias ósseas, o osteossarcoma (OSA) é o mais frequente (85%) e representa 3% a 4% de todos os tumores em cães (BURACCO *et al.*, 2002, JOHNSON & HULSE, 2005).

Em relação à distribuição anatômica, o osteossarcoma pode afetar o esqueleto apendicular (75%) e o esqueleto axial (25%). No esqueleto axial pode acometer mandíbula, maxila, vértebras, crânio, costelas, cavidade nasal e pelve (EHRHART *et al.*, 2013). E mais raramente, pode afetar os tecidos moles, como: glândula mamária, fígado, baço, intestino, pulmões, pele, rins, estômago, sinóvia, meninges, vagina, glândula adrenal, olho e testículo, sem lesão óssea primária, compreendendo menos de 2% de todos os casos (ARAÚJO *et al.*, 2006; EHRHART *et al.*, 2013), ocorrendo mais frequentemente em cães menores e mais velhos (JOHNSON & HULSE, 2005).

Aproximadamente 75% dos tumores ocorrem no esqueleto apendicular nas regiões metafisárias dos ossos longos, sendo geralmente invasivos no local de origem e rapidamente metastáticos. Os membros torácicos são duas vezes mais acometidos que os pélvicos, sendo que os locais mais frequentes: o rádio distal (34,9%) e úmero proximal (18,4%). Osteossarcoma no rádio proximal e úmero distal são raros e ocorrem em menos de 2% dos casos (LIPTAK *et al.*, 2004). No membro pélvico desenvolvem-se na região de tíbia distal (12,5%), de tíbia proximal (7,2%), de fêmur distal (7,9%) e menos comumente no fêmur proximal (4,6%) (DERNELL *et al.*, 2001; BURACCO *et al.*, 2002; DALECK *et al.*, 2002; ENDICOTT, 2003, EHRHART *et al.*, 2013). Osteossarcoma primário localizado distalmente à articulação antebraquiocarpal ou tarsocrural é raro em cães (EHRHART *et al.*, 2013).

Osteossarcoma é o tumor mais prevalente em humanos e em outras espécies domésticas, sendo que, em cães é dez vezes mais frequente quando comparado com seres humanos (DOBSON, 2011). Os osteossarcomas em cães e humanos possuem características histológicas e biológicas em comum. Em ambos, é o tumor ósseo primário mais comum, ocorrendo nas regiões metafisárias dos ossos longos, com a tendência de ocorrer em pessoas altas, especialmente adolescentes, e em cães de raças grandes. Uma diferença importante é o pico de aparecimento, que em humanos ocorre

na fase de maior crescimento, enquanto que em cães é mais tardio, quando as placas de crescimento já estão fechadas (RANKIN, 2012).

Cães de raças gigantes têm 60 vezes mais chances de desenvolver osteossarcoma e de raças grandes oito vezes mais, quando comparados com cães de pequeno porte (OGILVIE, 2001). Cães pesando mais de 40 kg representam 29% dos casos e, destes, somente 5% acometem o esqueleto axial. Por outro lado, cães com menos de 15 kg representam 5% dos casos de osteossarcoma, sendo que destes, 59% acometem o esqueleto axial. O aumento do peso e altura parecem ser fatores de risco do osteossarcoma apendicular em cães (EHRHART *et al.*, 2013). Além disso, cães castrados, independente do sexo, são mais predispostos que os cães inteiros (LIPTAK, 2004; EHRHART *et al.*, 2013). A idade de apresentação da doença é bimodal, isto é, um pequeno grupo de cães apresenta a doença entre 1 a 2 anos, e uma grande população apresenta a doença entre 7 a 9 anos (DERNELL *et al.*, 2001; ENDICOTT, 2003).

Dentre as raças mais acometidas estão: São Bernardo, Dinamarquês, Setter Irlandês, Dobermann, Pastor Alemão, Rottweiler, Golden Retriever e Fila Brasileiro. Porém, tem-se observado que o porte do animal parece ter maior influência do que a raça propriamente dita. Machos e fêmeas podem ser acometidos pelo OSA apendicular, mas nos machos há maior prevalência, na proporção de 1,5: 1 (STRAW, 1996; DERNELL *et al.*, 2001, JOHNSON & HULSE, 2005). Porém para Ehrhart *et al.* (2013) a proporção entre machos e fêmeas foi de 1:1.

Outros tumores envolvendo sistema musculoesquelético, como mieloma, linfoma ou metástases de tumores prostáticos, usualmente ocorrem em múltiplos locais e concomitantemente aparecem sinais sistêmicos (DERNELL *et al.*, 2001).

3.2 Etiologia e Classificação

A etiologia do osteossarcoma canino ainda não está bem esclarecida, uma das hipóteses está baseada na evidência de que o tumor ocorre mais frequentemente em ossos que suportam mais peso e em locais adjacentes às fises de fechamento tardio. Por serem animais de grande porte, podem ter múltiplos microtraumas na região metafisária, onde ocorre maior atividade celular, induzindo sinais mitogênicos e aumentando a probabilidade de uma linhagem mutante (STRAW, 1996; DALECK *et al.*, 2002, EHRHART *et al.*, 2013).

A presença de implantes metálicos tem sido associada com casos de osteossarcoma, na região da tíbia proximal após a cirurgia de nivelamento do platô tibial (TPLO) e avanço da tuberosidade tibial (TTA), utilizando implantes específicos. Apesar de não obterem correlação com os casos relatados, os autores levantam algumas hipóteses como: inflamação crônica, presença do biofilme; reação dos tecidos moles aos implantes; partículas da corrosão metálica dos implantes; união retardada e pobre vascularização óssea nas áreas de osteotomia (ATHERTON *et al.*, 2012; DUNN *et al.*, 2012).

O osteossarcoma é uma neoplasia maligna na qual as células neoplásicas formam osso e/ou matriz osteóide. A classificação baseia-se no tipo celular ou atividade predominante (osteoblástico, condroblástico, fibroblástico, indiferenciado, tipo células gigantes e telangiectásico), no aspecto radiológico (lítico, proliferativo ou misto) e na origem (central, justacortical ou periosteal) (DOIGE & WEISBRODE, 1998; ENDICOTT, 2003).

Uma forma incomum de osteossarcoma é o telangiectásico (subtipo vascular), que macroscopicamente assemelha-se a um hemangiossarcoma. Microscopicamente, essa neoplasia é composta de osteoblastos, osteóide e grandes cavidades císticas repletas de sangue e revestidas por células malignas (DOIGE & WEISBRODE, 1998).

3.3 Diagnóstico

O diagnóstico é baseado na história clínica, exame físico, achados radiográficos, cintilografia óssea (CO) e tomografia computadorizada (TC). A confirmação é feita através de biópsia do tecido tumoral e avaliação através do exame histopatológico (LIPTAK *et al.*, 2004).

3.3.1 Histórico e sinais clínicos

Claudicação e aumento de volume no membro são as queixas mais comuns dos tutores e algumas vezes há histórico de trauma discreto antes do início dos sinais. Este histórico pode induzir a um diagnóstico equivocado de outras afecções ortopédicas ou em tecidos moles (EHRHART *et al.*, 2013). A claudicação geralmente afeta um membro e, raramente, ocorrerá em outros membros. Tremores e atrofia muscular por desuso, dificuldade ou relutância em se levantar, letargia e anorexia também têm sido

observadas em pacientes com osteossarcoma (DERNELL *et al.*, 2001; ENDICOTT, 2003).

Os sinais clínicos em cães acometidos pelo OSA podem ser agudos ou crônicos progressivos e variam entre dor, claudicação, aumento de volume, tumefação, edema e fraturas espontâneas. A dor é resultado de microfraturas ou da interrupção do periósteo induzido pela lise óssea proveniente do desenvolvimento neoplásico frequentemente proveniente do canal medular, além da inflamação periosteal e ocasionalmente fratura patológica (menos de 3% dos casos) (ENDICOTT, 2003; LIPTAK, 2004; EHRHART *et al.*, 2013).

Um exame físico deve ser realizado, incluindo exame ortopédico e neurológico completos, identificando problemas coexistentes, como déficits neurológicos, osteoartrites, ruptura de ligamento cruzado cranial e displasia coxofemoral, avaliando a presença de dor, assimetria e atrofia muscular. Além da palpação dos linfonodos regionais que, quando aumentados devem ser aspirados para exame citológico (ENDICOTT, 2003).

Alterações respiratórias como tosse e dispneia, podem ser observadas em casos de pacientes com metástases pulmonares, frequentemente devido a extensas massas tumorais (DALECK *et al.*, 2002). Raramente os cães apresentam sinais respiratórios no primeiro atendimento, já que mesmo com metástase pulmonar podem permanecer assintomáticos por vários meses. Osteopatia hipertrófica pode desenvolver-se em cães com metástase pulmonar (EHRHART *et al.*, 2013).

3.3.2 Exame radiográfico

Para avaliação inicial da região envolvida, radiografias em projeções ortogonais são realizadas. Ao exame radiográfico observa-se amplo espectro de alterações ósseas, que vão desde padrão lítico até padrão proliferativo, entre estes dois extremos existem ampla variabilidade de imagens. Porém, alguns achados são frequentemente observados, como a lise cortical, que pode ser severa o suficiente para promover descontinuidade do córtex, levando a fratura patológica em alguns casos. Os tecidos moles estão frequentemente acometidos, apresentando edema e invasão do tumor, no qual poderá ser identificado padrão de reação óssea em paliçada, que pode ser perpendicular ou radial ao eixo axial, o qual é chamado explosão solar (*sunburst*) (EHRHART *et al.*, 2013).

Os tumores podem causar diferentes graus de lesão cortical. Setenta por cento dos tumores ósseos primários causam alterações corticais que podem ser: erosão, expansão, lise pontual até destruição cortical severa. Estas alterações na cortical ocorrem geralmente devido à invasão do tumor no córtex, que causa reação e elevação periosteal com formação de um novo osso denso. Essa elevação periosteal forma uma imagem triangular em relação ao córtex especialmente quando localizado na periferia da lesão e é chamado de triângulo de Codman, porém, não é um achado patognomônico de osteossarcoma (ENDICOTT, 2003).

As lesões raramente invadem a superfície articular, mas podem invadir os tecidos moles ao redor da articulação. Os achados radiográficos podem variar conforme o subtipo histológico, tamanho do tumor, localização e tempo de evolução (ENDICOTT, 2003; EHRHART *et al.*, 2013). O osteossarcoma deve ser diferenciado de outros tumores ósseos primários (condrossarcoma, fibrossarcoma, hemangiossarcoma), de metástase de tumores ósseos ou metástase de tumores de tecidos moles (sistema genitourinário), cistos ósseos, mieloma múltiplo e linfoma ósseo (EHRHART *et al.*, 2013). Outras lesões que devem ser excluídas são osteomielite fúngica e osteomielite bacteriana nas quais geralmente os cães apresentam doença sistêmica e o envolvimento ósseo é poliostótico. Cães com osteossarcoma raramente tem doença sistêmica e a lesão é confinada em um único local (LIPTAK *et al.* 2004, EHRHART *et al.*, 2013).

Radiografias torácicas devem ser realizadas para detectar possíveis metástases. Aproximadamente 10% dos cães possuem evidências radiográficas de metástases pulmonares na primeira avaliação e mais de 90% dos cães podem ter micrometástases (BURACCO *et al.*, 2002). Os nódulos metastáticos de OSA são formados de tecido denso e só podem ser visibilizados, ao exame radiográfico, quando apresentam diâmetro maior que 6 a 8 mm (ENDICOTT, 2003). No entanto, exames como tomografia computadorizada (TM) e ressonância magnética (RM) permitem o diagnóstico precoce das lesões metastáticas (BERG, 1996).

3.3.3 Citologia e biopsia óssea

O exame citológico por meio de aspirado com a agulha fina, guiado ou não por ultrassom, é um método rápido e minimamente invasivo para o diagnóstico de OSA, porém não deve ser pensado como método definitivo de diagnóstico. A citologia em

conjunto com dados clínicos e radiográficos pode facilitar a discussão sobre as opções de tratamento (EHRHART *et al.*, 2013).

A biopsia por meio da agulha de Jamshidi ou a trefina Michele são mais invasivas e exigem anestesia geral. A trefina Michele coleta um diâmetro maior de osso, possuindo acurácia de 93,8%, no entanto, poderá fragilizá-lo e aumentar o risco de fratura patológica, por isso prefere-se a agulha de Jamshidi. A agulha de Jamshidi possui acurácia de 91,9% na detecção de tumores e 82,3% de taxa de acurácia para o diagnóstico específico do subtipo tumoral (EHRHART *et al.*, 2013).

A biopsia óssea permite precisão de resultados, porém essa técnica apresenta como desvantagens o envolvimento de procedimento cirúrgico e o risco de complicações pós-cirúrgicas como formação de hematoma, infecção, disseminação do tumor e fratura patológica (LIPTAK *et al.*, 2004).

É recomendado que o mesmo cirurgião realize a biopsia e o procedimento definitivo, especialmente se for realizado a preservação do membro. Pois o trato da biopsia deve ser removido por completo na cirurgia definitiva. Deve-se ter cuidado com nervos, vasos e espaços articulares, além de coletar amostras adicionais redirecionando o instrumento de biopsia através da mesma incisão, não criando novos tratos de biopsia (AIKEN, 2003; ENDICOTT, 2003; JOHNSON & HULSE, 2005).

Na realização da biopsia indica-se amostras múltiplas, unicorticais, de 1 ou 2 cm de comprimento, não fragmentado, da região central da lesão, pois a periferia da lesão contém osso reativo e em cicatrização, o qual poderá levar ao erro de diagnóstico. Se na análise histológica o resultado for osso reativo, não poderá ser excluído tumor primário, especialmente se as radiografias forem compatíveis, pois o tumor é heterogêneo, possuindo grande quantidade de tecido reativo. Após a remoção do tumor (preservação ou amputação) a análise histológica deve ser realizada para confirmar o diagnóstico pré-operatório (ENDICOTT, 2003).

Liptak *et al.* (2004) recomendaram biopsia quando a apresentação e localização não são usuais, bem como na presença de doença sistêmica, histórico de viagem para regiões endêmicas de doenças fúngicas ou quando o conhecimento do tumor irá mudar a atitude do tutor em aderir a um tratamento mais agressivo. Para Endicott (2003) e Ehrhart *et al.* (2013) se os achados clínicos e radiográficos são típicos de osteossarcoma, especialmente quando a possibilidade de doença fúngica ou bacteriana é mínima, é aceitável o diagnóstico histológico após o tratamento definitivo, mesmo

porque poucas afecções que causam destruição óssea avançada podem ser tratadas efetivamente sem remoção da lesão.

3.3.4 Avaliação do paciente

O estadiamento do tumor é necessário para o adequado planejamento terapêutico do paciente, propiciando acurácia do prognóstico. São considerados: tamanho do tumor, envolvimento de linfonodos e presença de metástases (AIKEN, 2003). Exame físico e de imagem para detectar possível disseminação da doença são importantes. Linfonodos regionais, embora raramente envolvidos, devem ser palpados, e, caso aumentados, indica-se o exame citológico. Possíveis locais de metástase óssea podem ser detectados por exame ortopédico cuidadoso e radiológico; e aumento de órgãos por palpação abdominal e ultrassonografia. Normalmente metástases pulmonares não são detectadas pelo exame clínico, porém a ausculta cuidadosa é importante para detectar alterações cardiopulmonares concomitantes (EHRHART *et al.*, 2013).

Exames avançados de imagem (tomografia computadorizada e ressonância magnética) auxiliam no estadiamento do tumor e são usados especialmente para detectar metástases pulmonares e avaliar a vascularização do tumor, envolvimento dos tecidos moles, canal medular e resposta ao tratamento. Contudo, exames radiográficos são amplamente utilizados e recomendados para guiar o tratamento e prognóstico. Também são úteis para detecção de um segundo local de lesão óssea. Já a cintilografia é controversa, pois é uma ferramenta útil para detecção e localização de metástase óssea, embora o exame seja muito sensível, não é específico para identificar locais com tumor no esqueleto. Qualquer região com atividade osteoblástica será identificada por esta técnica, incluindo osteoartrite e infecção. Por isso, realiza-se radiografia com alto padrão de qualidade, onde, previamente, a cintilografia detectou lesões suspeitas (EHRHART *et al.*, 2013).

A saúde geral do paciente exige avaliação cuidadosa. A idade avançada não exclui a possibilidade de tratamento, no entanto, anestesia prolongada e quimioterapia podem não ser toleradas em cães com comprometimento cardiovascular ou renal. Eletrocardiograma e ecocardiograma devem ser realizados quando o histórico ou exame físico indicam alteração cardíaca. A função renal sempre deve ser avaliada antes da administração de quimioterápico especialmente se for cisplatina. Dados mínimos

incluem hemograma completo, análise bioquímica e urinálise (AIKEN, 2003; EHRHART *et al.*, 2013).

3.4 Tratamento

O tratamento do osteossarcoma possui dois objetivos o controle local da doença e a prevenção de metástase. Amputação ou preservação do membro podem ser opções para o tratamento do tumor primário e a quimioterapia é necessária para minimizar o risco de desenvolvimento de metástases, prolongando a vida do paciente (LIPTAK, 2004).

Além dos tratamentos cirúrgico e quimioterápico, o tratamento da dor é essencial para os pacientes com tumores ósseos. O alívio da dor é primordial antes, durante e após o tratamento oncológico. Para o correto tratamento da dor é importante identificar o tipo, localização, estado físico do paciente, fase do tratamento, limitações e riscos dos procedimentos (YAZBEK, 2008).

O tratamento paliativo é indicado em cães com metástases ou quando o tutor não aceita opções de tratamentos mais invasivos. Dentre as medidas paliativas de tratamento estão analgesia, radioterapia, amputação e quimioterapia metronômica (LIPTAK, 2004).

3.4.1 Amputação

O tratamento preferencial do osteossarcoma é a amputação do membro acometido pelo tumor primário, porém, pacientes com osteoartrite grave, doenças neurológicas e obesidade possuem restrições para amputação. Além disso, a relutância dos tutores em aceitar a amputação é uma das razões mais comuns para a preservação do membro (BURACCO *et al.*, 2002), conseqüentemente, inviabilizando que o profissional realize terapêutica adequada, reduzindo as chances de promover ao paciente maior sobrevida e com melhor qualidade de vida (ZILIOTTO, 2003).

A amputação do membro como tratamento único é considerada tratamento paliativo, pois as micrometástases estão presentes na maioria dos casos, e somente a amputação não impediria a progressão destas lesões (EHRHART *et al.*, 2013). Para amputação do membro torácico deve ser removida também a escápula, principalmente se o tumor encontra-se no úmero proximal. No membro pélvico a desarticulação coxofemoral deve ser considerada e, sendo o tumor no fêmur proximal, a

hemipelvectomy é indicada para minimizar o risco de recorrência local (LIPTAK, 2004).

3.4.2 Preservação do membro (*Limb-sparing*)

A cirurgia de preservação do membro, denominada “*Limb-sparing*”, foi desenvolvida para casos especiais, em que o paciente possua outra afecção concomitante, neurológica ou ortopédica, importante ou em situações em que o tutor não permita a amputação (ZILIOTTO *et al.*, 2003).

A cirurgia de preservação do membro objetiva proporcionar retorno funcional e isento de dor para o paciente após o tratamento local do tumor, sem que seja adversamente afetada sua sobrevivência. Cães com osteossarcoma ou outras neoplasias primárias do esqueleto apendicular podem ser candidatos a procedimentos preservadores de membro e devem estar em boas condições de saúde, com relação a função cardíaca, renal e da medula óssea, para que possam tolerar a cirurgia e a quimioterapia adjuvante (STRAW & WITHROW, 1993).

A técnica de preservação envolve a ressecção do tumor e a reconstrução da coluna óssea, com ou sem artrodese da articulação adjacente (DERNELL *et al.*, 2001; LIPTAK *et al.*, 2006a). Tem sido descrita para as regiões distal do rádio, proximal do úmero, distal da tíbia e proximal do fêmur (LIPTAK *et al.*, 2005) em cães. A técnica para tumores distais do rádio tem os resultados mais favoráveis, pois a artrodese pancarpal é bem tolerada pelos cães (STRAW, 1996; DERNELL *et al.*, 2001; DALECK *et al.*, 2002).

A preservação do membro é indicada em cães com osteossarcoma restrito ao osso, com mínima invasão dos tecidos moles, envolvimento menor que 50% do comprimento ósseo e ausência de fratura patológica (STRAW & WITHROW, 1993; BERG, 1996; DERNELL *et al.*, 2001; JOHNSON & HULSE, 2005; BOSTON *et al.*, 2007).

A preservação do membro no caso de lesões umerais proximais não tem obtido sucesso (JOHNSON & HULSE, 2005). Tumores localizados na tíbia proximal ou fêmur distal são difíceis de preservar pela impossibilidade de salvar a articulação do joelho. A função insatisfatória do membro e as altas taxas de complicações desencorajam a indicação da técnica nestes locais (ombro, coxofemoral, joelho e tarso) (BERG, 1996; STRAW, 1996; DERNELL *et al.*, 2001; DALECK *et al.*, 2002; LIPTAK *et al.*, 2006b).

Visto que os tumores ósseos primários ocorrem em locais metafisários, a articulação adjacente geralmente será submetida à artrodese após a ressecção do tumor (STRAW, 1996).

Diversas técnicas têm sido descritas para preservação do membro no tratamento do osteossarcoma apendicular, cada uma com suas vantagens e limitações (EHRHART *et al.*, 2013). Estas técnicas incluem aloenxertos ou autoenxertos (vascularizados, autoclavados, pasteurizados ou irradiados), endopróteses e transporte ósseo intercalado com fixador externo circular (LIPTAK *et al.*, 2006; BOSTON *et al.*, 2007; MACDONALD & SCHILLER, 2010; HODGE *et al.*, 2011).

A preservação do membro é um processo complexo e a maioria das técnicas é limitada pelo treinamento cirúrgico, habilidade e experiência do cirurgião. Além de treinamento cirúrgico, depende de uma equipe multidisciplinar formada por oncologistas, veterinários cirurgiões, radiologistas e patologistas (SÉGUIN *et al.*, 2003; LIPTAK *et al.*, 2006).

Complicações pós-operatórias são descritas em animais tratados através da preservação do membro com recidiva local do tumor, falha no implante, fratura patológica e infecção pós-cirúrgica devido ao prolongado tempo cirúrgico, utilização de grandes enxertos, escassez de revestimento por tecidos moles e campo cirúrgico extenso. Os sinais clínicos associados são: drenagem de secreção pela incisão, claudicação branda a grave e lambedura persistente no local da incisão. Nas infecções graves são necessários, além de antibioticoterapia prolongada, revisão cirúrgica e em situações mais críticas a amputação do membro (STRAW & WITHROW, 1996; BOSTON *et al.*, 2007; DAWE, 2007).

3.4.3 Técnicas de preservação do membro

3.4.3.1 Enxerto cortical alógeno

A técnica de preservação utilizando enxerto alógeno é frequentemente utilizada na região de rádio distal. Os tecidos moles são dissecados ao nível da pseudocápsula. O tumor é seccionado com serra oscilatória respeitando a margem de 3 a 5 cm, baseados nos exames radiográficos (ou cintilografia). Os músculos extensores que estão aderidos a pseudocápsula são seccionados. Caso a ulna esteja comprometida, é excisada em conjunto com o rádio, com cuidado de não lesionar os vasos, principalmente na face

palmar. Placas de compressão dinâmica, bloqueadas ou customizadas podem ser aplicadas para fixação do enxerto, o qual é preenchido com cimento ósseo que promove melhor fixação dos parafusos e suporte, minimizando complicações como fratura do enxerto e afrouxamento dos parafusos. Para verificar as margens de segurança indica-se coleta de amostras de medula da porção proximal do rádio, radiografia pós-operatória e avaliação histológica das margens da porção removida (EHRHART *et al.*, 2013).

O uso de enxerto cortical alógeno é a técnica mais tradicional para preservação do membro em cães. Liptak e colaboradores (2005) relataram o uso de enxerto alógeno em conjunto com prótese de quadril para preservação do membro em fêmur proximal. A porção proximal do fêmur foi substituída pelo enxerto, onde a cabeça femoral foi removida e a prótese com haste longa foi cimentada no fêmur. As inserções tendíneas dos músculos glúteos, iliopsoas e vasto lateral foram suturas ao enxerto, com intuito de preservar a biomecânica da articulação coxofemoral. O retorno funcional do membro foi excelente a bom, porém houve complicações pós-operatórias de não-união e afrouxamento asséptico do componente femoral, que foi resolvido em uma cirurgia de revisão. Após 270 dias de evolução houve luxação coxofemoral traumática que foi reduzida de modo fechado. Neste caso houve um bom controle do tumor com intervalo livre de doença de 688 dias, embora recidiva local tenha sido suspeitada.

Como vantagem da utilização do enxerto alógeno inclui-se a ausência de fixação com aparelho externo, tendo pouco envolvimento do tutor no pós-operatório (EHRHART *et al.*, 2013). No entanto, a técnica de enxerto cortical alógeno tem sido associada com altas taxas de complicações, tanto em humanos quanto em animais, incluindo infecção, falha no implante e recidiva do tumor. Como resultado, cirurgias tem investigado métodos alternativos (LIPTAK *et al.*, 2006).

3.4.3.2 Endoprótese metálica

A técnica utilizando endoprótese consiste na substituição do segmento tumoral por implante metálico que é fixado à coluna óssea através de placa e parafusos. MacDonald & Schiller (2010) relataram o uso de endoprótese de tântalo, que é um metal trabecular, para um paciente com osteossarcoma em rádio distal. A superfície desta endoprótese possui microtextura que propicia que novo osso cresça no interior das porosidades da endoprótese. A desvantagem deste material é o custo e no paciente

relatado houve infecção pós-operatória, responsiva a antibioticoterapia, que foi instituída de modo contínuo.

Em um estudo de Liptak *et al.* (2006) foi realizado ensaio biomecânico comparando endoprótese e enxerto cortical alógeno. Este foi observado superioridade de 26-33% da endoprótese em relação ao enxerto cortical em relação à rigidez da construção submetida a carga axial, porém sem diferença significativa entre os grupos. Foram também testados membros torácicos com e sem ulna, para avaliar se a presença da ulna adicionaria suporte, um grupo com endoprótese e outro com enxerto alógeno, não foram observadas diferenças entre esses grupos. Para os autores esse resultado tem significado clínico importante, uma vez que, algumas técnicas envolvem a remoção da ulna, o que não afetaria significativamente a rigidez da estrutura.

Em outro estudo, Liptak e colaboradores (2006) compararam as técnicas de endoprótese e enxerto cortical alógeno em 20 cães com osteossarcoma de rádio distal. Em relação ao tempo cirúrgico entre os grupos, não houve diferença, a média foi de 155 minutos no grupo da endoprótese e 170 minutos no grupo do enxerto cortical. Em relação à porcentagem de substituição do segmento ósseo, foi superior com endoprótese (60,9%) em comparação com enxerto (48,6%). Infecção pós-cirúrgica foi diagnosticada em 11 cães (55%), que foram tratados com antibióticos baseado em cultura e antibiograma. Em dois cães com infecção profunda houve necessidade de debridamento em um, e amputação em outro. A função do membro foi considerada boa a excelente em 75% dos cães, não havendo correlação com infecção pós-operatória, falha de implante ou recidiva tumoral. Não houve diferenças clinicamente relevantes entre os dois grupos.

3.4.3.3 Irradiação

A técnica de irradiação para preservação do membro consiste na aplicação de radiação em doses variáveis, sendo o Gray (Gy) a unidade de dose absorvida. A irradiação causa necrose das células tumorais e células normais. A irradiação extracorpórea provém enxerto autógeno prontamente disponível não necessitando de banco de ossos, promovendo perfeita coaptação no defeito criado (LIPTAK *et al.*, 2004).

A preservação do membro através da técnica de irradiação envolve ampla divulsão dos tecidos moles: pele, músculos, nervos e vasos, afastando estes tecidos do campo de radiação isolando o osso afetado. É aplicada uma fração simples de 50-300

Gy, removendo o tecido mole irradiado e utilizando fixação interna rígida após o procedimento. A dose de 50 Gy causa necrose da lesão tumoral (LIPTAK *et al.*, 2004).

Regiões ósseas em que não se aplicam técnicas com o enxerto alógeno, são indicadas para a técnica de irradiação, como a região médio-diafisária do rádio; proximal e diafisária de úmero e tibia, e distal de fêmur. Não é recomendado para pacientes com envolvimento de tecidos moles (BOSTON *et al.*, 2007) ou tumores líticos onde a integridade estrutural está enfraquecida, que após o tratamento pode gerar falha na preservação do membro (LIPTAK *et al.*, 2004).

Boston *et al.* (2007) utilizaram dose de 70Gy de radiação em cinco cães com osteossarcoma de rádio distal, e relataram complicações de falha de implante, fratura patológica e revisão cirúrgica com artrodese pancarpal, devido a ocorrência de infecção profunda em três casos. A complicação mais frequente foi a fratura patológica ocorrendo em três cães que, segundo os autores, foi devido a lise provocada pelo tumor em conjunto com a necrose causada pela radiação. Neste estudo, a dose irradiada foi considerada eficiente para esterilização das células tumorais e os autores sugeriram artrodese pancarpal combinada com cimento ósseo no canal medular para evitar complicações pós-operatórias.

A vantagem da técnica de irradiação é a possibilidade de atingir uma área determinada sem lesionar estruturas adjacentes sensíveis à radiação e o uso do osso autógeno propiciando adequada coaptação, preservação da articulação e da função do membro com bom controle local do tumor (BOSTON *et al.*, 2007).

3.4.3.4 Pasteurização

A preservação do membro pode ser realizada através da pasteurização do segmento tumoral. Buracco *et al.* (2002) descreveram um caso de um canino com osteossarcoma de rádio distal, utilizando como tratamento a pasteurização, no qual após remoção do segmento tumoral e sua esqueletização, a mesma foi colocada em uma caixa à prova de água e submersa em banho maria a uma temperatura de 65° por 40 minutos. O paciente relatado, apesar de algumas complicações como afrouxamento de parafusos e tratos drenantes, obteve sobrevida de 56 meses.

3.4.3.5 Autoclavagem

O autoenxerto autoclavado é utilizado na preservação do membro em humanos (PAN *et al.*, 2012) e em cães (FERRIGNO, 2011). A técnica consiste em excisar o segmento tumoral e posterior desvitalização térmica em autoclave por cinco minutos a 132°C e 2 atm de pressão. Segundo Ferrigno (2011), que utilizou a técnica em 10 cães acometidos com osteossarcoma, a técnica é factível, permitindo tempo de sobrevivência semelhante a outras técnicas de preservação de membro, que foi em média de 271 dias.

As vantagens encontradas nesta abordagem são a perfeita coaptação óssea, sem necessidade de banco de ossos, ausência dos riscos de transmissão de doenças, custo reduzido, especialmente importante em países em que outras opções como as próteses são muito onerosas (PAN *et al.*, 2012).

3.4.3.6 Transposição da ulna

A técnica de transposição da ulna é indicada em tumores de rádio distal, em que o segmento tumoral é removido e a ulna distal do mesmo membro é rotacionada aproximadamente 90° para o defeito radial, atuando como enxerto ósseo vascularizado, pois são preservadas a artéria e veia interóssea. Esta é uma vantagem em relação à técnica de enxerto alógeno, permitindo que o processo de união do enxerto seja mais rápido e diminuindo o risco de infecção. A desvantagem do enxerto vascularizado é o encurtamento do membro, pois o processo estilóide da ulna é removido. Apesar disso, os autores relataram que os pacientes operados obtiveram excelente função do membro. No estudo de três casos clínicos, dois apresentaram complicações: fratura da porção proximal do rádio com seis dias de pós-operatório, que foi revisada e recolocada a placa, o motivo pode ser em razão de algumas raças gigantes terem a cortical relativamente mais frágil (SÉGUIN *et al.*, 2003).

3.4.3.7 Transporte osteogênico

A osteogênese por transporte ósseo é um processo em que o osso saudável destacado é sequencialmente movido através de um defeito segmentar ósseo adjacente, formando novo osso. Essa técnica tem sido aplicada em cães para substituição de segmentos longos da região distal de rádio e tíbia após ressecção tumoral. O transporte ósseo pode ser longitudinal ou transversal em relação ao eixo principal e realizado através de um aparelho externo circular. O novo osso formado é altamente vascularizado, conseqüentemente resistente à infecção. Uma desvantagem seria o longo período deste processo, pois a taxa de distração é de 1mm por dia, permanecendo o paciente com o aparelho circular até a consolidação óssea (JEHN *et al.*, 2007).

Jehn e colaboradores (2007) sugeriram técnica de distração óssea transversa. Em seu trabalho realizaram a técnica em peças e depois em cão vivo para validar a técnica. Indicada para animais com osteossarcoma de rádio distal, onde a região afetada é removida e então a ulna é parcialmente bisseccionada em seu eixo longitudinal para que o segmento medial seja distraído através do defeito do rádio.

3.4.3.8 Criocirurgia

Em humanos a preservação do membro é a técnica de escolha para tumores ósseos malignos devido aos avanços nas técnicas cirúrgicas, de diagnóstico por imagem e tratamentos com quimioterapia e radioterapia (TSUCHIYA *et al.*, 2004; RAHMAN *et al.*, 2009).

A utilização de reconstrução com o próprio osso neoplásico é muito popular em alguns países da Ásia por razões sócio-religiosas e para isso o osso tumoral necessita de tratamento (desvitalização) que pode ser com autoclavagem, pasteurização e irradiação. Porém, estes tratamentos necessitam de equipamentos especiais e propiciam aquecimento ósseo, o que pode enfraquecê-lo e diminuir a osteoindução (TSUCHIYA *et al.*, 2010).

A primeira criocirurgia foi relatada pelo neurocirurgião americano Irving Cooper em 1962, que utilizou o nitrogênio líquido para tratar a doença de Parkinson e outras afecções do movimento, através do congelamento do tálamo. Após Gage *et al.* em 1966 descreveram o uso do nitrogênio líquido em tumores de tecidos moles da região oral, desde então vários tumores tem sido tratados localmente com nitrogênio líquido

(COOPER & DAWBER, 2001). Marcove & Miller em 1969 relataram pela primeira vez o uso do nitrogênio líquido para o tratamento de metástase óssea e em publicações subsequentes indicaram o tratamento para lesões ósseas benignas ou malignas de baixo grau. A técnica de crioablação foi descrita a partir de então e consiste da abertura de uma janela no osso afetado, curetagem e, após, colocar o nitrogênio na cavidade criada, através de um funil, para congelar as células residuais na parede óssea, e finalmente preencher a cavidade com polimetilmetacrilato. Foi relatada em 52 pacientes com tumor de células gigantes, com resultados promissores (MARCOVE *et al.*, 1979).

O nitrogênio líquido pode ser utilizado tanto para congelamento lento quanto rápido. No congelamento lento o compartimento intracelular permanece não congelado porque contém substâncias de alto e baixo peso molecular. O congelamento extracelular causa concentração de solutos, levando ao transporte de água do meio intracelular para o extracelular, como resultado da pressão osmótica. Essa perda de água causa contração celular e é acompanhado de aumento de concentração de solutos que previne a formação de gelo intracelular, porém pode causar lesão celular (VERTH *et al.*, 2005).

No congelamento rápido ocorre a formação de gelo intracelular porque o tempo é curto demais para a água sair da célula e manter o equilíbrio osmótico através da membrana celular, então o tecido congelado é submetido a forças de cisalhamento e propagação do gelo, causando lesões mecânicas na membrana e disfunção nas organelas celulares (VERTH *et al.*, 2005).

Por sua vez, o descongelamento lento é acompanhado pela recristalização que tem um efeito lesivo destes cristais de gelo no compartimento intracelular. Quanto mais longo for o período de descongelamento maiores cristais de gelo se formarão e maior será a lesão celular. Após algumas horas do ciclo de congelamento ocorre estase vascular, ocorrendo congestão e edema dos tecidos devido à lesão do endotélio, resultando em aumento da permeabilidade capilar. Além disso, ocorre agregação plaquetária trombose e isquemia (GAGE *et al.*, 2009).

Mudanças histológicas do congelamento ósseo após a cirurgia são vistos em aproximadamente sete dias, não havendo mais células vivas. A isquemia nos tecidos criotratados priva todas as células de alguma possibilidade de sobreviver e resulta necrose tecidual uniforme, exceto na periferia da lesão. A microangiografia óssea mostrou total avascularização do córtex após criocirurgia. A criocirurgia é indicada tanto para tumores benignos quanto para tumores malignos, e o tratamento é variável,

dependendo das características clínicas, histológicas e biológicas dos tumores (VERTH *et al.*, 2005).

A temperatura que causa extensa lesão tecidual ocorre entre -20° a -30°C , porém a destruição das células tumorais ainda é controversa. Muitas investigações realizadas em tecidos animais observaram que a temperatura letal seria de -40° a -50°C . Uma variedade de opiniões em relação à temperatura apropriada em criocirurgia ainda persiste (GAGE *et al.*, 2009).

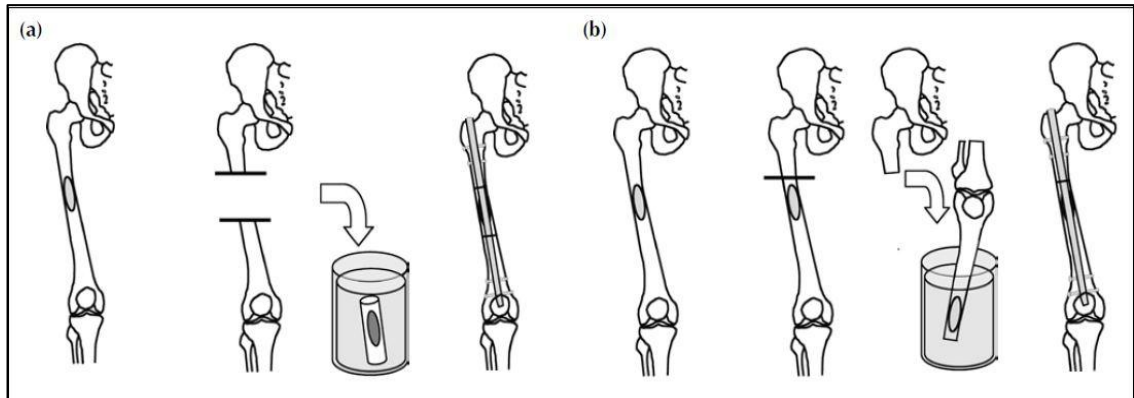
O nitrogênio líquido é o agente criogênico mais utilizado atualmente, sua popularidade é devido às baixas temperaturas alcançadas (-197°C) sendo efetivo tanto para lesões benignas quanto para malignas (COOPER & DAWBER, 2001).

O tratamento criogênico pode gerar resposta imunológica devido à formação de anticorpos específicos antineoplásicos. A hipótese é que a ruptura da membrana celular devido ao congelamento poderia liberar antígenos suficientes para induzir a formação de anticorpos (GAGE *et al.*, 2009).

O modelo experimental de ressecção de segmento diafisário extenso de ossos longos para avaliação de aloimplantes foi demonstrado por Alievi *et al.* (2007) e Ferreira (2008) com resultados satisfatórios. Após, com o uso do nitrogênio líquido foi utilizado em enxertos corticais alógenos em ovelhas com ótimos resultados em relação às taxas de incorporação do enxerto, mostrando-se um método adequado de desvitalização extracorpórea (SILVA, 2011; ALBUQUERQUE *et al.*, 2012).

Foram relatados com sucesso, diferentes métodos de tratamento de neoplasias ósseas através da criocirurgia. O protocolo de desvitalização das células tumorais desenvolvido consiste em submergir o osso tumoral em um recipiente contendo nitrogênio líquido a -196°C durante 20 minutos, seguida por descongelamento em temperatura ambiente por 15 minutos e submersão em água destilada por 10 minutos. Este protocolo aplica-se tanto na técnica excisional, que consiste na remoção em bloco da lesão, a qual é submersa em nitrogênio líquido (Figura 1a), quanto na técnica pedicular, que compreende a criação de um pedículo com ou sem osteotomia, divulsão dos tecidos moles e rotação do osso acometido (Figura 1b) (TSUCHIYA *et al.*, 2005; TSUCHIYA *et al.*, 2010).

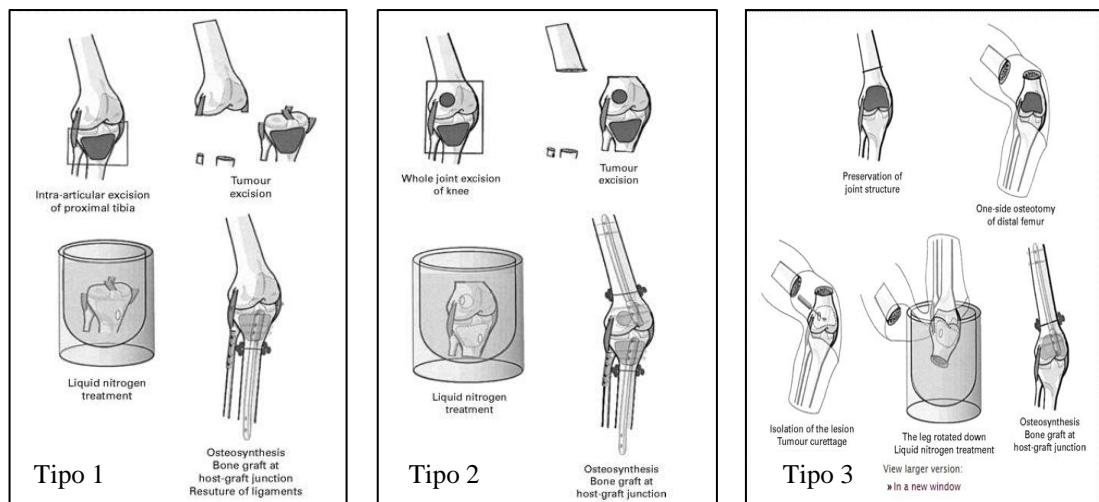
Figura 1 – Técnicas excisional (a) e pedicular (b) para tratamento de tumores ósseos.



(Fonte: Tomoaki *et al.*, 2012).

Os autores classificaram em três tipos a técnica de preservação do membro utilizando o nitrogênio líquido. Tipo 1-A e 1-B foram definidos quando há excisão intra-articular e reconstrução, tipo 2 como uma excisão intercalar, ou seja, compreende dois segmentos periarticulares e tipo 3 que compreende o congelamento *in situ* da região óssea com lesão, ou seja, congelamento do pedículo (Figura 2) (TSUCHIYA *et al.*, 2005).

Figura 2 – Técnicas de criocirurgia: tipo 1, tipo 2 e tipo 3 para tratamento de tumores ósseos.

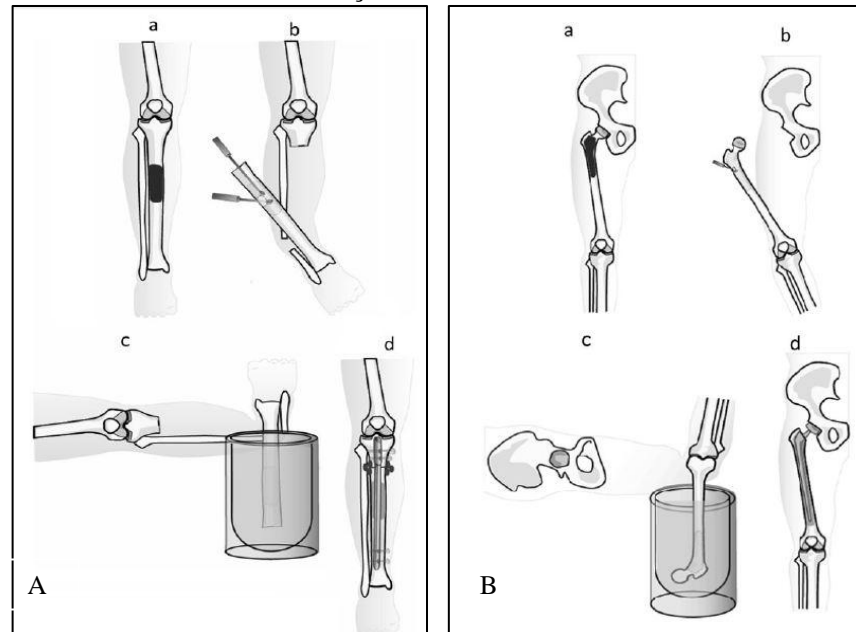


(Fonte: Tsuchiya *et al.*, 2005).

A técnica pedicular (tipo 3) (Figura 3), foi publicada como uma modificação da técnica de criocirurgia e possui algumas vantagens em relação às técnicas tipo 1 e 2, dentre elas a manutenção da integridade articular, excelente estabilidade e função do membro desde que não sejam sacrificados ligamentos importantes. A técnica pedicular,

em função de suas vantagens, é recomendada sempre que possível (TSUCHIYA *et al.*, 2005).

Figura 3 – Exemplos da utilização da técnica pedicular de tratamento de tumores ósseos. Em (A) técnica com osteotomia, e (B) com desarticulação.



(Fonte: Tsuchiya *et al.*, 2005).

Yamamoto *et al.* (2002) avaliaram o efeito do nitrogênio líquido em relação a força de compressão em ossos bovinos e o efeito em células tumorais *in vitro* e *in vivo* em ratos. A força de compressão no osso tratado em nitrogênio não foi diferente estatisticamente ao osso controle e foi mais resistente em relação ao osso autoclavado, demonstrando que o congelamento não promove significativa fragilização óssea comparando-se com tratamento térmico. Neste mesmo estudo demonstraram histologicamente que células tumorais morreram após tratamento com nitrogênio líquido em um ciclo do protocolo citado anteriormente.

Para realização das técnicas de criocirurgia, os autores preconizaram, independentemente do tipo, a remoção dos tecidos moles para obtenção de margem de segurança e curetagem do canal medular, principalmente, para evitar a fratura óssea devido a expansão no congelamento. Especificamente na técnica pedicular, os tecidos moles são divulsionados e protegidos no momento cirúrgico para evitar lesão dos mesmos na etapa de submersão óssea onde indica-se uma margem de segurança de 2 a 3 cm. Após o congelamento do tumor, o osso é preenchido com cimento ósseo adicionado

de antibiótico com intuito de fixar melhor os implantes e preencher falhas ósseas causadas pelo tumor (TSUCHIYA *et al.*, 2010).

Tsuchiya *et al.* (2004) relataram a técnica de preservação do membro com nitrogênio líquido em 28 pacientes humanos com diferentes tumores ósseos. A maioria teve excelente retorno funcional do membro e a consolidação óssea ocorreu em média após seis meses da cirurgia. Houve complicações em sete pacientes, sendo três infecções, duas fraturas e duas recidivas locais, porém, apesar das complicações, a técnica sugerida demonstrou ser simples e efetiva como método de reconstrução biológica.

A técnica excisional, com nitrogênio líquido, foi utilizada em 10 pacientes com tempo médio de avaliação pós-operatória de 54 meses. A avaliação da função do membro foi realizada baseada em seis parâmetros: dor, atividade funcional, aceitação emocional, utilização de apoio externo, habilidade ao caminhar ou marcha. A média de avaliação funcional foi de 82,5% (77-90%). Neste estudo, conduzido por Rahman *et al.* (2009), além da adequada funcionalidade do membro, a ocorrência de complicações foi mínima, porém os autores sugerem que mais estudos devem ser realizados a longo prazo e que a técnica deve ser aplicada em pacientes selecionados corretamente.

A técnica excisional com nitrogênio também foi relatada em um canino com osteossarcoma de tibia distal submetido a artrodese, que evoluiu positivamente com uso precoce do membro afetado, apesar da quebra de parafusos e necessidade de implantação de uma segunda placa, em um acompanhamento de 55 dias. Em contrapartida, o mesmo autor relatou a preservação do membro de outro paciente através de autoclavagem e faz um comparativo entre técnicas. O método de autoclavagem necessitou aparelhagem específica com controle rigoroso das condições de temperatura, maior tempo transcirúrgico e nítido desgaste do fragmento ósseo após a esterilização com acentuada redução em sua espessura, o paciente teve pobre função motora do membro, infecção e sequestro do autoenxerto (ROCHA *et al.*, 2013).

Em outro estudo, Tsuchiya *et al.* (2010) relataram o tratamento de 33 pacientes, sendo que, destes, 25 foram submetidos a técnica pedicular. Em 25 pacientes o retorno funcional foi considerado excelente, em cinco foi considerado bom e em três foi considerado pobre. No momento intraoperatório não houve complicações, como lesões de tecidos moles ou neurovasculares. A recorrência local foi uma complicação observada em três pacientes. Em todos houve envolvimento apenas de tecidos moles,

que foram removidos cirurgicamente. Os autores acreditam que provavelmente em razão de lesões satélite ou por trombo venoso.

A técnica pedicular de preservação de membro em humanos, foi relatada por Torigoe *et al.* (2012) para o tratamento de neoplasia em rádio distal. O pedículo foi realizado através da osteotomia da ulna e desarticulação rádio-cárpica e um ciclo de congelamento com a inserção do rádio distal no interior de um recipiente contendo nitrogênio líquido e após inserção de placa e parafusos na ulna. Houve ótimo retorno funcional sem recorrência local do tumor.

As vantagens do tratamento utilizando nitrogênio líquido incluem simplicidade, baixo custo, manutenção das propriedades de osteoindução e osteocondução, perfeita adaptação entre as interfaces ósseas, suficiente força biomecânica, sem transmissão de doenças, sem rejeição imunológica, sem necessidade de manutenção de banco de ossos ou equipamentos especializados, revitalização precoce e efeitos criomunológicos (TSUCHIYA *et al.*, 2010).

Comparativamente, a técnica pedicular possui muitas vantagens em relação a técnica excisional, dentre elas manutenção da continuidade da articulação em pacientes selecionados, preservação da integridade articular e funcionalidade, precoce recuperação após a cirurgia, diminuição dos locais de osteotomia o que propicia menores taxas de complicações na consolidação. Porém, a técnica possui algumas desvantagens que são a ampla divulsão dos tecidos moles e o maior grau de dificuldade para realizar a manobra de rotação do membro para o interior do recipiente de congelamento. A técnica pedicular é indicada em humanos nas seguintes localizações anatômicas: fêmur proximal, diafisário e distal; úmero proximal e diafisário; tibia proximal e diafisária. A técnica pedicular não é indicada em casos em que o tumor está aderido a estruturas neurovasculares principais, nas quais o tumor não pode ser dissecado, em fraturas patológicas ou em severas lesões líticas com o risco iminente de fratura (TSUCHIYA *et al.*, 2010; TORIGOE *et al.*, 2012).

3.4.4 Controle da dor

A quantificação e reconhecimento da dor na medicina veterinária é um desafio. Somente o homem consegue expressar e quantificar a dor verbalmente, em animais é subjetivo e baseado principalmente nas alterações comportamentais como mudanças na personalidade ou atitude, como, animais dóceis que tornam-se agressivos, vocalização

especialmente quando manipulado, automutilação, alterações na postura e deambulação, relutância em se movimentar, proteção da área dolorida, diminuição do apetite e alteração da expressão facial, dentre outros (YAZBEK, 2008).

A dor devido à neoplasia é classificada como moderada a grave, e em tumores ósseos a dor é grave a torturante. Os nociceptores estão em grande número no perióstio, sendo que os principais mecanismos contribuintes para a dor são distensão do perióstio pela expansão tumoral, microfraturas e liberação local de mediadores inflamatórios causando ativação direta dos nociceptores periféricos. Pelo menos 25% dos animais chegam a dor intensa interferindo significativamente na qualidade de vida do paciente. Em torno de 50 a 60% dos pacientes vivem sem alívio adequado da dor, e em muitos casos pela dificuldade de avaliação objetiva (LESTER & GAYNOR, 2000).

O bem-estar animal deve ser sempre o objetivo do tratamento, pensando no alívio da dor dos pacientes (DOBSON, 2011). Em alguns pacientes com fratura patológica, em que a amputação não seja indicada ou os tutores não autorizem, a redução da fratura como tratamento paliativo e quimioterapia associada oferece maior conforto ao paciente em relação a dor e melhor qualidade de vida. Em humanos esta abordagem é utilizada principalmente quando são diagnosticadas metástases ósseas (BOSTON *et al.*, 2011).

3.4.5 Quimioterapia

Existe mínima diferença no tempo de sobrevida nos pacientes tratados com analgésicos, radioterapia, somente cirurgia, a menos que a cirurgia seja associada a quimioterapia. Reciprocamente a quimioterapia sem cirurgia não aumenta a sobrevida do paciente, assim como os outros tratamentos paliativos (LIPTAK *et al.*, 2004).

Em humanos, o protocolo quimioterápico é frequentemente determinado pela resposta a quimioterapia pré-operatória, na qual é indicada pela porcentagem de necrose no tumor ósseo primário. O protocolo é continuado se a porcentagem de necrose é alta, enquanto que o protocolo quimioterápico é modificado quando a porcentagem de necrose é baixa, tornando o prognóstico ruim (BISPO & CAMARGO, 2011). Em cães, no entanto, não houve diferença no tempo de sobrevida com administração do quimioterápico no pré, trans e pós-operatório. Com frequência a quimioterapia é iniciada na retirada de pontos para minimizar o risco de complicações associadas com a

administração perioperatória, permitindo a avaliação da recuperação pós-cirúrgica (LIPTAK *et al.*, 2004).

Vários protocolos são utilizados com muitas opções de drogas incluindo: doxorubicina, cisplatina, carboplatina e a combinação entre eles. Os pacientes devem ser avaliados antes da quimioterapia, pois cada quimioterápico pode resultar em efeitos colaterais. A doxorubicina é cardiotoxicidade e para a sua indicação o paciente deve realizar eletrocardiograma. Em caso de anormalidade a droga não é utilizada. A cisplatina tem potencial nefrotóxico e o paciente deve ser avaliado quanto a função renal, e após a utilização desta droga, ser submetido a diurese com fluidoterapia. A carboplatina tem efeito antitumoral similar ao da cisplatina, porém é menos nefrotóxica. Antes de cada administração a função renal deve ser avaliada, entretanto, não há a necessidade de fluidoterapia para diurese após a administração (ENDICOTT, 2003).

3.5 Prognóstico

O prognóstico é dependente do quanto o tumor se desenvolveu, assim como o local de seu surgimento. Quase que invariavelmente, o cão com OSA vai a óbito em virtude das metástases, principalmente nos pulmões. As metástases ocorrem por via hematogênica, principalmente para os pulmões e também para outros ossos, e em menor proporção há metástase para linfonodos regionais. Palpação dos linfonodos regionais, radiografias torácicas e cintilografia óssea são ferramentas para o estadiamento e o prognóstico em cães com suspeita de osteossarcoma apendicular, pois a presença de metástase terá um impacto significativo nas opções terapêuticas (LIPTAK *et al.*, 2004).

Embora a raça e o sexo não sejam reconhecidos como importantes para o prognóstico, cães jovens com OSA parecem apresentar a doença biologicamente mais agressiva e um tempo de sobrevida mais curto (SPODNICK *et al.*, 1992). Pacientes com a média de idade entre sete a dez anos tem melhor prognóstico do que pacientes muito velhos ou jovens (ENDICOTT, 2003).

Tumores de grande volume, ou localizados na porção proximal do úmero e escápula ou em animais com peso superior a 40 kg, parecem estar também associados com pior prognóstico e menor taxa de sobrevida (BERGMAN *et al.*, 1996; ENDICOTT, 2003; WITHROW & VAIL, 2007). Foi atribuído ao subtipo histológico telangiectásico, em um estudo de osteossarcoma em ulna, que os animais com diagnóstico deste tipo

histológico apresentaram pior prognóstico em relação aos outros tipos, com sobrevida menor (SIVACOLUNDHU *et al.*, 2013).

A fosfatase alcalina elevada tem sido associada com pior prognóstico em cães com osteossarcoma apendicular. A elevação pré-operatória da fosfatase alcalina (>110U/L) está associada com intervalo livre de doença e sobrevida total, menores. Do mesmo modo, cães que possuem fosfatase alcalina elevada antes da cirurgia e que não retornam ao normal em 40 dias após a remoção cirúrgica da lesão primária, podem desenvolver metástase precocemente (EHRHART *et al.*, 2013).

O prognóstico para osteossarcoma apendicular é reservado e depende do grau de agressividade e malignidade do tumor. Embora apenas 5% dos animais tenham metástases pulmonares detectáveis no momento do diagnóstico, 90% deles morrem ou são submetidos à eutanásia em um ano, devido a metástases (SPODNICK *et al.*, 1992).

A excisão completa do tumor e a ausência de metástases conduzem ao prognóstico razoável. Neste caso, a associação da excisão tumoral com a quimioterapia pode prolongar a vida do animal em até 13 meses. Entretanto, em situações onde o tumor é biologicamente agressivo e há ocorrência de metástases para órgãos distantes, a expectativa de sobrevida é de seis meses (BOUVY, 2003). Para Withrow & Vail (2007), os animais que fazem apenas a excisão cirúrgica do membro acometido têm sobrevida de aproximadamente três meses e, quando além da excisão, utiliza-se também a quimioterapia, esta média aumenta para cerca de oito meses.

Em uma análise realizada por Gomes *et al.* (2008) no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em relação ao tempo de sobrevida de cães com imagem radiográfica compatível com osteossarcoma que realizaram o tratamento paliativo, observaram que quando a opção de tratamento do tutor foi somente com analgésicos (70% dos pacientes) tiveram uma sobrevida de 3,4 meses e com amputação (22% dos pacientes) uma sobrevida de 4,9 meses, sendo que em 8% dos pacientes o tutor optou pela eutanásia. O reduzido tempo de sobrevida ressalta a importância da quimioterapia como terapia adjuvante.

3.6 Uso de cadáver para treinamento em cirurgia

É crescente a preocupação ética e moral sobre a eutanásia de animais para educação. Diversas instituições veterinárias de ensino recorreram ao uso de cadáveres de pacientes oriundos dos hospitais. O sucesso no implemento de cadáveres tem

contribuído para minimizar a eutanásia de animais saudáveis para propostas didáticas (SILVA *et al.*, 2004).

Curva de aprendizado pode ser definida como a expressão gráfica representativa do período de incorporação de um novo conhecimento (MELO, 2004). Para tal, a utilização de cadáveres para treinamento e desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas em Medicina Veterinária tem tornado-se alternativa interessante. Dentre as opções de utilização estão fresco, fresco congelado e embalsamado, que usualmente é realizado com formalina (SILVA *et al.*, 2004). Porém, outras técnicas de preservação química tem sido utilizadas como a solução de Larssen modificada (SILVA *et al.*, 2004, SCHERER, 2009; MENEZES, 2012) com intuito de manter os tecidos com coloração e textura semelhante aos observados *in vivo* e permitindo utilizações repetidas (SILVA *et al.*, 2004).

Em um estudo utilizando cadáveres de cães para treinamento de artroscopia na articulação do ombro e joelho, Tatarunas e Matera (2004) utilizaram 15 e 24 cadáveres respectivamente, com intuito de treinamento e visualização das estruturas intra-articulares, a técnica artroscópica por ser de difícil execução e o prévio treinamento em cadáveres é importante para se adquirir habilidade e conhecimento das estruturas intra-articulares normais antes de proceder a técnica em um animal portador da afecção, minimizando a ocorrência de lesões iatrogênicas advindas da inexperiência.

Em relação à preservação do membro, Séguin *et al.* (2003) realizaram estudo anatômico e clínico para descrever e validar a técnica de transposição de autoenxerto vascularizado ulnar. No qual utilizaram 22 membros torácicos de cães com intuito de desenvolver a técnica e avaliar se o suprimento sanguíneo permanecia patente. E avaliaram a técnica, viabilidade do enxerto e função do membro em três cães com osteossarcoma de rádio distal. Outro estudo realizado para desenvolvimento de técnica de preservação de membro foi conduzido por Jehn *et al.* (2007) que utilizaram 20 membros torácicos de 10 cadáveres de cães e um cão vivo para validação da técnica de osteogênese através de transporte ósseo ulnar transversal.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Considerações gerais

O presente projeto foi aprovado junto à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, com protocolo de número: 24463 (ANEXO A).

O projeto foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa foram realizados os procedimentos cirúrgicos de preservação do membro através da técnica pedicular em cadáveres de cães e na segunda etapa a técnica de preservação foi aplicada em pacientes da rotina do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCV-UFRGS).

4.2 Técnica de preservação do membro em cadáveres

A utilização de cadáver foi no intuito de treinamento da técnica cirúrgica pedicular de preservação de membro, descrita em humanos, avaliação de todas as estruturas anatômicas envolvidas nos procedimentos e descrição da técnica detalhadamente com registro fotográfico e ilustrações de todas as etapas. Antes do início dos procedimentos foram utilizados três cadáveres como piloto, para estudo da anatomia e dissecação das estruturas. E ao final dos procedimentos, outro cadáver foi utilizado para o registro fotográfico.

No total foram utilizados 15 cães, sem predileção por raça ou sexo, com peso entre 15 a 45 kg, submetidos à eutanásia por motivos de doença terminal oriundos do HCV-UFRGS. Foram utilizados somente animais formalmente doados pelo seu responsável, através de assinatura do termo de doação de corpo (APÊNDICE A). Os animais foram acondicionados em sacos plásticos, identificados e mantidos em freezer (-20°). Cada cão foi utilizado em dois procedimentos diferentes, sendo recongelado para reutilização posterior.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em cadáveres de cães sem qualquer tipo de preservação química. Os cães foram descongelados 24 horas antes do procedimento e submersos em água a temperatura ambiente, em um recipiente plástico com capacidade de 70 litros. Após descongelamento os animais foram secos e a tricotomia era realizada nas regiões que seriam operadas.

No total foram realizados 30 procedimentos cirúrgicos divididos em dois grupos com técnicas diferentes. No primeiro grupo foi realizada a técnica de preservação pedicular em membro torácico na região de rádio-ulna distal e no segundo grupo foi realizada a técnica de preservação pedicular em membro pélvico na região de tibia distal. A avaliação foi realizada através da descrição do procedimento com as dificuldades encontradas, complicações e limitações anatômicas.

Os procedimentos foram subdivididos em etapas. Na técnica pedicular em rádio-ulna foram: acesso a ulna, osteotomia da ulna, acesso ao rádio/carpo/metacarpos, formação do pedículo, crioterapia, osteossíntese da ulna, artrodese pancarpal e sutura dos tecidos moles, totalizando oito etapas. Na técnica pedicular em tibia foram: acesso à tibia/tarso/metatarsos, formação do pedículo, crioterapia, artrodese pantarsal e sutura dos tecidos moles, totalizando cinco etapas. Em todas as etapas foram considerados os tempos de execução e anotadas informações pertinentes.

4.2.1 Técnica pedicular em rádio-ulna distal

Com o cão em decúbito lateral e o membro torácico a ser operado para cima e com a extremidade coberta com malha tubular (Figura 4) foi realizado o primeiro acesso através de incisão de pele caudolateral a ulna, no final do terço proximal. Com auxílio de régua a ulna foi medida e dividida em três partes para determinação do ponto de osteotomia. Após divulsão do subcutâneo, os músculos extensor ulnar do carpo e flexor ulnar do carpo foram afastados com auxílio de um afastador de Farabeuf para o acesso ósseo (Figura 4). Em seguida foi realizada a osteotomia da ulna com serra oscilatória. Finalizada a primeira parte da osteotomia da ulna, a região rádio-carpo-metacárpica foi acessada craniodorsalmente, o tecido subcutâneo foi divulsionado e a veia cefálica ligada (Figura 5).

Os músculos extensores foram divulsionados para posterior tenotomia dos mesmos e o retináculo extensor foi incisado. Primeiramente, procedeu-se a localização e divulsão do tendão extensor comum dos dedos (Figura 6) e do extensor radial do carpo (Figura 7), e após foi realizada a tenotomia de ambos. Em seguida foi realizada a abertura da cápsula articular e a desinserção do ligamento interósseo com auxílio de um elevador de periósteo formando assim a porção pedicular (Figura 8). Com manutenção da ulna na articulação cárpica. Aproximadamente dois terços do rádio sofreu exposição

para criação do pedículo. As superfícies articulares foram desgastadas com o auxílio de goíva, antes do congelamento.

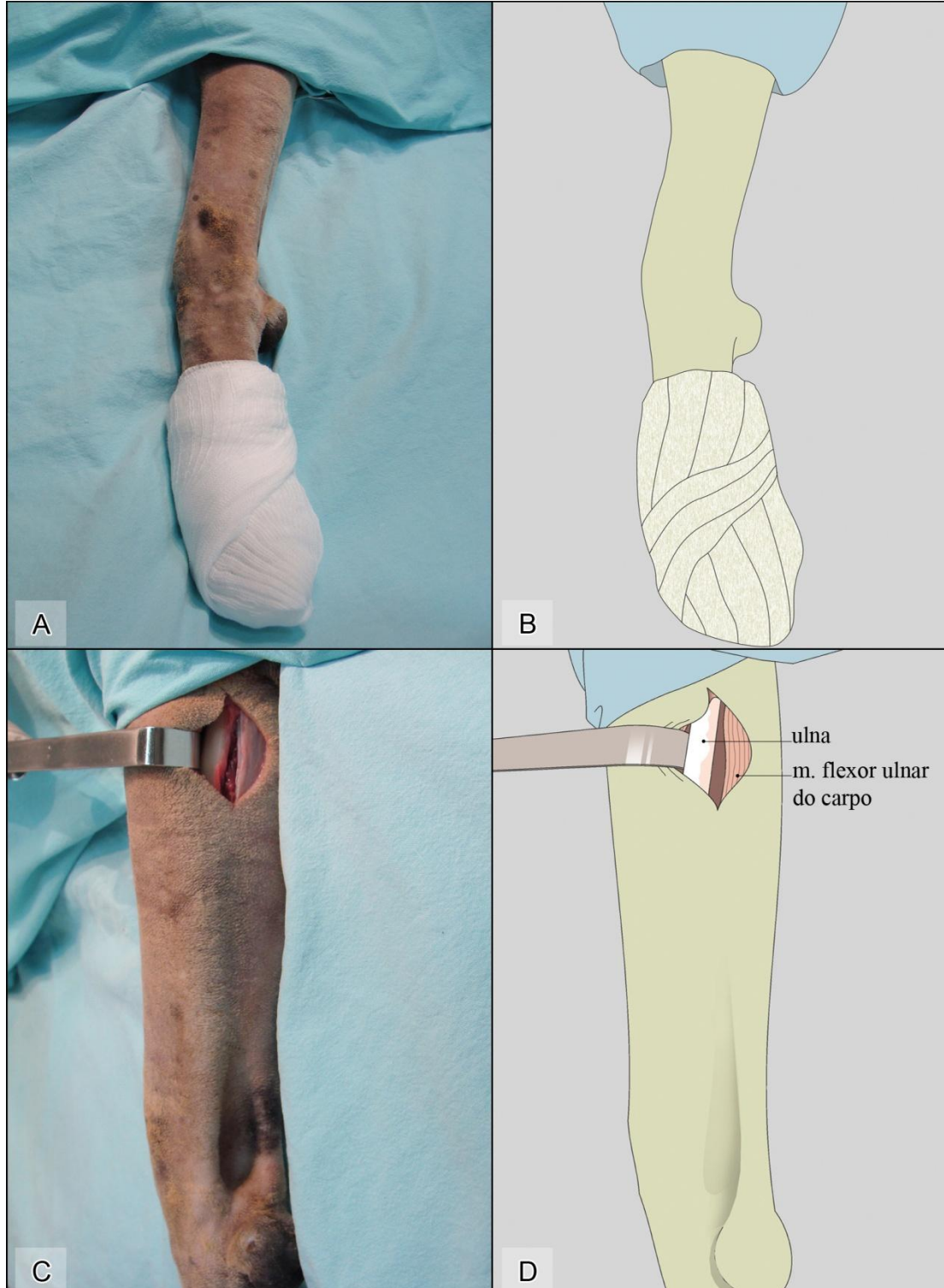
Previamente ao congelamento os tecidos moles foram protegidos com compressas embebidas com solução salina aquecida e uma proteção térmica confeccionada com tecido duplo de algodão preenchido com papel alumínio em formato cônico (termoprotetor) (Figura 9). O ciclo de congelamento do segmento ósseo foi realizado conforme preconizam Tsuchiya *et al.* (2005), ou seja, vinte minutos de imersão óssea no nitrogênio líquido, quinze minutos em temperatura ambiente e dez minutos sob irrigação com água destilada.

Para imersão do pedículo no recipiente com nitrogênio o cirurgião e auxiliar ficaram lado a lado, um segurando o recipiente contendo o nitrogênio líquido com as mãos protegidas com compressas e o outro realizando a manobra de imersão, girando o membro para baixo através do manuseio do cotovelo pelo auxiliar. Para realização desta manobra com maior facilidade o cão sofreu mudança de decúbito de lateral para esternal (Figura 10).

Após o tratamento por congelamento foi realizada a osteossíntese da ulna com placa de compressão dinâmica 2,7mm de seis furos, na face lateral da ulna. E para artrodese pancarpal foi utilizada placa de compressão dinâmica 3,5mm de 16 furos, cranialmente ao rádio-carpo-metacarpo (Figura 11). A sutura do tecido subcutâneo foi em padrão contínuo simples e pontos isolados simples na pele com mononáilon 2-0 (Figura 12).

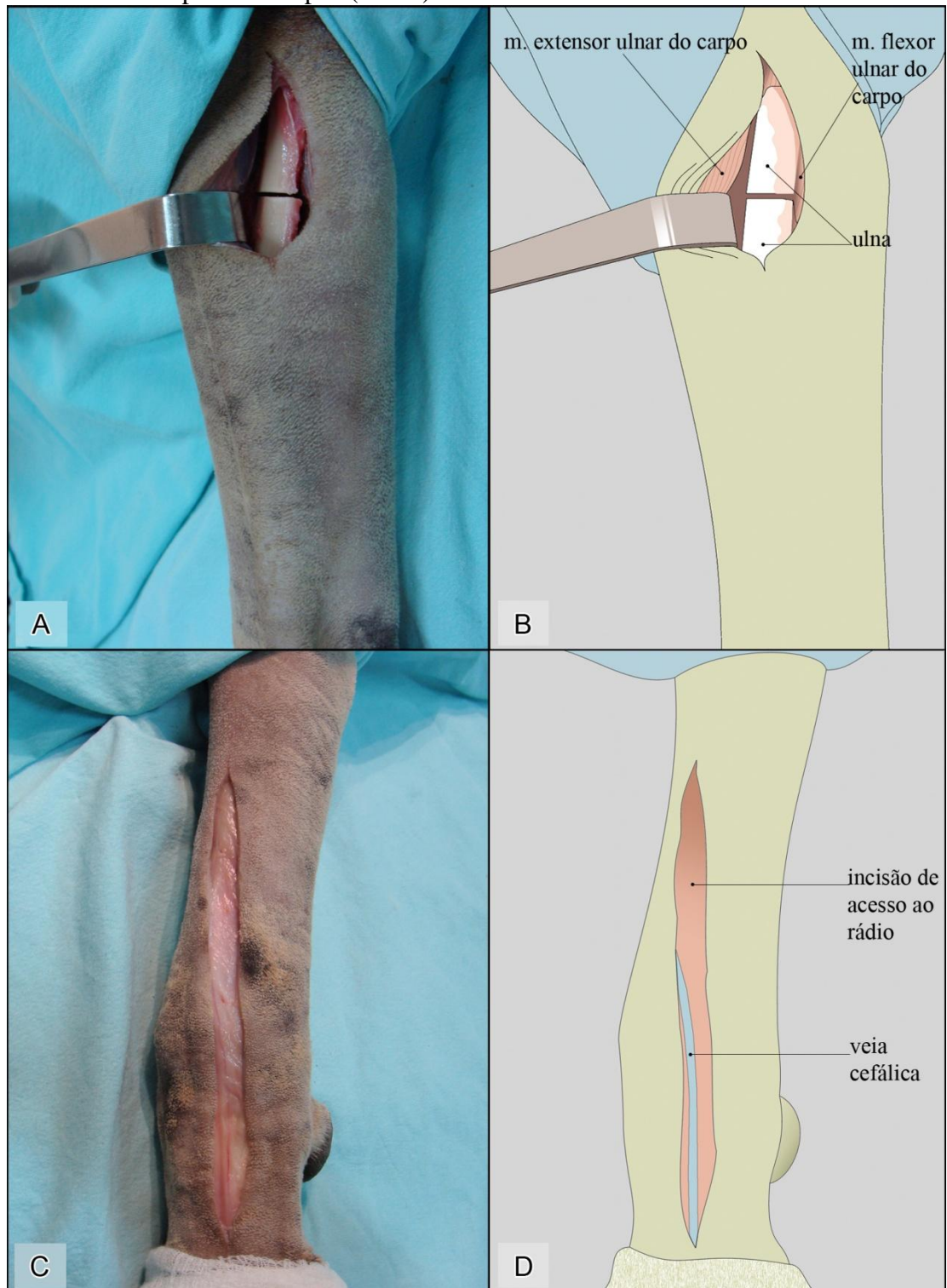
Após o procedimento foi feito exame radiográfico em duas incidências da região operada para observação do posicionamento dos implantes e aspecto ósseo.

Figura 4 – Membro torácico esquerdo de cadáver canino, preparado para cirurgia da técnica pedicular em rádio-ulna, a extremidade coberta com malha tubular (A e B). Acesso à ulna, incisão no aspecto caudolateral do membro torácico, para exposição óssea os músculos extensor ulnar do carpo e flexor ulnar do carpo foram afastados (C e D)



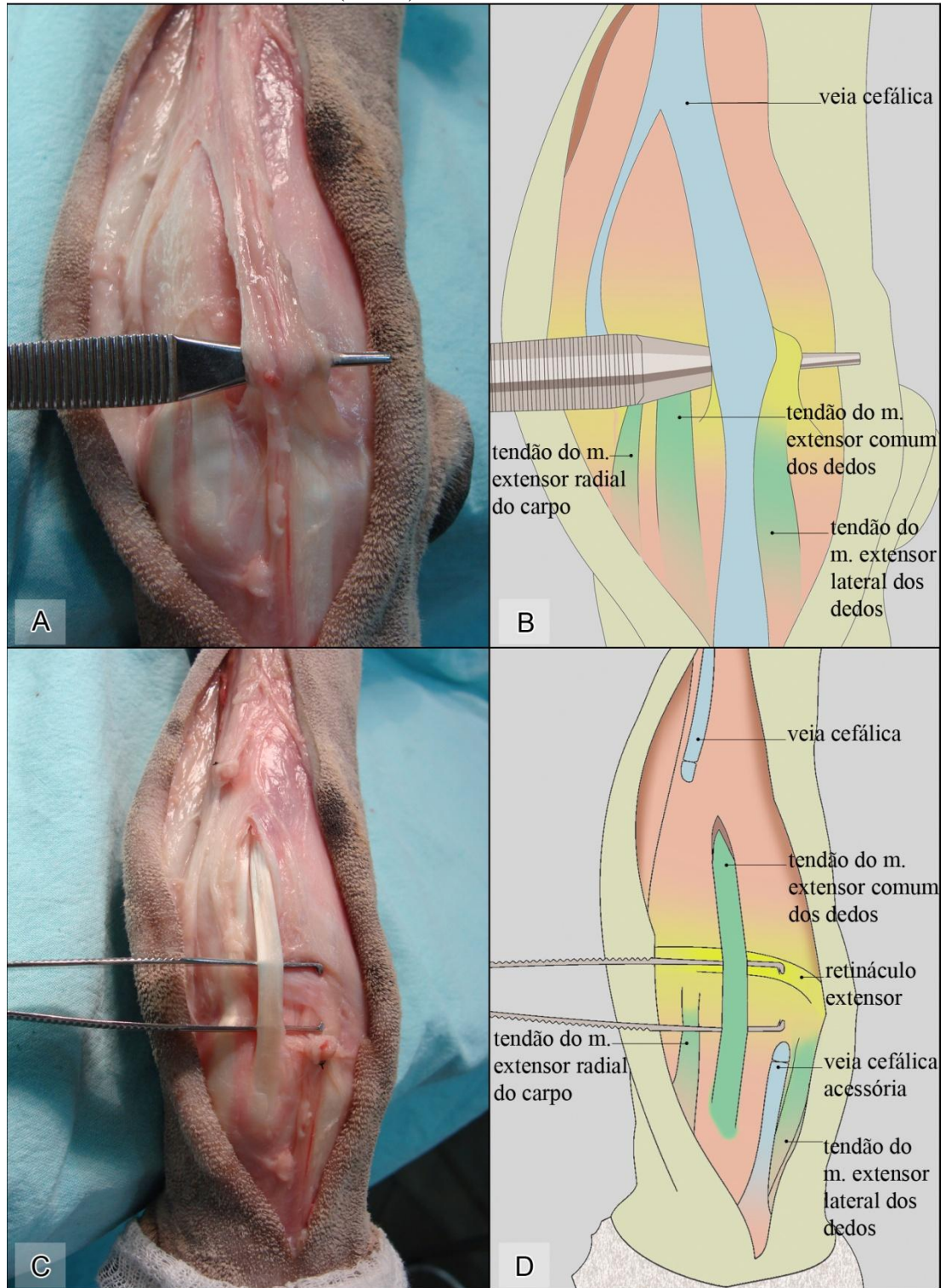
Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 5 – Membro torácico esquerdo de cadáver canino, após a realização de osteotomia ulnar (A e B). Incisão craniodorsal de acesso ao rádio e carpo-metacarpos (C e D)



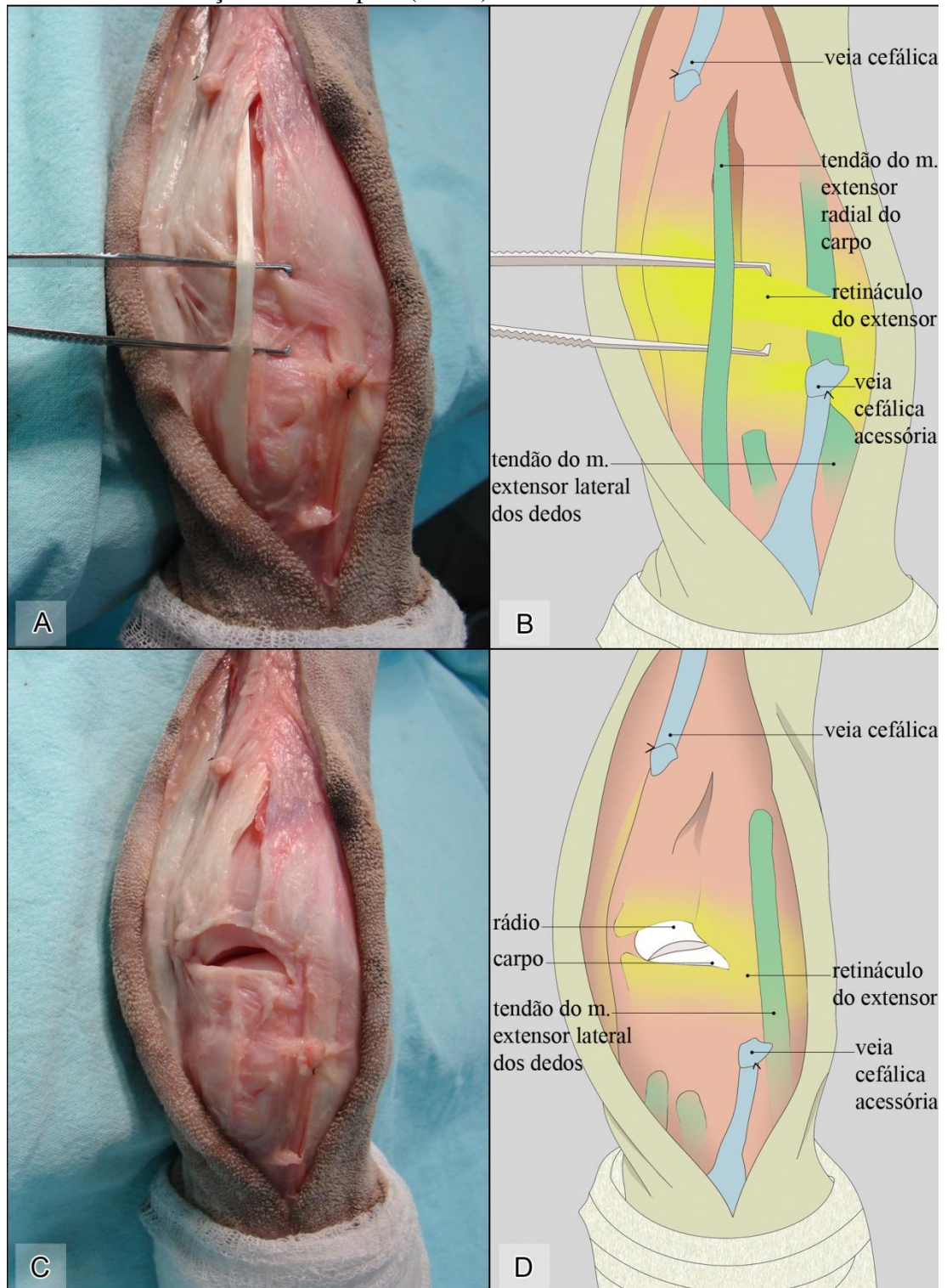
Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 6 – Membro torácico esquerdo de cadáver canino, aspecto cranial, após divulsão do subcutâneo, em destaque a veia cefálica dissecada. Visualização parcial dos tendões dos músculos extensor radial do carpo, extensor comum dos dedos e extensor lateral dos dedos (A e B). Após ligadura da veia cefálica e dissecção do tendão do músculo extensor comum dos dedos (C e D)



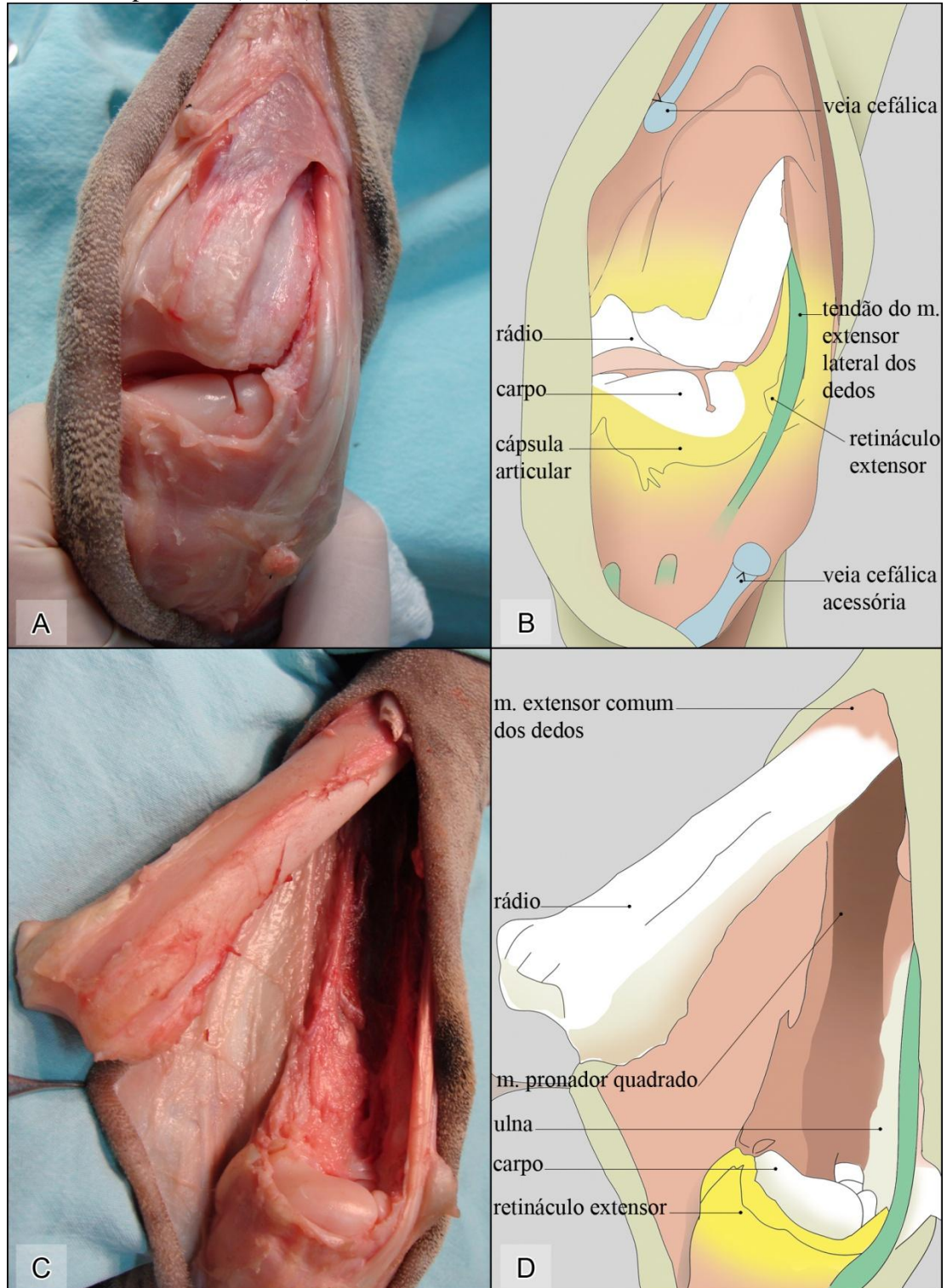
Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 7 – Membro torácico de cadáver canino, aspecto cranial. Divulsão do tendão do músculo extensor radial do carpo para posterior tenotomia (A e B). Incisão do retináculo extensor e cápsula articular, para exposição da articulação rádio-cárpica (C e D)



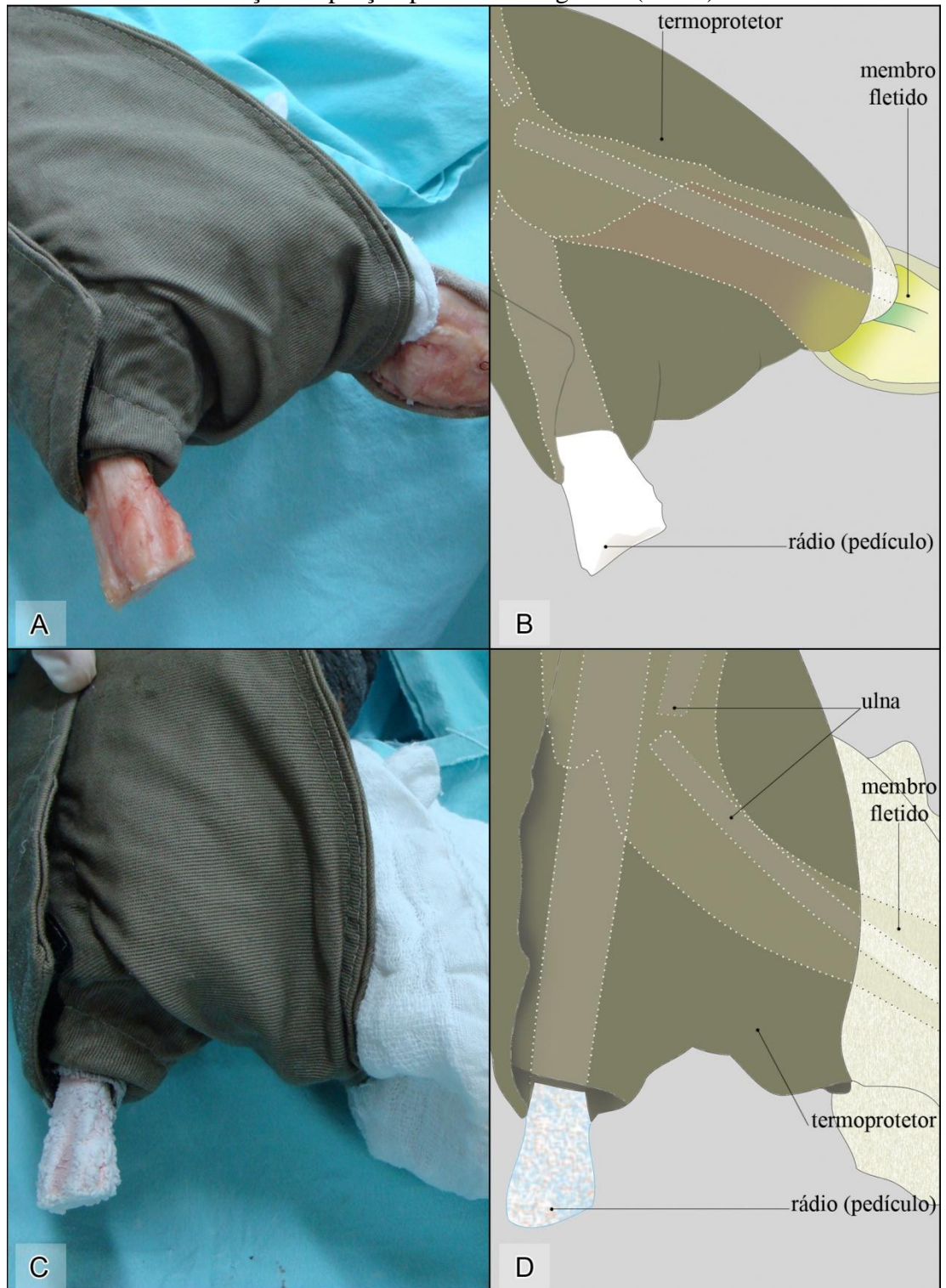
Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 8 – Membro torácico esquerdo de cadáver canino, aspecto cranial. Abertura da cápsula articular com maior exposição da articulação rádio-cárpica (A e B). Desarticulação entre o rádio e a ulna e desinserção ligamento interósseo e exposição do músculo pronador quadrado para formação do pedículo (C e D)



Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 9 – Membro torácico esquerdo de cadáver canino, após criação do pedículo, proteção dos tecidos moles com compressas e o termoprotetor e isolamento do rádio distal para posterior congelamento (A e B) Visualização da porção pedicular congelada (C e D)



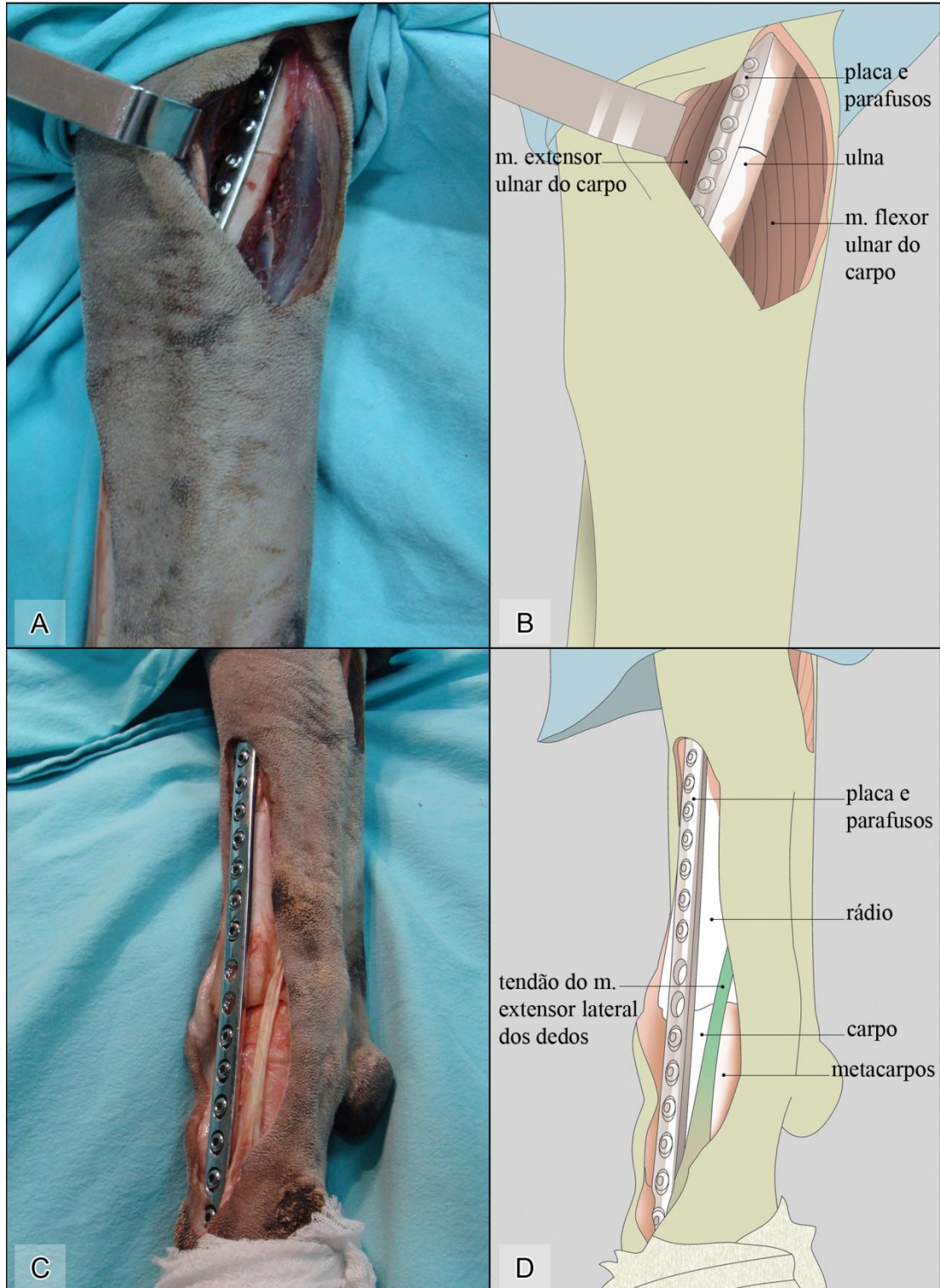
Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 10 - Posicionamento do paciente em decúbito esternal, sugerido para congelamento, em nitrogênio líquido, do rádio-ulna distal do membro torácico esquerdo. Observar o posicionamento do cirurgião e auxiliar lado a lado



Fonte: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 11 – Membro torácico esquerdo de cadáver canino. Osteossíntese com placa e parafusos da ulna (A e B). Artrodese pancarpal com placa e parafusos (C e D)



Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 12 – Membro torácico esquerdo de cadáver canino. Demonstração da sutura dérmica do acesso à ulna e do rádio (A e B)



Fonte foto: próprio autor, ilustração: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

4.2.2 Técnica pedicular em tíbia distal

Com animal em decúbito lateral com o membro a ser operado para cima e com a extremidade do membro protegida com malha tubular, foi realizado o acesso cranial iniciando na região médiadiafisária da tíbia e dorsalmente ao tarso e metatarsos (Figura 13).

Em seguida foi realizada a divulsão do subcutâneo e do arco venoso dorsal para posterior ligadura. Os músculos tibial cranial e extensor longo dos dedos foram localizados e dissecados (Figura 14) para posterior tenotomia do extensor longo dos dedos e preservação do tibial cranial. No aspecto lateral foi divulsionado o fibular longo para posterior tenotomia (Figura 15). Em seguida, ainda na face lateral, foi realizada a divulsão e tenotomia do extensor lateral dos dedos e a desarticulação da tíbia e fíbula através da abertura do retináculo extensor proximal, abertura da cápsula articular e consequente exposição da tíbia distal (Figura 16). As superfícies articulares foram desgastadas com o auxílio de goiva. Para melhor exposição da tíbia e fíbula distal foi feita divulsão cuidadosa do tendão calcâneo comum, criando assim o pedículo para o

congelamento. Realizou-se a proteção dos tecidos moles primeiramente com compressa umedecida em solução salina aquecida (Figura 17) e por cima o termoprotetor para o congelamento subsequente com o mesmo protocolo aplicado no grupo rádio-ulna descrito anteriormente (Figura 18).

Para imersão do pedículo no recipiente com nitrogênio o cirurgião e auxiliar ficaram do mesmo lado, um segurando o recipiente e o outro realizando a manobra de imersão, girando o membro para baixo através do manuseio do joelho pelo auxiliar. O decúbito do paciente também foi modificado para esternal viabilizando a imersão do pedículo (Figura 19).

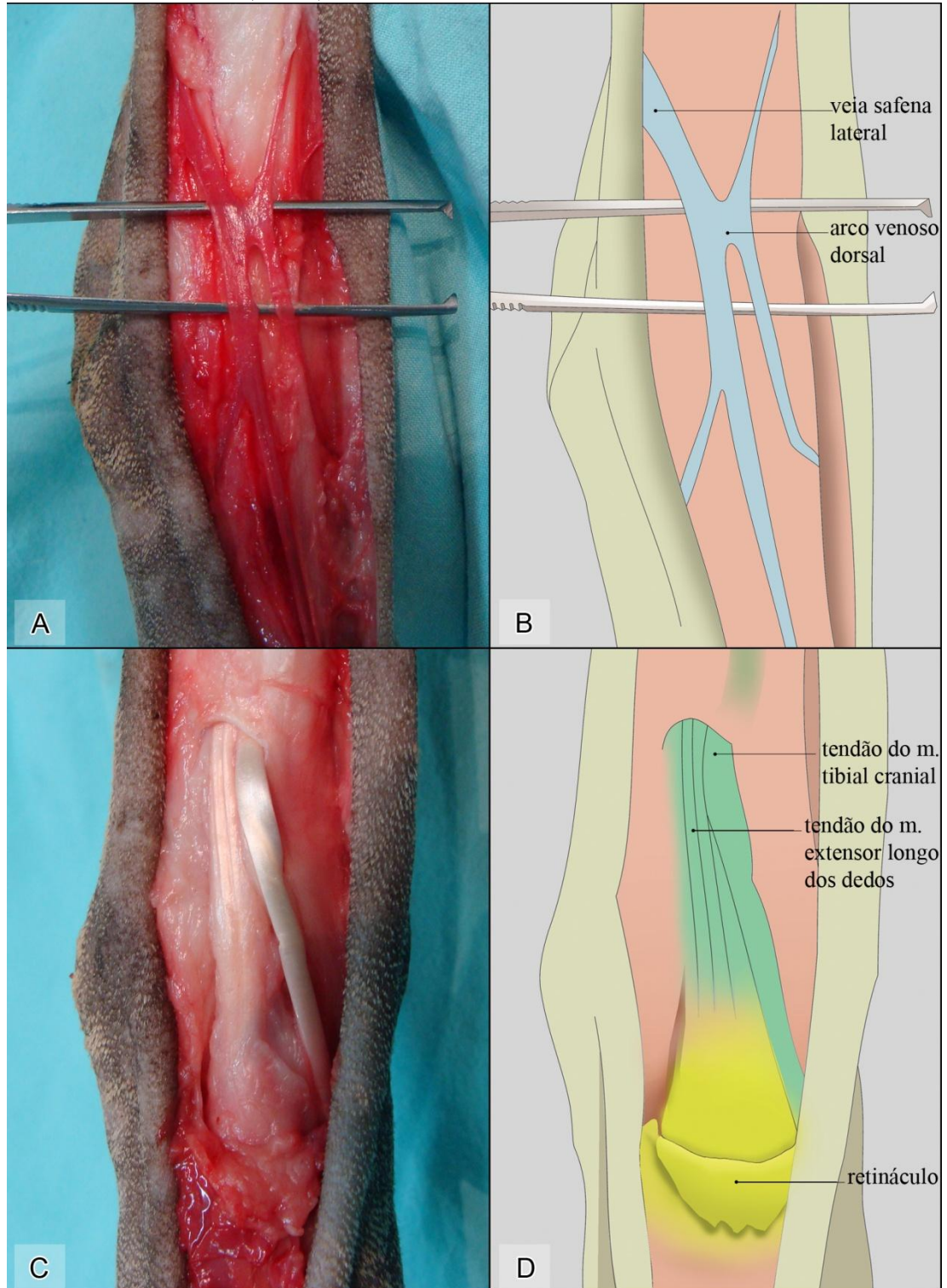
Após o ciclo de congelamento foi realizada a artrodese pantarsal por meio de placa de compressão dinâmica 3,5mm de 14 furos, retorcida com uma angulação de aproximadamente 130° (Figura 20). Após a aplicação do implante os tecidos foram suturados plano a plano em padrão sultan no subcutâneo e pontos isolados simples na pele com mononáilon 2-0 (Figura 21). Após o procedimento foram realizadas radiografias da região operada para observação do posicionamento do implante e aspecto ósseo.

Figura 13 – Membro pélvico direito de cadáver canino, preparado para cirurgia da técnica pedicular de tíbia. Extremidade do membro coberta com malha tubular (A e B). Incisão craniodorsal de acesso à tíbia, tarso e metatarsos (C e D)



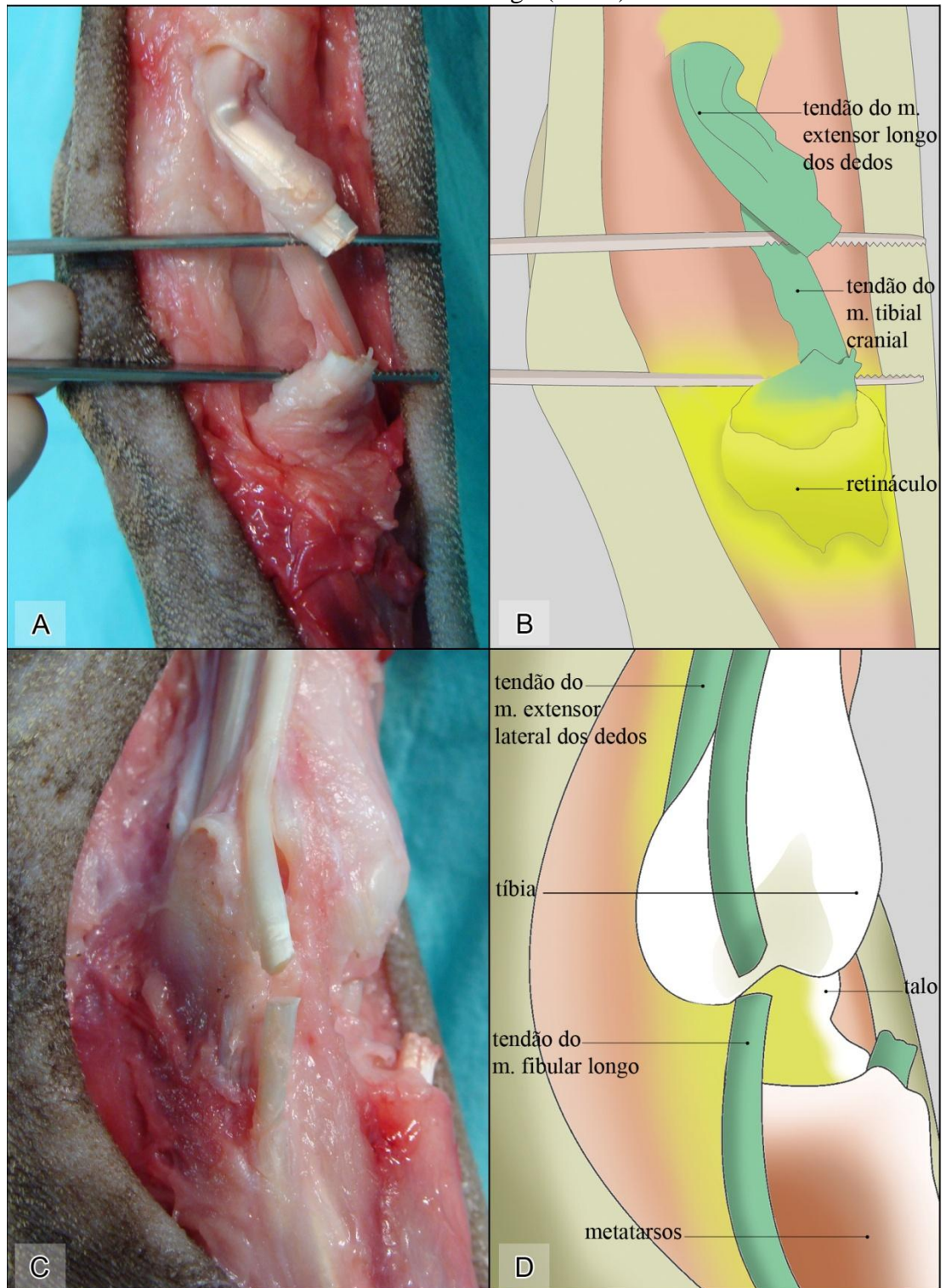
Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 14 – Membro pélvico direito de cadáver canino. Aspecto cranial mostrando disseção do arco venoso dorsal para posterior ligadura da veia safena (A e B). Após divulsão e abertura do retináculo extensor, visualização do tendão do músculo extensor longo dos dedos e do músculo tibial cranial (C e D)



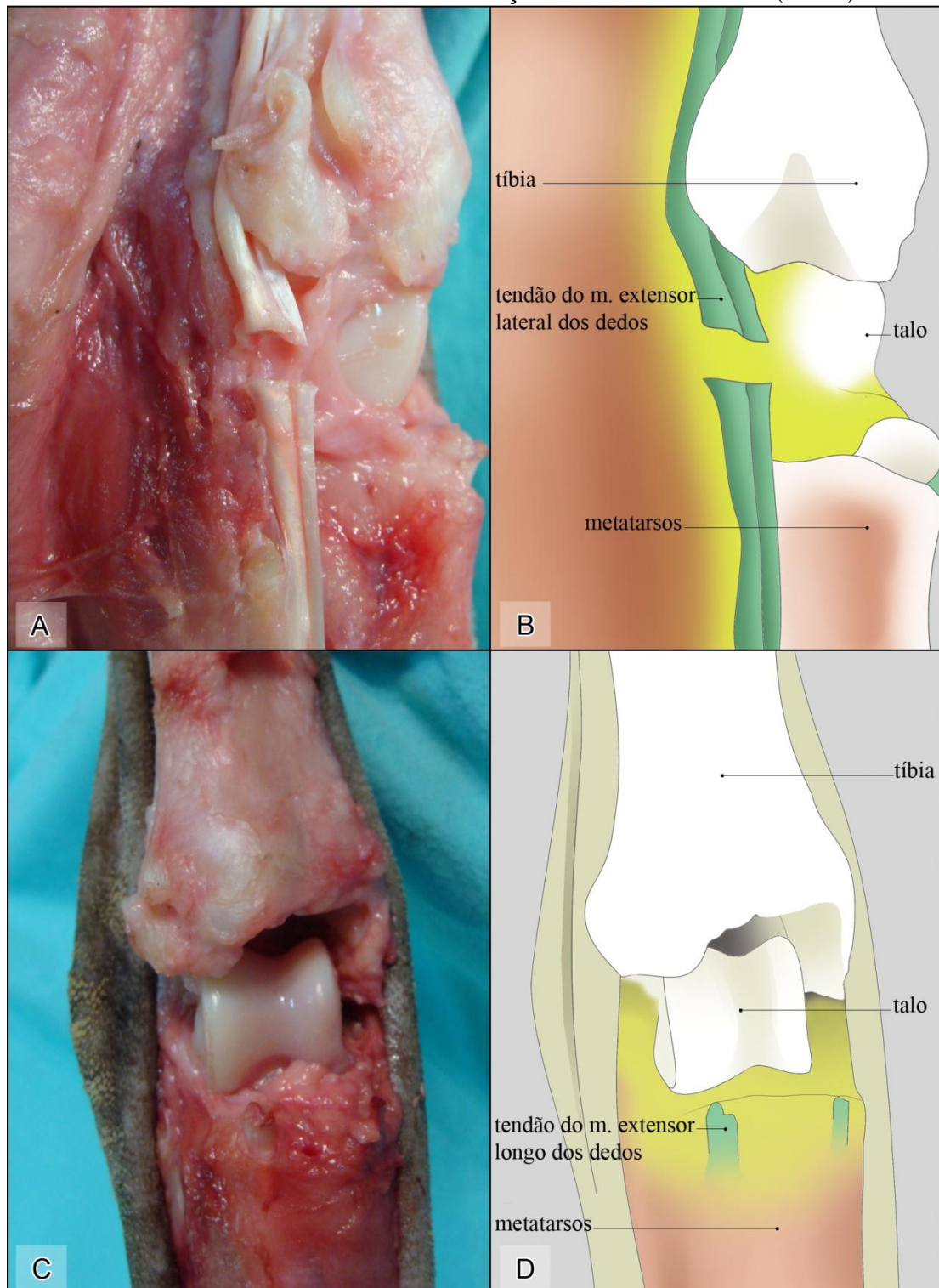
Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 15 – Membro pélvico direito de cadáver canino. Visualização da tenotomia do músculo extensor longo dos dedos e manutenção do tendão do músculo tibial cranial (A e B). No aspecto lateral visualização da tenotomia do músculo fibular longo (C e D)



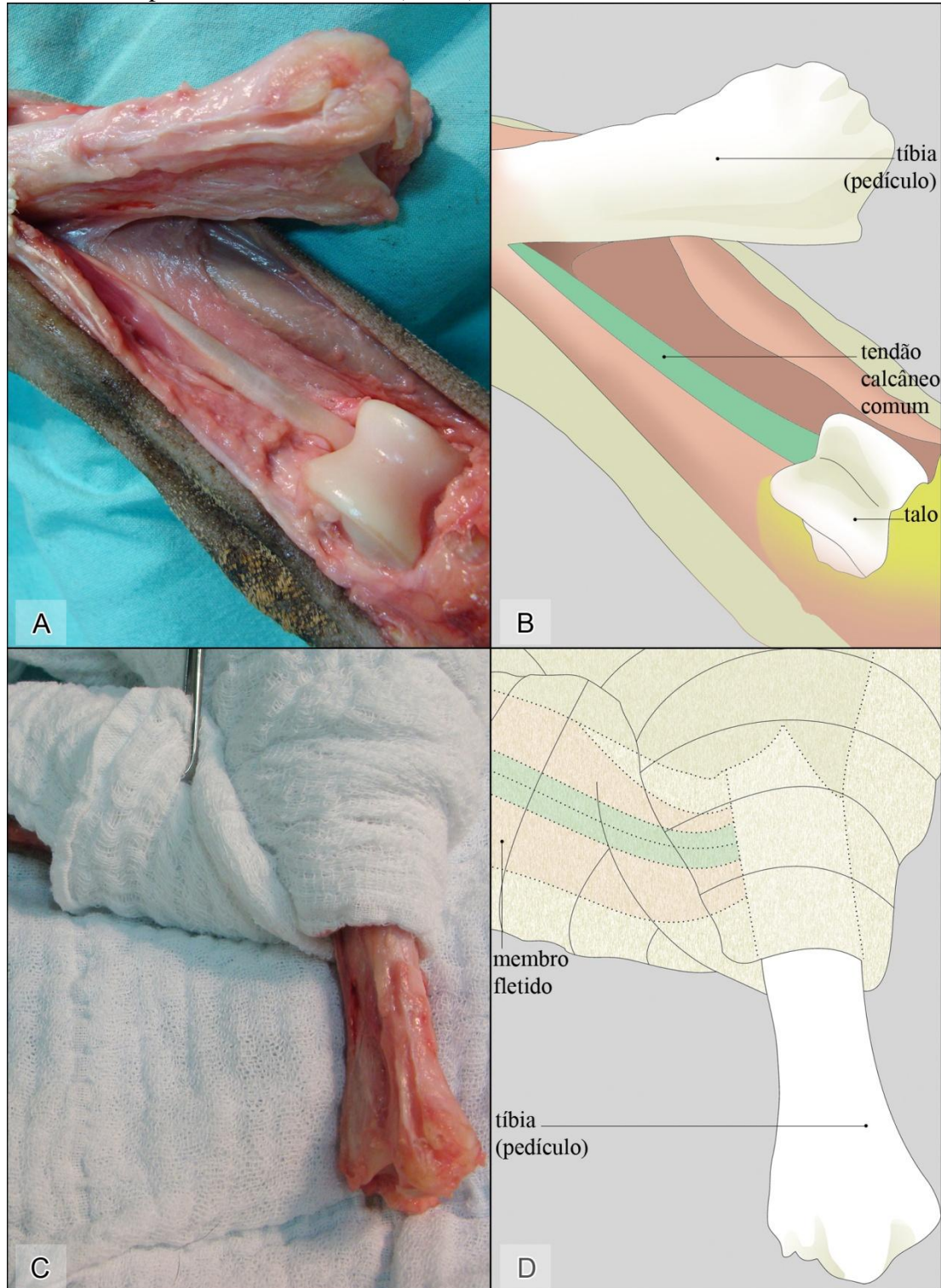
Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 16 – Membro pélvico direito de cadáver canino. Aspecto lateral visualização da tenotomia do músculo extensor lateral dos dedos (A e B). Aspecto cranial demonstrando desarticulação entre a tíbia e o talo (C e D)



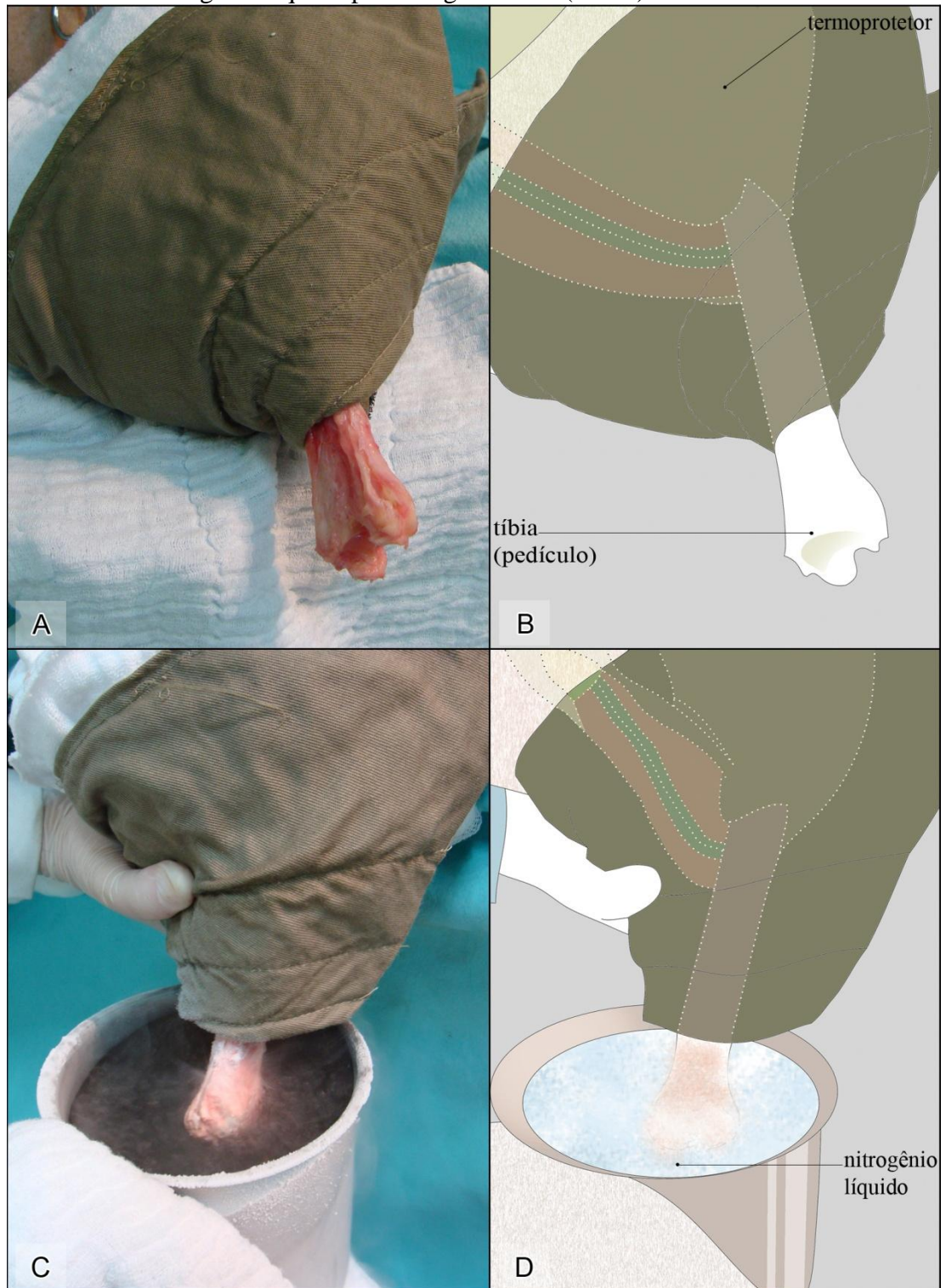
Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 17- Membro pélvico direito de cadáver canino. Visualização da desarticulação e divulsão da tíbia para formação do pedículo. Observe-se o tendão calcâneo comum íntegro (A e B). Visualização da primeira proteção aos tecidos moles com compressa e isolamento da porção pedicular a ser tratada (C e D)



Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 18 – Membro pélvico direito de cadáver canino. Visualização da proteção aos tecidos moles com termoprotetor e isolamento do pedículo para o congelamento (A e B). Visualização do pedículo submerso em nitrogênio líquido para congelamento (C e D)



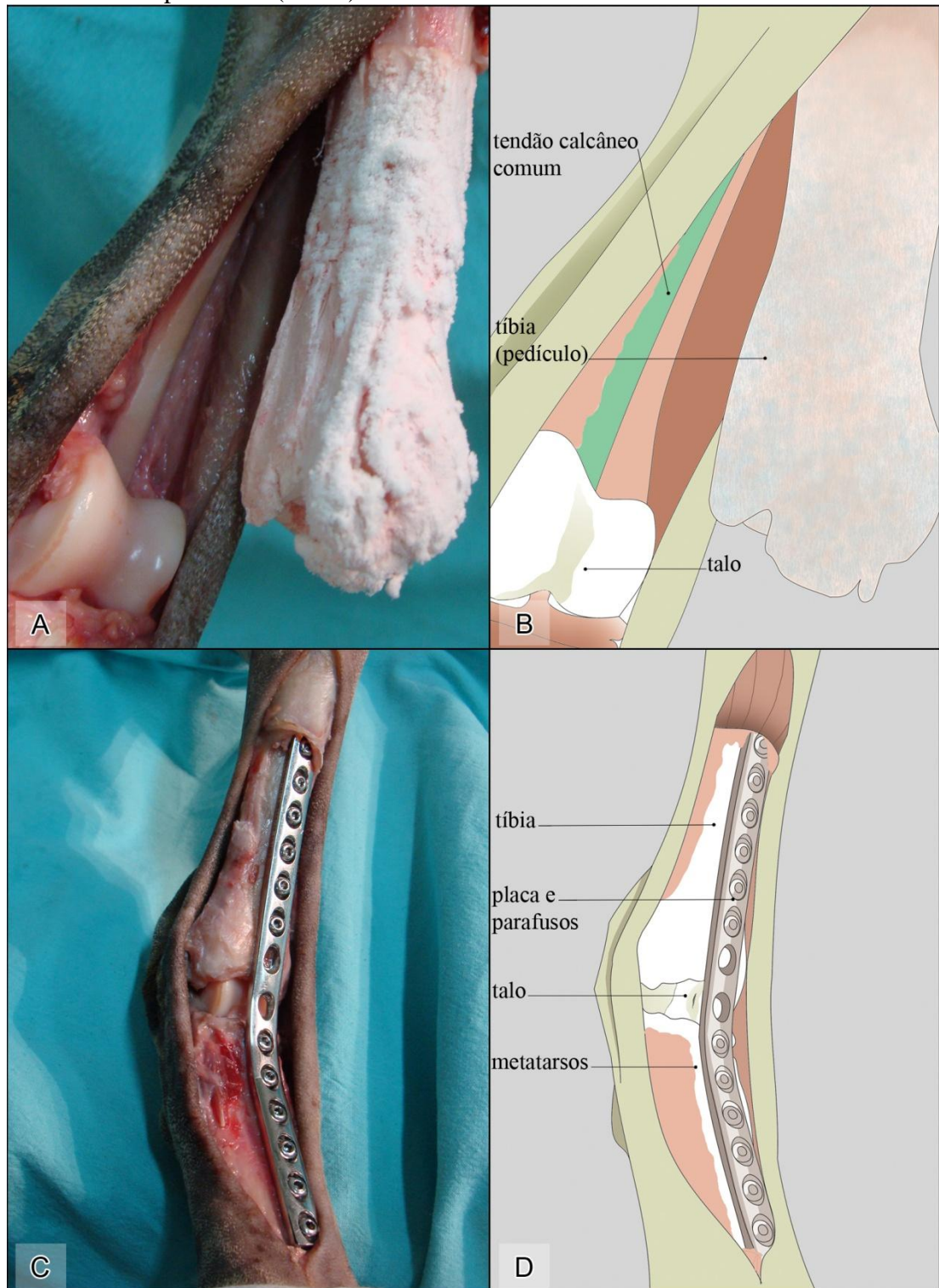
Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 19 - Posicionamento do paciente em decúbito esternal, sugerido para congelamento, em nitrogênio líquido, da tíbia distal do membro pélvico direito. Observar o posicionamento do cirurgião e auxiliar no mesmo lado.



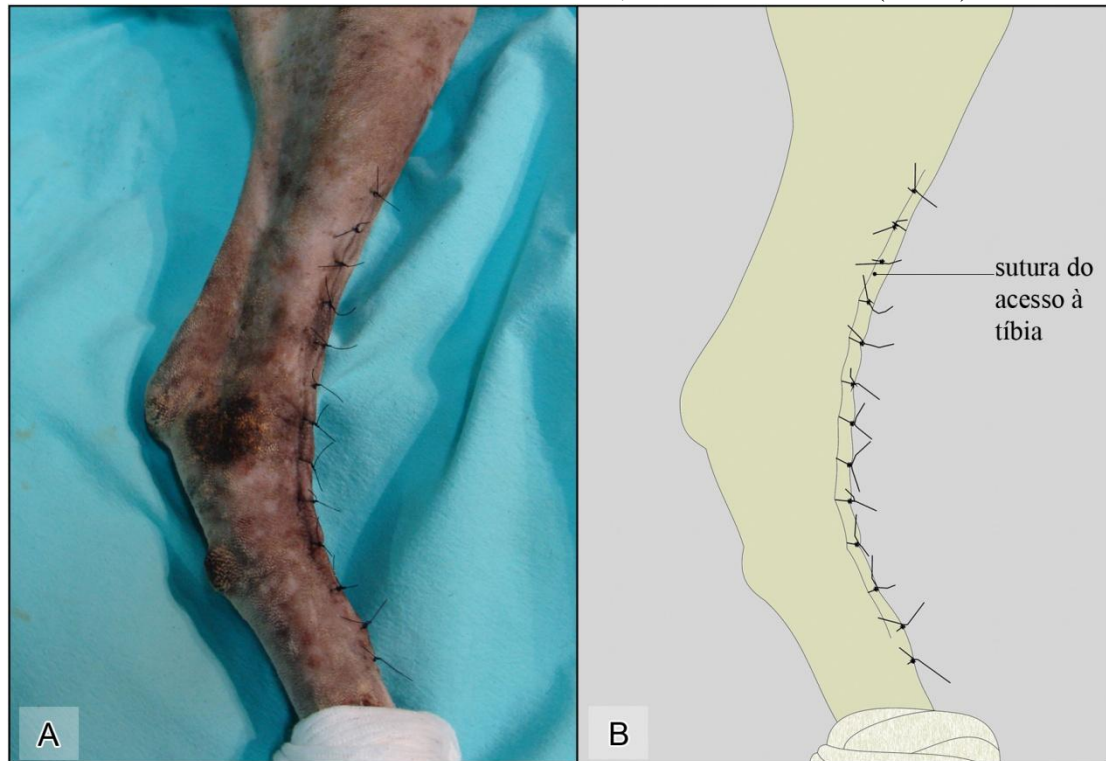
Fonte: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 20 – Membro pélvico direito de cadáver canino. Visualização do pedículo congelado e aspecto dos tecidos moles preservados (A e B). Visualização após descongelamento e artrodese pantarsal com placa e parafusos (C e D)



Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

Figura 21 – Membro pélvico direito de cadáver canino. Visualização da sutura dérmica do acesso realizado à tíbia, tarso e metatarsos (A e B).



Fonte fotos: próprio autor, ilustrações: Juliano Dalbem e Juliana Lichtler

4.3 Técnica de preservação do membro em pacientes

4.3.1 Considerações gerais

Na segunda etapa, os procedimentos foram realizados em pacientes da rotina do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS com diagnóstico de tumor ósseo apendicular.

A seleção dos animais neste projeto seguiram alguns critérios. Os pacientes foram avaliados clinicamente e através de exames de imagem, incluindo radiografias de tórax e membro acometido e ultrassonografia abdominal com intuito de verificar a presença de metástases em órgãos distantes ou em linfonodos. Era indicada a realização de tomografia computadorizada de tórax e do membro, para pesquisa de metástase e comprometimento ósseo respectivamente. Dependendo da avaliação clínica e dos exames de imagem era indicada a biopsia pré-operatória.

Após avaliação do paciente, o tutor era informado sobre todas as possibilidades terapêuticas disponíveis. Caso a opção escolhida fosse a preservação do membro e

quimioterapia adjuvante, ele era informado sobre o procedimento, pós-operatório, possíveis complicações, possibilidade de conversão cirúrgica para amputação e sobre acompanhamento clínico. Em seguida recebia para leitura o termo de consentimento informado (ANEXO B) e se não houvesse dúvidas assinava o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO C).

O paciente não era incluído no projeto caso fosse detectado metástase, se a lesão óssea no membro afetado fosse superior a 50% do total da coluna óssea, houvesse imagem compatível com fratura patológica ou qualquer alteração clínica que impedisse a cirurgia.

Os pacientes que não puderam ser incluídos para a preservação do membro, foram acompanhados da mesma forma e foram submetidos, em primeira opção, ao tratamento com a amputação e quimioterapia adjuvante, quando esse não era possível foi instituído tratamento paliativo com medicamentos analgésicos de forma contínua.

Todos os procedimentos clínicos e cirúrgicos foram realizados no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

4.3.2 Pacientes avaliados

No total foram avaliados 18 cães com diagnóstico de osteossarcoma. Destes, cinco pacientes foram tratados com a preservação do membro e quimioterapia adjuvante; seis foram tratados com amputação e quimioterapia adjuvante e sete foram tratados de maneira paliativa com analgésicos de uso contínuo. Formando assim três grupos distintos de pacientes.

Em relação ao perfil dos pacientes foram considerados: sexo, idade, peso, raça e se castrado ou não. O tempo de apresentação foi definido como o período de início dos sinais clínicos, relatado pelo tutor. E a sobrevida foi considerada como o período que compreende o diagnóstico do tumor até o óbito do paciente.

4.4 Pré-operatório

Para cada paciente foi feito um planejamento pré-operatório para a escolha da técnica cirúrgica mais adequada. Baseado nos resultados obtidos nos exames radiográficos e no tamanho do paciente foi mensurado o tamanho dos implantes metálicos e a margem cirúrgica a ser realizada.

Antes do procedimento cirúrgico os animais foram avaliados clinicamente. Além disso, foram realizados os seguintes exames pré-cirúrgicos: hemograma, plaquetas, ALT, fosfatase alcalina, ureia, creatinina e urinálise. Além dos exames de imagem já citados anteriormente. Os cães foram submetidos a jejum sólido de 12 horas e hídrico de quatro horas.

4.5 Procedimento anestésico

Cada paciente recebeu como medicação pré-anestésica (MPA) cloridrato de tramadol na dose de $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ou morfina na dose de $0,4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ por via intramuscular, a critério do anestesista. Após 15 minutos foi realizada venóclise e administração de propofol na dose de $2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, via intravenosa para realização da ampla tricotomia do membro a ser operado, procedimento executado na sala de pré-operatório. Após o animal era conduzido para dentro do bloco cirúrgico, onde era feita a indução anestésica com propofol ao efeito, seguida de intubação orotraqueal e manutenção em plano anestésico com isoflurano vaporizado em oxigênio 100%.

Para cirurgia no membro pélvico foi realizado bloqueio epidural com lidocaína ($2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) bupivacaína ($0,5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) e morfina ($0,1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Para o membro torácico foi realizado bloqueio de plexo braquial com lidocaína na dose ($8\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) e bupivacaína ($2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Adicionalmente, foi realizada infusão contínua no transoperatório de fentanil ($0,03\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$), lidocaína ($50\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) e cetamina ($10\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$).

Como profilaxia antimicrobiana foi administrado por via intravenosa $22\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de ampicilina sódica 30 minutos antes do procedimento cirúrgico, sendo repetida a cada 2 horas no transoperatório.

Durante o transoperatório, os pacientes foram monitorados pelo anestesista em relação à frequência cardíaca, frequência respiratória, pressão arterial, volume de fluido administrado e saturação de oxigênio, utilizando monitor multiparamétrico. Todos os valores foram anotados na ficha anestésica no transcorrer do procedimento, incluindo o horário de início e de final da cirurgia. Os animais foram assistidos até completa recuperação anestésica.

4.6 Procedimento cirúrgico

Após o paciente estar devidamente anestesiado, previamente à cirurgia foi realizada a sondagem vesical em sistema com bolsa coletora para monitoração do débito urinário e prevenção da contaminação do campo operatório. E com mesmo intuito foi feita sutura em bolsa de fumo em torno do ânus do animal. Com o paciente em decúbito lateral e com o membro a ser operado para cima foi realizada a antissepsia com álcool-iodo-álcool, colocação de malha tubular estéril na extremidade do membro e logo em seguida colocação dos panos de campo.

4.6.1 Acessos cirúrgicos e formação do pedículo

Após a incisão de pele, o subcutâneo foi divulsionado para exposição do osso tumoral e a observação de osso saudável, preservando a pseudocápsula do tumor. Os acessos cirúrgicos foram realizados conforme a localização do tumor no osso afetado e houve variação entre cada paciente. Tanto no acesso ao osso quanto na formação pedicular para o congelamento.

4.6.1.1 Fêmur distal

O acesso ao fêmur foi craniolateral, com incisão da fáscia lata e retração caudal do músculos bíceps femoral e cranial do músculo vasto lateral. Após exposição do fêmur, foi realizado osteotomia sob irrigação com solução fisiológica, da porção diafisária proximal, com 2 cm de margem, utilizando uma serra oscilatória pneumática. Em seguida os tecidos moles foram divulsionados e a porção distal do fêmur foi isolada, criando-se um pedículo que foi rotacionado para o recipiente contendo nitrogênio líquido, realizando assim o tratamento criogênico da porção tumoral.

4.6.1.2 Fêmur proximal

O acesso cirúrgico foi realizado na porção proximal do fêmur com intuito de expor a articulação coxofemoral. Foi removida a tumoração em nível dos tecidos moles e após realizado desarticulação da cabeça do fêmur do acetábulo. Foram incisados os

músculos glúteos superficial e médio e exposição da porção proximal formando assim o pedículo para congelamento. Não foi realizado qualquer osteotomia.

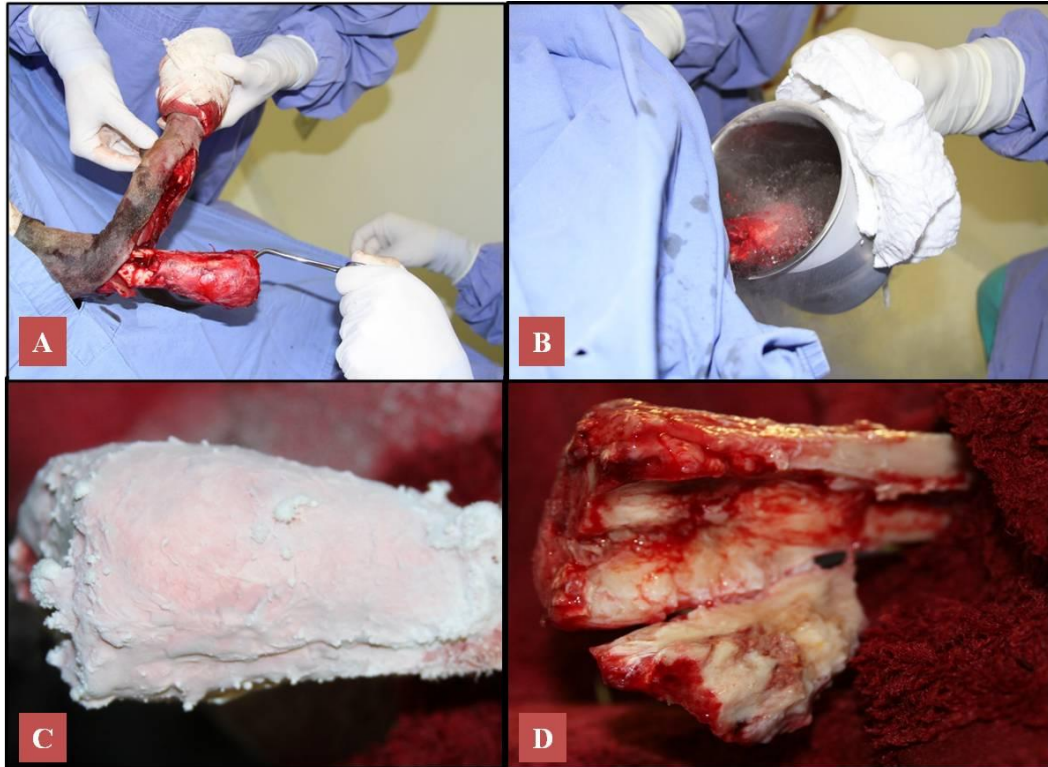
4.6.1.3 Rádio distal

Para o tratamento dos três tumores na região distal de rádio, foi realizado o acesso na face craniodorsal do rádio, carpo e metacarpos, divulsão dos tecidos moles para posterior desarticulação rádio-cárpica e formação do pedículo. Sendo que em um paciente foi possível a preservação da ulna na articulação através da técnica com osteotomia ulnar (descrita anteriormente).

4.6.2 Crioterapia

Após a osteotomia ou desarticulação (Figura 22 A), com a região tumoral isolada dos tecidos moles foi feita a curetagem do canal medular e após o membro do paciente foi rotado em direção ao recipiente contendo nitrogênio líquido (Figura 22 B), criando assim o autoenxerto pedicular congelado. O segmento neoplásico do osso afetado foi completamente submerso em nitrogênio líquido a -196°C . Os tecidos moles foram protegidos com compressas e panos de campo. O protocolo de desvitalização foi realizado conforme indicaram Tsuchiya *et al.* (2005), onde o pedículo permanece no nitrogênio líquido por 20 minutos, após em temperatura ambiente por 15 minutos e por fim em água destilada por mais 10 minutos (Figura 22 C/D).

Figura 22 – Paciente no transoperatório da técnica pedicular. Formação pedicular por meio da desarticulação rádio-carpica (A), imersão pedicular em um recipiente contendo o nitrogênio líquido (B), porção pedicular congelada (C) e descongelada apresentando fragmento ósseo destacado (D).



Fonte: o próprio autor

Após o procedimento de desvitalização, foi realizada a troca de todo o instrumental cirúrgico e panos de campo e, em seguida, foi realizada a osteossíntese utilizando placas e parafusos, sempre respeitando os princípios vigentes da cirurgia ortopédica. Nos casos em que houve lise óssea evidente foram utilizados cimento ósseo para preenchimento do canal medular e melhor fixação dos implantes (placa e parafusos). No paciente com tumor no fêmur proximal, foi feita a redução coxofemoral através da técnica em cavilha, sem aplicação de placa e parafusos.

A ferida cirúrgica foi lavada copiosamente com solução fisiológica. Suturas de aproximação da musculatura em padrão sultan, com mononáilon 2-0, subcutâneo em padrão contínuo simples, com mononáilon 2-0 e pele em padrão simples separado com mononáilon 3-0.

4.7 Pós-operatório

Após o procedimento cirúrgico todos os animais receberam como protocolo analgésico cetamina ($1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), a cada 12 horas, por dois dias, meloxicam na dose de $0,1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, via intramuscular, a cada 24 horas, durante três dias, tramadol na dose de $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, via subcutânea, a cada 8 horas, durante 10 dias, dipirona sódica $25\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, via intravenosa, a cada 8 horas durante 5 dias e antibioticoterapia com amoxicilina com clavulanato de potássio na dose de $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, via oral, a cada 12 horas durante 15 dias.

Imobilização de Robert Jones modificada foi colocada para conforto do paciente durante quatro semanas. O cão foi mantido em canil individual, recebendo ração comercial e água *ad libitum* no setor de internamento do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, durante o tempo necessário de recuperação.

4.8 Avaliação clínica

Os pacientes permaneceram internados na primeira semana de pós-operatório e foram examinados diariamente, verificando-se o seu estado geral, temperatura corporal, o aspecto da ferida cirúrgica quanto a presença de edema, inflamação e secreção, presença de dor e a deambulação em relação ao suporte de peso, apoio e marcha.

A função do membro foi baseada na classificação de Liptak *et al.* (2006), sendo considerada excelente quando a claudicação era ausente; boa quando apresentava claudicação apenas no trote e ausente na caminhada, e ruim quando a claudicação estava presente em qualquer nível de atividade ou não apoiava o membro.

4.9 Controle da dor

Todos os pacientes foram avaliados quanto a dor em todas as fases do tratamento, recebendo analgésicos opióides e anti-inflamatório não esteroideais. Cada caso foi avaliado e conforme a necessidade foram instituídos outros medicamentos para o alívio da dor. Com avaliações periódicas mensais para verificação da qualidade de vida, monitoramento de metástases ou outras afecções concomitantes.

4.10 Avaliação radiográfica

Foram realizadas radiografias do membro operado em incidências mediolateral e craniocaudal no pós-operatório imediato e mensalmente até o 6º mês e, após esse período, a cada três meses por toda a sobrevida do animal.

Através dos exames radiográficos foram avaliados: a estabilidade da placa, a migração dos parafusos, os sinais de consolidação na região de osteotomia, sinais de recidiva tumoral e grau de reabsorção ou proliferação óssea.

Exames radiográficos de tórax em três incidências foram realizados a cada três meses para controle de metástases.

4.11 Quimioterapia

Após 10 a 14 dias do procedimento cirúrgico, todos os pacientes realizaram quimioterapia. O protocolo foi escolhido para cada paciente especificamente conforme avaliação clínica e dos exames bioquímicos, eletrocardiográficos e de urina. Como primeira opção foi utilizado carboplatina na dose de $300\text{mg}/\text{m}^2$ a cada três semanas, por quatro sessões. Houve coleta de material para exames hematológicos, bioquímicos e urinálise para controle dos efeitos colaterais que pudessem ocorrer, dentre eles mielossupressão ou lesão renal. Para evitar episódios de êmese foi administrado ondansetrona ($0,1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), via intravenosa e prescrito ranitidina ($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), via subcutânea e ondansetrona ($0,1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) por mais dois dias.

4.12 Eutanásia

Foram avaliados todos os pacientes durante todo período de sobrevida através do exame físico e radiográfico. Quando diagnosticado metástases que gerasse alteração clínica relevante e manifestação do tutor em relação à perda de qualidade de vida foi discutido sobre eutanásia. Quando autorizada, foi realizada através de sedação primeiramente com opióide e acepromazina e anestesia geral com propofol e após cloreto de potássio endovenoso. Em seguida o animal foi encaminhado para a necropsia desde que houvesse autorização do tutor.

4.13 Necropsia

Nas necropsias realizadas foram inspecionados todos os órgãos e região óssea afetada caso necessário. Os locais de metástases foram descritos e analisados macro e microscopicamente, bem como os tecidos sem lesões aparentes.

4.14 Análise estatística

Foram digitados os dados no programa Excel e posteriormente exportados para o programa SPSS v. 18.0 para análise estatística. Foram descritas as variáveis categóricas por frequências e percentuais e comparados pelo teste Exato de Fisher. As variáveis quantitativas quando a sua distribuição foi simétrica foram descritas pela média e o desvio padrão e comparadas entre os grupos pela Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey e entre duas categorias pelo teste t de Student para amostras independentes. As variáveis quantitativas quando a sua distribuição foi assimétrica foram descritas pela mediana, mínimo e máximo e comparadas entre grupos pelo teste de Kruskal-Wallis e entre duas categorias pelo teste de Mann-Whitney. Para correlacionar variáveis quantitativas entre si foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Foi considerado um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Técnica de preservação do membro em cadáveres

A utilização de cadáveres descongelados mostrou-se viável, permitindo a aplicação da técnica cirúrgica pedicular em todos os cães. O peso dos cães variou de 15 a 45 kg (média de 27,6kg). Não houve alteração na cor, textura ou odor de qualquer cadáver que impedisse ou dificultasse os procedimentos.

O descongelamento 24 horas antes da cirurgia, através de imersão em água em temperatura ambiente, não foi totalmente eficiente, pois dois cães mais pesados (45kg) não tiveram descongelamento suficiente dos membros apresentando rigidez das articulações, prejudicando o horário de início dos procedimentos. O recongelamento e reutilização do cadáver não causou prejuízo ao procedimento, não havendo qualquer diferença nas características organolépticas dos mesmos.

Não houve qualquer complicação durante a manipulação do nitrogênio líquido, tanto nos cadáveres como nos pacientes hospitalares. Não foram verificadas fragilização, fissuras ou fraturas durante ou após a crioterapia.

Em todos os animais do grupo rádio-ulna houve dificuldade em relação à criação do pedículo, especialmente na etapa de separação do rádio em relação à ulna, durante desinserção do ligamento interósseo, especialmente no cão número 3, que apresentava espessamento da região entre o rádio e a ulna, fazendo com que o tempo cirúrgico para formação pedicular fosse prolongado (Figura 23).

Em relação às complicações, no primeiro cão do grupo rádio-ulna houve o congelamento dos tecidos moles, mesmo utilizando compressas para proteção. A partir desta complicação, surgiu a ideia de confeccionar o termoprotetor que foi utilizado nos cadáveres subsequentes. Nos quais não houve qualquer complicação em relação ao congelamento dos mesmos.

No cão de número 12 do grupo rádio-ulna a redução da osteotomia da ulna não ficou adequada, e a posição da placa dificultou o reposicionamento do rádio. A osteossíntese teve de ser refeita para o correto posicionamento da placa para que não ocorresse a interferência da mesma, na posição do rádio.

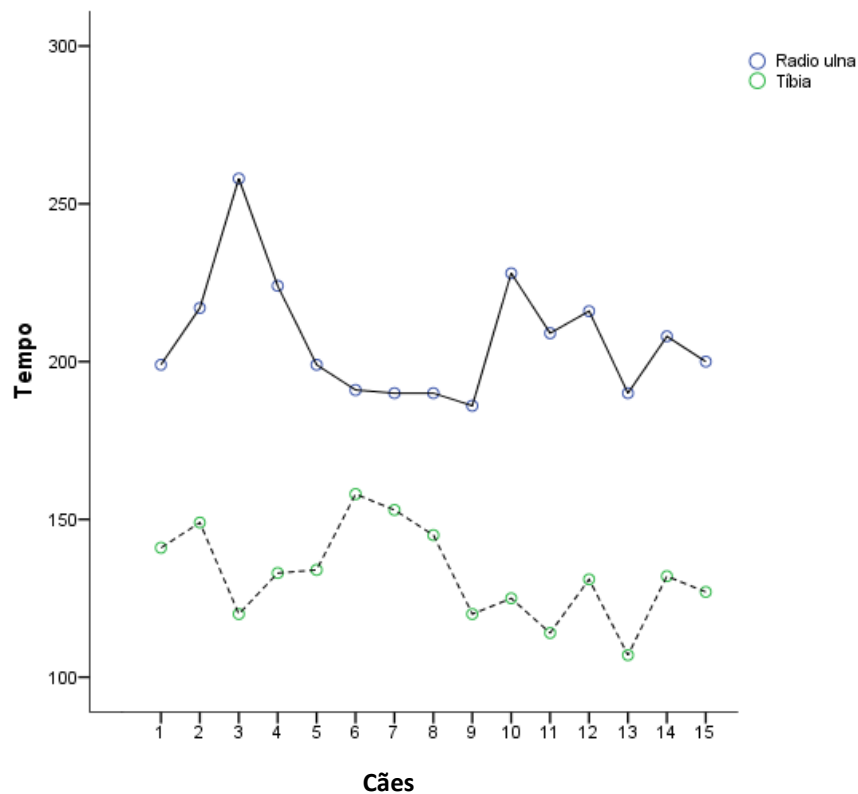
Uma dificuldade enfrentada foi a manobra de rotação do membro para o congelamento do pedículo e imersão no nitrogênio. Sendo que a mudança do decúbito

de lateral para esternal facilitou a manipulação do membro e conseqüentemente a imersão do pedículo no nitrogênio.

Não houve qualquer complicação na inserção dos parafusos. Não foi observado diferença de consistência na inserção dos parafusos na região óssea submetida ao congelamento.

A média de tempo cirúrgico do grupo rádio-ulna foi de 207 minutos e o seu desvio padrão de 19,4 minutos. A média de tempo cirúrgico do grupo tibia foi de 132,6 minutos e o seu desvio padrão de 14,6. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($P < 0,001$). A figura 23 representa o tempo do procedimento cirúrgico em cada cadáver, dos diferentes grupos.

Figura 23 - Representação gráfica dos tempos cirúrgicos em minutos nos cadáveres de cães, entre os grupos rádio-ulna e tibia



5.2 Perfil dos pacientes

Foram atendidos 18 cães com diagnóstico de osteossarcoma apendicular, que passaram por uma avaliação clínica para inclusão ou não no projeto de pesquisa. Destes foram incluídos para preservação do membro cinco pacientes (27,7%) (Tabela 1), por diferentes razões, dentre elas poliartrrose, obesidade e relutância do tutor em amputar. Dos 13 cães restantes, seis foram tratados com amputação e quimioterapia adjuvante e sete com tratamento paliativo.

Na tabela a seguir foram comparadas as características dos três grupos. Não houve diferença estatisticamente significativa para as características dos animais.

Tabela 1 – Perfil dos pacientes entre os diferentes grupos de tratamento: amputação e quimioterapia, paliativo e preservação e quimioterapia

Variáveis	Amputação + Quimio	Paliativo	Preservação + Quimio	P
Sexo (F) *	5 (83,3%)	4 (57,1%)	2 (40%)	0,413
Idade (anos)	7,3±3,5	9,3±2,4	9,0±2,4	0,447
Peso (kg)	38,2±14,8	39,9±7,6	39,2±8,6	0,961
Raça				0,540
Dálmata	-	-	1 (20%)	
Fila	2 (33,3%)	-	1 (20%)	
Labrador	-	1(14,3%)	-	
Mestiço	1 (16,7%)	-	1(20%)	
Dogue				
Rottweiler	2 (33,3%)	5 (71,4%)	2(40%)	
SRD	1 (16,7%)	1(14,3%)	-	
Castrado	1 (16,7%)	2 (28,6%)	1 (20%)	0,999

* Fêmea

5.3 Técnica de preservação do membro em pacientes

5.3.1 Procedimentos anestésico e cirúrgico

O protocolo anestésico preconizado foi eficiente e seguro para todos os pacientes, pois não houve intercorrência ao longo da cirurgia e os parâmetros avaliados mantiveram-se estáveis em todo o transoperatório. Os pacientes que foram submetidos à cirurgia no membro torácico, além do bloqueio local, receberam infusão contínua de analgésicos.

O tempo cirúrgico total variou de 223 a 300 minutos (média de 252,6). Sendo que os maiores tempos cirúrgicos foram os pacientes submetidos à preservação do membro pélvico com o fêmur acometido. Os outros três pacientes com o rádio distal acometido tiveram tempos cirúrgicos menores e semelhantes.

Todos os procedimentos cirúrgicos planejados foram factíveis. Nenhum procedimento necessitou conversão para amputação no transoperatório, em virtude de lesões iatrogênicas em estruturas vasculares ou neurais importantes.

Na manobra para imersão do pedículo para o congelamento houve certa dificuldade para posicionar o paciente adequadamente, sendo que a mudança para decúbito esternal ou inclinado facilitou a manobra. Em um cão houve congelamento dos tecidos moles, mesmo utilizando proteção com compressas e panos de campo.

O cimento ósseo foi utilizado em dois procedimentos (Tabela 1), na preservação do membro pélvico, tanto para região proximal do fêmur quanto para região distal, pela possibilidade de preencher o canal medular, fornecendo melhor estabilidade aos implantes, no caso do paciente do fêmur distal. Sendo que nos pacientes com tumor no rádio distal, devido à abordagem por desarticulação rádio-cárpica, não foi utilizado cimento ósseo.

Em quatro pacientes foi utilizado placa e parafusos (descritos na Tabela 1). Sendo que destes, em três foram realizados artrodese pancarpal e em um osteossíntese da osteotomia diafísária de fêmur. Para aplicação dos implantes, não houve maiores dificuldades ou complicações, sendo que o retorcimento da placa para ajuste ao fêmur foi um ponto que demandou maior tempo, pois o tumor alterou o formato ósseo. Não foram inseridos parafusos perto da região tratada, nos casos de preservação na região do rádio, pois a consistência óssea estava alterada em função do tumor.

Tabela 2 – Técnica cirúrgica e evolução dos pacientes do grupo preservação do membro e quimioterapia

Paciente	Local	Método	PMMA*	Técnica	Falha implante	Infecção	Crionecrose	Recidiva tumoral	Função membro	Sobrevida total (dias)
1	Fêmur	Osteotomia	Sim	DCP**	Não	Não	Não	Sim	Excelente	240
2	Fêmur	Desarticação	Sim	Cavilha	Sim	Sim	Não	Não	Boa	148
3	Rádio	Desarticação	Não	DCP (2)	Não	Sim	Não	Não	Excelente	165
4	Rádio	Desarticação	Não	LCDCP***	Sim	Não	Não	Não	Excelente	320
5	Rádio	Desarticação	Não	DCP	Não	Não	Sim	Não	Excelente	217

*PMMA: polimetilmetacrilato

**DCP: placa de compressão dinâmica

***LCDCP: placa de compressão dinâmica de baixo contato

5.3.2 Avaliação clínica no pós-operatório

Na primeira semana de pós-operatório em todos os pacientes ocorreram edema e hematoma. O paciente que sofreu o congelamento iatrogênico de tecidos moles no transoperatório, apresentou isquemia da ferida cirúrgica, que aumentou progressivamente durante a primeira semana e que culminou na exposição da placa no oitavo dia. Durante quatro semanas tentou-se o tratamento dos tecidos moles com curativos, dois procedimentos cirúrgicos de debridamento do tecido necrótico (Figura 24), mas sem sucesso. O paciente foi submetido à amputação do membro.

Figura 24 – Aspecto da ferida cirúrgica do paciente submetido à preservação do membro em que houve crionecrose, no pós-operatório imediato (A), após oito dias da cirurgia de preservação (B) e após debridamento do tecido necrótico (C)



A infecção foi complicação observada em dois pacientes na segunda semana de pós-operatório. Foi realizado cultura e antibiograma para o tratamento adequado, porém a infecção profunda dos tecidos não cedeu ao tratamento. Ambos foram submetidos à amputação do membro aos 60 e 75 dias após a tentativa de preservação.

No paciente com preservação do fêmur distal não houve complicações graves no pós-operatório imediato. Foi observado após a cirurgia halo hiperêmico na região proximal do membro, que não envolvia a ferida cirúrgica e que evoluiu para lesão de pele superficial que cicatrizou com tratamento por segunda intenção (Figura 25). O cão

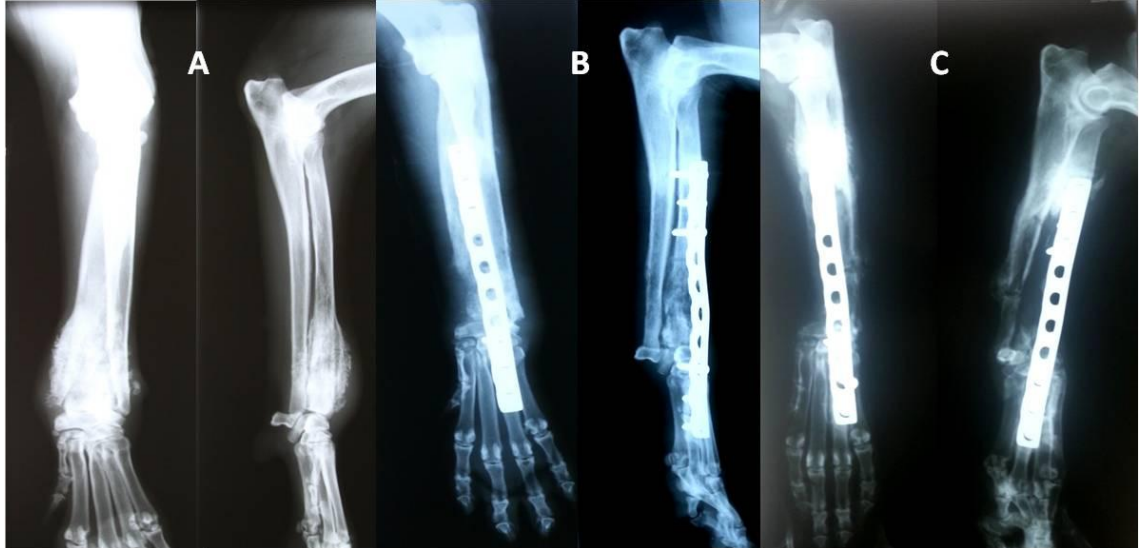
permaneceu com o membro preservado e funcional durante aproximadamente 180 dias. Após este período nas avaliações subseqüentes foi observado redução gradual no uso do membro, até impotência funcional e restrição de amplitude na articulação do joelho. Foi decidido em conjunto com tutor a amputação do membro, que foi para análise histopatológica e verificou-se recidiva tumoral.

Figura 25 – Avaliações no pós-operatório paciente submetido à preservação do fêmur distal. Segundo dia de pós-operatório com edema e hematoma do membro pélvico direito (A). No oitavo dia de pós-operatório: redução do edema e hematoma, e lesão de pele hiperêmica mais evidente (B). Aos 15 dias após a cirurgia sem os pontos de pele e lesão de pele (C). Após 40 dias com lesão cicatrizada



Em um paciente não houve qualquer complicação no pós-operatório imediato e em longo prazo, com manutenção do membro funcional durante toda a sobrevida do paciente, que foi de 320 dias, sem qualquer sinal de infecção ou recidiva tumoral. Porém, observou-se reabsorção óssea no rádio distal, que progrediu lentamente ao longo do acompanhamento (Figura 26), e conseqüente soltura parcial dos parafusos, mas que não gerou alteração no quadro clínico, em relação ao uso do membro.

Figura 26 – Imagem radiográfica do acompanhamento pós-operatório da técnica pedicular. Imagem radiográfica pré-operatória (A), após três meses do procedimento cirúrgico (B) e após seis meses do procedimento cirúrgico (C) em que observa-se a reabsorção óssea no rádio distal



Não foi observado isquemia da extremidade ou déficit neurológico do membro operado.

O controle da dor foi eficiente em todos os casos, pois os cães mantiveram-se ativos, alimentando-se bem e com uso do membro. No paciente em que houve a crionecrose com exposição da placa o protocolo analgésico foi mais prolongado em relação aos outros, devido à lesão extensa dos tecidos moles e em virtude da reintervenção para debridamento.

O tempo do início dos sinais clínicos até o diagnóstico foi considerado tempo de apresentação. A mediana do tempo de apresentação no grupo amputação e quimioterapia foi de 30 dias (mínimo de 21 e máximo de 120). No grupo paliativo a mediana foi de 30 dias (mínimo de oito e máximo de 60). O grupo preservação e quimioterapia teve uma mediana de 30 dias (mínimo de sete e máximo de 120). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($P=0,620$). Também foram correlacionados os tempos de apresentação com o tempo de sobrevida total dentro dos grupos e não houve diferença significativa nos três grupos.

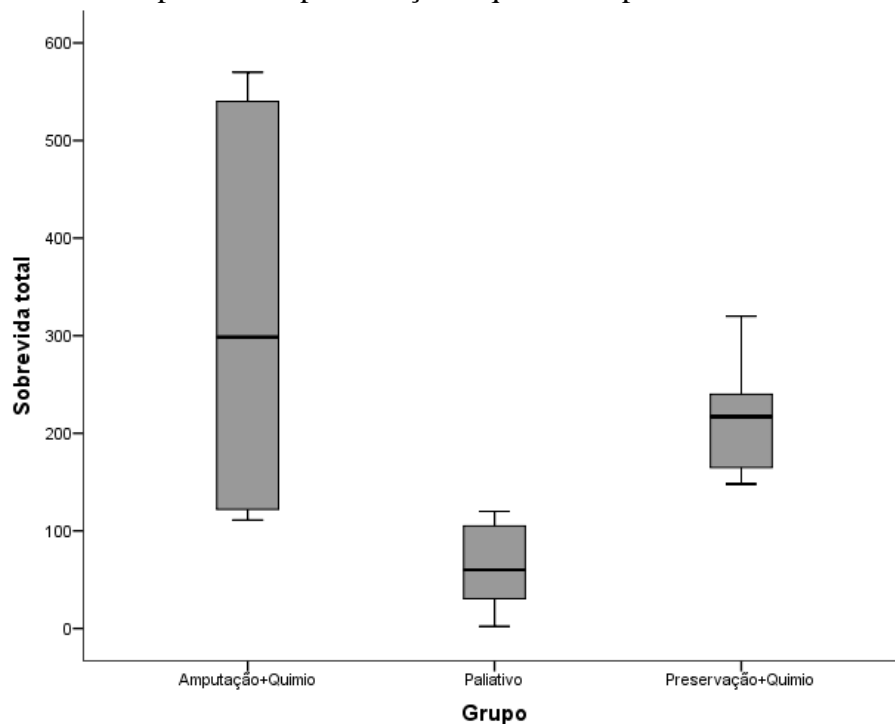
A mediana de fosfatase alcalina no grupo amputação e quimioterapia foi de 175,7 U.I./L (mínimo de 60 e máximo de 373,1). No grupo paliativo a mediana foi de 111,7 U.I./L (mínimo de 52,5 e máximo de 220,2). O grupo preservação e quimioterapia teve uma mediana de 63,3 U.I./L (mínimo de 45 e máximo de 133). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($P=0,087$). Os valores de

fosfatase alcalina foram correlacionados com o tempo de sobrevida total dentro dos grupos e não houve correlações significativas.

5.4 Sobrevida entre os grupos

A mediana de tempo de sobrevida no grupo amputação e quimioterapia foi de 298,5 dias (mínimo de 111 e máximo de 570). No grupo paliativo, a mediana foi de 60 dias (mínimo de 2 e máximo de 120). O grupo preservação e quimioterapia teve uma mediana de 217 dias (mínimo de 148 e máximo de 320). Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($P=0,004$). A diferença localizou-se entre os grupos amputação + quimioterapia e paliativo ($P=0,013$) e preservação + quimioterapia e paliativo ($P=0,034$). Sendo que entre os grupos amputação + quimioterapia e preservação + quimioterapia não houve diferença estatisticamente significativa (Figura 27).

Figura 27 - Representação gráfica demonstrando o comparativo do tempo de sobrevida entre os diferentes grupos conforme o tratamento estabelecido: amputação e quimioterapia, paliativo e preservação e quimioterapia



Na tabela a seguir foram descritos as causas de óbitos e local das metástases observados na necropsia dos pacientes que foram tratados com preservação do membro e quimioterapia.

Tabela 3 – Causa do óbito dos pacientes submetidos à técnica de preservação do membro e quimioterapia

Paciente	Eutanásia	Metástases	Locais
1	Sim	Sim	Pulmões, coração, baço e rins
2	Sim	Sim	Pulmões e pelve
3	Sim	Sim	Pulmões e rins
4	Sim	Sim	Pulmões e cérebro
5	Não	Não definido	Não definido

6 DISCUSSÃO

A curva de aprendizado é estabelecida através de treinamento repetido de técnica cirúrgica, o que possibilita familiaridade com as estruturas anatômicas, melhor destreza e agilidade no procedimento, culminando com resultados mais satisfatórios em um menor tempo cirúrgico (MELO, 2004). Por ser uma técnica complexa e delicada, a realização da mesma previamente em cadáveres tornou-se importante para que o cirurgião desenvolvesse habilidades básicas, simulando as manobras que seriam realizadas nos pacientes da rotina.

A utilização de cadáveres descongelados mostrou-se viável, mesmo não utilizando nenhum tipo de substância para conservar os tecidos, permitindo a aplicação da técnica cirúrgica pedicular em todos os cães, obtendo-se treinamento e possibilitando a descrição da técnica. Mesmo utilizando o mesmo animal para dois procedimentos cirúrgicos em momentos distintos, o aspecto dos tecidos, odor e consistência não sofreram alterações significativas. Demonstrando que para utilização de técnicas cirúrgicas nos membros apendiculares é possível a utilização repetida de cadáveres sem prejuízo, diferentemente se a proposta do estudo fosse em cirurgias na cavidade abdominal, em que a preservação química torna-se indispensável, como observado nos trabalhos realizados por Scherer (2009) e Menezes (2012).

Os osteossarcomas em cães e humanos possuem características histológicas e biológicas em comum (RANKIN, 2012). Devido a essas semelhanças e a alta ocorrência do tumor, o cão torna-se modelo adequado para estudos sobre osteossarcoma em humanos (MORELLO *et al.*, 2011). As técnicas de preservação do membro devido a tumores ósseos em humanos está muito avançada e apresenta resultados bastante satisfatórios, portanto, justifica-se plenamente a sua extrapolação para a preservação do membro em cães.

A maioria dos tumores ósseos primários ocorrem em regiões metafisárias dos ossos longos e a preservação nestes casos geralmente necessita de artrodese da articulação adjacente (DERNELL *et al.*, 2001). Para atender a maioria desses casos, idealizou-se avaliar a técnica pedicular, utilizando como referência a técnica descrita por Tsuchiya *et al.* (2005) e Torigoe *et al.* (2012). A escolha da tíbia e rádio distal foi devida a maior ocorrência de neoplasia nessas regiões e em função da artrodese nestas regiões serem bem toleradas pelos cães, especialmente a pancarpal.

O perfil dos pacientes atendidos, na maioria, foram os clássicos citados na literatura (SAAM *et al.*, 2011), ou seja, raças de grande porte, adultos de meia idade, com peso corporal acima de 30kg, localização do tumor primário e histórico de claudicação. Exceto em um cão, de porte médio e jovem, no qual foi realizada a amputação e quimioterapia. Mesmo com esse tratamento, a evolução clínica foi agravada pela ocorrência de metástases precocemente, demonstrando a agressividade da doença neste paciente e corroborando com Spodnick *et al.* (1992) que afirmaram que cães jovens com OSA parecem apresentar a doença biologicamente mais agressiva e um tempo de sobrevida mais curto.

A presença de sinais clínicos iniciais relacionados a traumatismo foi observado por Rech *et al.* (2004) em um estudo com crianças e adolescentes com osteossarcoma. Os autores consideram um alerta para o pediatra no sentido de considerar a hipótese de neoplasia em crianças e adolescentes com sintomas persistentes de dor óssea associada a trauma, não retardando excessivamente a investigação radiológica. Esta questão também deve ser observada nos pacientes veterinários, pois muitos pacientes deste estudo chegaram com o quadro avançado devido a não investigação radiográfica imediata e a tentativa de tratamento clínico visando à questão do trauma relatado pelo tutor.

O planejamento pré-operatório é fundamental para evolução satisfatória do paciente. Exames de imagem são importantes para determinar a extensão do envolvimento tumoral e delimitar as margens cirúrgicas. O exame radiográfico superestima a extensão da lesão, sendo um bom indicador para realização da margem cirúrgica em nível ósseo (LIPTAK *et al.*, 2004). Por outro lado, o envolvimento nos tecidos moles não pode ser avaliado com essa técnica, sendo que a ressonância magnética é um indicador mais sensível (LIPTAK *et al.*, 2005) e que aumenta a acurácia na avaliação da extensão tumoral nos pacientes, melhorando a seleção dos cães para preservação e minimizando as complicações pós-operatórias.

Para a avaliação pré-operatória mais completa, em dois pacientes foi realizado tomografia computadorizada, para avaliar a extensão da lesão óssea no membro e presença de metástase pulmonar. Nos outros pacientes não foi possível a realização do exame pelos mesmos motivos citados por Hodge *et al.* (2011), ou seja, custo adicional, necessidade de anestesia e pelo fato do exame ter que ser feito em outro local.

Segundo Ehrhart *et al.* (2013), o diagnóstico definitivo de tumor ósseo é através da análise histopatológica de biopsia pré-operatória. Entretanto, Liptak *et al.* (2005)

recomendaram biopsia pré-operatória somente em casos em que o histórico, sinais clínicos e a localização tumoral não são típicos de tumor ósseo primário. Em dois pacientes do estudo não foi realizada biopsia pré-operatória, pois o histórico, sinais clínicos e imagem radiográfica eram característicos de tumor ósseo primário fato que foi confirmado no pós-operatório. Dentre as vantagens dessa abordagem são a ausência de complicações no trato de biopsia e a precocidade do tratamento definitivo. Nos pacientes que foram submetidos à biopsia óssea, na cirurgia definitiva foi removido o trato biopsiado, como preconizam Hodge *et al.* (2011), minimizando complicações futuras. Ferrigno (2011) em seu estudo com preservação de membro através de autoclavagem realizou a análise histopatológica posterior a cirurgia e em todos os animais, obteve o diagnóstico de osteossarcoma.

A cirurgia de preservação do membro tem se tornado amplamente aceita e utilizada no tratamento de cães com osteossarcoma (LIPTAK *et al.*, 2004). Para a realização da técnica de preservação do membro, é indispensável que haja atuação multidisciplinar com profissionais da área de oncologia, ortopedia, radiologia e patologia. Além disso, tem papel fundamental o tutor dedicado, o paciente tratável e a cooperação entre cirurgião, tutor e oncologista (BURACCO *et al.*, 2002). O fato do presente estudo ter sido desenvolvido em hospital escola permitiu a realização dos procedimentos com maior facilidade e com adequado suporte em todas as etapas de avaliação, propiciando um acompanhamento satisfatório de cada caso e resolução multidisciplinar das complicações enfrentadas.

A maioria das técnicas de preservação realizadas são limitadas pelo treinamento cirúrgico (osteogênese por distração e autoenxerto vascularizado), acesso a equipamentos especializados (irradiação de autoenxerto) e disponibilidade e manutenção de banco de ossos (BURACCO *et al.*, 2002; LIPTAK *et al.*, 2006). Estas dificuldades e limitações influenciaram a escolha pelo método de criocirurgia com nitrogênio líquido, pois este não exige equipamentos específicos e o custo é reduzido, além de haver relatos bem sucedidos da preservação de membros neoplásicos com nitrogênio líquido em humanos (TSUCHIYA *et al.*, 2005; TSUCHIYA *et al.*, 2010; TORIGOE *et al.*, 2012).

Dentre as indicações da técnica de preservação do membro estão afecções neurológica ou ortopédica importantes, obesidade ou situações em que o tutor seja refratário a ideia de amputação (ZILIOTTO, 2003; FERRIGNO, 2011). A relutância por parte do tutor foi o principal motivo da preservação do membro nos pacientes deste

estudo, fato também referido por Liptak *et al.* (2004). É importante salientar que estes tutores relutantes à ideia de amputação eram informados sobre a possibilidade de amputação durante o transoperatório ou pós-operatório caso alguma complicação ocorresse. Esta abordagem é de suma importância quando se opta pela preservação do membro utilizando nitrogênio líquido, especialmente por ser uma técnica em desenvolvimento e ainda não aplicada rotineiramente em cães.

Em relação aos princípios da cirurgia oncológica preconiza-se entre as etapas de exérese tumoral e reconstrução, a lavagem copiosa, troca de luvas, instrumental e panos de campo para minimizar as chances de disseminação tumoral; além de evitar fios multifilamentares, porque as células podem ficar retidas entre as fibras do material aumentando o risco de recidiva (LIPTAK, 2009). Todas essas precauções foram tomadas nas cirurgias, após o congelamento tumoral e previamente à osteossíntese.

Dentre as vantagens do uso de autoenxerto ósseo estão: a pronta disponibilidade, não necessitando a manutenção de banco de ossos, a perfeita coaptação das interfaces e sem a possibilidade de transmissão de doenças. Porém, sua utilização não é recomendada quando o padrão do tumor for severamente lítico (BOSTON *et al.*, 2007) fato que foi considerado na seleção dos pacientes deste estudo com intuito de minimizar possíveis complicações pós-operatórias como fragilização óssea e fratura após o tratamento (BOSTON *et al.*, 2007).

A preservação do membro em casos de osteossarcoma na região distal do fêmur tem sido desencorajada devido às altas taxas de complicação neste local, pela artrodese não ser bem tolerada e pelas próteses de joelho não estarem prontamente disponíveis em nosso meio (DERNELL *et al.*, 2001), no entanto, a técnica pedicular com um ponto de osteotomia foi viável, possibilitando ao paciente função satisfatória do membro, sem prejuízo dos movimentos da articulação do joelho por período de aproximadamente seis meses.

O osteossarcoma na região de fêmur proximal é menos frequente (4,6%) (DERNELL *et al.*, 2001; ENDICOTT, 2003). Como opções para preservação nesta região estão a substituição osteoarticular com enxerto alógeno, endoprótese ou a combinação de ambas, como relataram Liptak *et al.* (2005). Para esses autores um fator importante é a reconstrução dos tecidos moles para preservar a biomecânica da articulação do quadril, entretanto, mesmo assim podem ocorrer complicações pós-cirúrgicas como falha do implante, não-união do aloenxerto e recidiva local. No presente estudo foi realizada a tentativa de preservação da região do fêmur proximal

através da formação pedicular por desarticulação. Porém, fatores relacionados ao volume do tumor e a necessidade de ampla ressecção dos tecidos influenciaram nas complicações pós-operatórias observadas neste caso, que resultaram em infecção dos tecidos moles.

A desvitalização extracorpórea utilizando o calor, através da autoclavagem, exige aparelhagem específica, controle rigoroso da temperatura e pode fragilizar o fragmento ósseo após a esterilização, fatos observados por Rocha *et al.* (2013), quando realizaram as técnicas de desvitalização extracorpórea por calor (autoclavagem) em um cão e por congelamento com nitrogênio líquido em outro. Os autores observaram maior desgaste ósseo no fragmento tratado pelo calor e evolução clínica com pobre função do membro, infecção e sequestro do enxerto. Os pacientes tratados com congelamento no presente estudo, mantiveram a estrutura óssea íntegra, sem fragilização excessiva da porção tumoral, ocorrendo em um caso o destacamento de uma porção da cortical do rádio devido à lise tumoral naquele ponto, mas o restante do pedículo manteve-se íntegro.

A complicação de crionecrose dos tecidos moles foi observada em um paciente devido às baixas temperaturas que o nitrogênio líquido pode alcançar, que por condução através do osso atingiu os tecidos moles, mesmo utilizando compressas e panos de campo como recomendam Tsuchiya *et al.* (2010). Devido à falta de dispositivos de proteção dos tecidos moles descritos na literatura, foi desenvolvido um protetor térmico em formato de cone confeccionado de tecido duplo e com lâminas de papel alumínio em seu interior. Este protetor foi testado nos cadáveres, adicionando compressas umedecidas com solução fisiológica aquecida e em nenhum deles houve congelamento ou resfriamento excessivo dos tecidos moles. No entanto, sugere-se estudos complementares como avaliação termográfica para comprovar sua eficácia.

A avaliação clínica foi realizada de forma subjetiva, conforme o grau de claudicação apresentado pelo paciente, dependendo da duração do apoio de peso do membro operado conforme citaram Liptak *et al.* (2004). Em muitos estudos realizados, a função do membro na maioria dos cães foi considerada de boa a excelente (LIPTAK *et al.*, 2004; LIPTAK *et al.*, 2006; HODGE *et al.*, 2011). Apesar das complicações enfrentadas, a função do membro manteve-se adequada durante todo período de avaliação, bem como citaram Liptak *et al.* (2006) em que a associação entre o uso do membro e infecção, falha do implante ou recidiva local não foram identificadas.

Dentre os tipos de preservação, descritos por Tsuchiya *et al.* (2005) estão tipo 1, tipo 2, tipo 3. Sendo que o tipo 1 e 2 envolve a excisão da porção tumoral e posterior tratamento e o tipo 3 consiste em criar uma porção pedicular para tratamento do tumor sem remoção óssea em bloco. Esta última técnica pode ser realizada tanto com osteotomia quanto com desarticulação. Comparativamente, a técnica pedicular possui vantagens em relação à técnica excisional, dentre elas a manutenção da continuidade da articulação em casos selecionados e a diminuição dos locais de osteotomia. Porém, a técnica possui algumas desvantagens que são a ampla divulsão dos tecidos moles e o maior grau de dificuldade para realizar a manobra de rotação do membro para o interior do recipiente de congelamento (TSUCHIYA *et al.*, 2010; TORIGOE *et al.*, 2012) fatores que foram observados neste trabalho.

A dissecação da área tumoral é uma etapa importante e que exige atenção, especialmente na divulsão e não invasão da pseudo-cápsula tumoral, manobra de difícil realização na região rádio-cárpica (FERRIGNO, 2011). Esta dificuldade também foi observada neste estudo, especialmente no caso em que o tumor era volumoso e foi preciso divulsão extensa para a obtenção de margem de segurança adequada.

Dentre os implantes recomendados para a preservação do membro estão as placas e parafusos, que podem ser placas de compressão dinâmica, placas de baixo contato, placas bloqueadas e placas para *limb sparing* (HODGE *et al.*, 2011). Em 80% dos pacientes do estudo os implantes de escolha foram as placas e parafusos, que proporcionaram estabilidade suficiente para que os pacientes tivessem retorno funcional precoce do membro operado. Sendo que em um desses pacientes, foi adicionado cimento ósseo no canal medular, conferindo maior estabilidade aos implantes como recomendam Liptak *et al.* (2004).

As complicações pós-operatórias mais frequentes da técnica de preservação do membro são infecção, falha do implante e recidiva tumoral. Sendo que a infecção é a complicação mais frequente não relacionada ao tumor (BURACCO *et al.*, 2002). Nos pacientes do estudo, como complicação principal, foram observados dois casos de infecção (40%), fato também relatado por Hodge *et al.* (2011), que encontraram infecção em 62,5% dos cães operados com a técnica de transposição de autoenxerto ulnar. A provável causa do alto índice de infecção encontrada se deve a ressecção extensa dos tecidos moles e danos vasculares, implantação de osso não vascularizado e implantes metálicos, tempo cirúrgico prolongado, pobre cobertura de tecidos moles e quimioterapia. Apesar da infecção poder se manifestar após seis meses ou mais da

cirurgia, nos casos acompanhados a infecção foi detectada mais precocemente, na segunda semana de pós-operatório, o que sugere um quadro agudo e possivelmente devido à conjugação dos fatores acima citados.

A falha dos implantes é a segunda complicação mais frequente não relacionada ao tumor, na preservação do membro. As causas podem ser infecção não controlada que cause instabilidade dos implantes ou tardiamente por ressecção superior a 50% do comprimento ósseo ou substituição com enxerto ósseo longo, causando problemas técnicos como insuficiente número de parafusos proximais ou distais dependendo da localização do tumor, ou ainda a atividade excessiva do paciente (BURACCO *et al.*, 2002). Nos pacientes em que se utilizou placa e parafusos, foi observado em um à soltura parcial dos parafusos devido à reabsorção óssea que foi ocorrendo ao longo do acompanhamento, porém sem repercussões clínicas importantes.

A recidiva tumoral é uma das possíveis complicações da preservação do membro, neste estudo foi observado em um paciente, fato também relatado por Ferrigno (2011) que traçou um comparativo entre autores internacionais com taxas de recidiva menores e relatou que a realidade dos casos atendidos no Brasil é diferente, pois os pacientes já não possuem tumores pequenos e de acometimento mais súbito comparando com o serviço da sua instituição, realidade esta também encontrada na nossa instituição, já que na maioria dos casos os pacientes chegam com um quadro mais avançado e, portanto, muito mais complexo e desafiador.

A seleção do paciente para preservação do membro é extremamente importante, para aumentar as chances de sucesso no pós-operatório. Em dois pacientes, apesar da região afetada pelo tumor em nível ósseo não ultrapassar 50% do comprimento da coluna óssea como recomendam Dernel *et al.* (2001), eles eram volumosos em perímetro. Fato também observado por Ferrigno (2011) que relatou, em um paciente necrose do coxim plantar em virtude da vasta dissecação dos tecidos moles. No presente estudo foi observado infecção como complicação nestes pacientes em função da dissecação de área extensa propiciando região favorável a este processo. Sendo que no paciente que apresentava o tumor com volume menor não foi observado maiores complicações a curto e longo prazo na utilização da técnica pedicular, sugerindo a identificação precoce de pacientes com potencial para preservação.

Um dos pontos críticos é a incorporação do enxerto no leito receptor, na maioria dos casos o autoenxerto não consolida totalmente, atuando somente como espaçador e pode levar até dois anos para consolidação, tempo este que supera a expectativa de vida

da maioria dos pacientes (LIPTAK *et al.*, 2004). Uma grande vantagem da técnica pedicular é preconizar um único ponto de osteotomia ou desarticulação, mantendo continuidade da coluna óssea, minimizando assim possíveis complicações referentes a não união das interfaces e conseqüente falha do implante ou reabsorção do enxerto. Foi observado não união no paciente que realizou a osteotomia, porém sem repercussões clínicas, pois como citaram Liptak *et al.* (2004) o impacto clínico da não-união geralmente é mínimo quando a interface do osso hospedeiro com o enxerto é rigidamente estabilizada e protegida com placa de compressão dinâmica. No caso descrito obteve-se êxito na estabilização, pois havia somente uma interface o que diminuiu a possibilidade de instabilidade e falha do implante.

Em relação à quimioterapia, nenhum dos animais que recebeu quimioterápico teve efeitos colaterais, principalmente efeitos tóxicos gastrintestinais, alterações hematológicas (mielossupressão), lesões cardíacas ou nefrotoxicidade que ocorrem com maior frequência quando o protocolo alternado de cisplatina e doxorrubicina é administrado (ENDICOTT, 2003). O protocolo instituído com carboplatina minimiza as chances desses efeitos adversos, com a exceção do efeito mielossupressivo que é maior com a carboplatina, mas apesar disso não foi detectado nenhuma alteração. Diversos protocolos já foram testados e não foi demonstrado superioridade de nenhum deles, em relação a aumentar a sobrevida dos pacientes, sendo o protocolo administrado neste trabalho uma escolha adequada para os pacientes no pós-operatório.

Em um estudo retrospectivo no HCV-UFRGS realizado por Gomes *et al.* (2008), foi ressaltado que a quimioterapia em conjunto com a cirurgia aumenta a expectativa de vida dos pacientes. Este fato também foi observado neste estudo, já que os animais do grupo com tratamento paliativo somente com analgésicos tiveram a sobrevida significativamente reduzida em relação aos outros grupos de tratamento utilizando quimioterapia adjuvante.

A quimioterapia adjuvante é indicada, pois a cirurgia isoladamente é considerada tratamento paliativo. A sobrevida não é afetada pelo procedimento cirúrgico (amputação ou preservação) se a quimioterapia adjuvante é utilizada (BURACCO *et al.*, 2002). Corroborando com os achados deste estudo, no qual não houve diferença significativa entre os dois grupos tratados, demonstrando que a cirurgia de preservação do membro não influenciou negativamente na taxa de sobrevida total em comparação com o tratamento de rotina, mesmo com as complicações encontradas.

Em relação aos fatores prognósticos, a elevação pré-operatória da fosfatase alcalina (>110 U.I./L) está associada com intervalo livre de doença e a sobrevida total menores (EHRHART *et al.*, 2013). No entanto, no presente estudo, não houve correlação entre os maiores valores de fosfatase alcalina com menores tempos de sobrevida, fato também observado por Saam (2011).

Esperava-se correlação inversa entre o período de aparecimento dos sinais até o diagnóstico e o tempo de sobrevida total, pois quanto maior o tempo até o diagnóstico mais progride a doença influenciando a sobrevida do paciente. Esta correlação não foi observada neste estudo, porém deve ser analisada com cautela, pois o período foi registrado conforme relato do tutor o que é uma observação subjetiva e que também pode estar relacionada com a agressividade do tumor, característica do osteossarcoma.

O uso de animais da rotina em trabalhos científicos é um desafio, pois cada caso possui características próprias e está inserido em um contexto único. Sendo o papel do tutor de extrema importância para condução adequada do trabalho. O temperamento do cão também deve ser avaliado. Fatores fundamentais na seleção do paciente que será submetido a um procedimento de preservação do membro. As complicações observadas neste estudo foram semelhantes às encontradas na literatura, contudo acredita-se que por ser uma técnica não realizada na rotina hospitalar e a equipe estar no início da curva de aprendizado, as taxas de complicações observadas poderão diminuir futuramente.

7 CONCLUSÃO

Nas condições em que foi realizado o experimento e com base nos resultados obtidos é possível concluir que:

- a técnica cirúrgica pedicular de preservação do membro é possível de ser realizada em cadáveres de cães descongelados;

- apesar do número relativamente pequeno de pacientes, a técnica pedicular proposta é viável e factível em cães portadores de neoplasia óssea, porém a seleção dos pacientes deve ser criteriosa, especialmente baseado no estágio da doença, visando minimizar a ocorrência de complicações;

Perspectivas futuras:

Apesar dos resultados promissores a técnica pedicular deverá ser aplicada em uma população maior para que possa ser indicada como opção de preservação do membro na rotina da cirurgia veterinária.

REFERÊNCIAS

- AIKEN, S.W. Principles of surgery for the cancer patient. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v.18, n.2, p.75-81, 2003.
- ALBUQUERQUE, P. B.; BARNI, B.S.; SILVA, R.B.; et al. Aloenxerto ósseo cortical desvitalizado com nitrogênio líquido – estudo experimental em ovelhas. **Ciência Rural**, ahead of print Epub Jan 09, 2015 <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20140006>
- ALIEVI, M. M.; SCHOSSLER, J.E.W.; GUIMARÃES, L.D., 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, p.450-457, 2007.
- ARAÚJO, A.C.P.; GAIGA, L.H.; SEITZ, A.L.; et al. Osteossarcoma extra-esquelético primário testicular em cão criptorquida. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, n. 2, p.197-200, 2006.
- ATHERTON, M.J.; ARTHURS, G. Osteosarcoma of the tibia 6 years tibial plateau leveling osteotomy. **Journal of American Animal Hospital Association**, v.48, p.188-193, 2012.
- BERG, J. Canine osteosarcoma. Amputation and chemotherapy. **Veterinary of Clinics North America Small Animal Practice**, v.26, p.111-119, 1996.
- BERGMAN, P.J.; MACEWEN, E.G.; KURZMAN, I.D. Amputation and carboplatin for treatment of dogs with osteosarcoma: 48 cases (1991-1993). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.10, p.76-81, 1996.
- BOSTON, S.E.; DUERR, F.; BACON, N. et al. Intraoperative radiation for limb sparing of the distal aspect of the radius without transcarpal plating in five dogs. **Veterinary Surgery**, n.36, p.314-323, 2007.
- BOSTON, S.E.; BACON, N.J.; CULP, W.T.N. et al. Outcome after repair of a sarcoma-related pathologic fracture in dogs: a veterinary society of surgical oncology retrospective study. **Veterinary Surgery**, n.40, p.431-437, 2011.
- BOUVY, B.M. Neoplasias de membros torácicos e pélvicos. In: BICHARD, S.J.; SHERDING, R.G.; **Manual Saunders: clínica de pequenos animais**, 2ed., São Paulo: Roca, p.1303-1309, 2003.
- BURACCO, P. et al. Pasteurized tumoral autograft as a novel procedure for limb sparing in the dog: a clinical report. **Veterinary Surgery**, n.31, p.525-532, 2002.
- COOPER, S.M.; DAWBER, R.P.R. The history of cryosurgery. **Journal of the royal society of medicine**, v.91, p. 196-201, 2001.
- DALECK, C.R.; FONSECA, C.S.; CANOLA, J.C. Osteossarcoma canino. **Revista de Educação Continuada**, v.5, p.233-242, 2002.

DAWE, J. Osteosarcoma in a 6-year-old Newfoundland dog: Limb-sparing surgery and cisplatin chemotherapy. v.48, **Canadian Veterinary Journal**, p.1169-1171, 2007.

DERNELL, W.S.; STRAW, R.S.; WITHROW, S.J. Tumor of skeletal system. In: WITHROW, S.J; MACEWENS, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p.378-417, 2001.

DOBSON, J. Managing canine osteosarcoma: limb sparing versus amputation? **Veterinary Record**, v.23, p.420-421, 2011.

DOIGE, C.E.; WEISBRODE, S.E. Doença dos ossos e das articulações. In: CARLTON, W.W. **Patologia veterinária especial de Thonson**, 2ed., Porto Alegre: Art Med., cap.10, p.448-485, 1998.

DUNN, A.L.; BUFFA, E.A.; HANSHAW, D.M. et al. Osteosarcoma at the site of titanium orthopaedic implants in a dog. **Australian Veterinary Journal**, v.90, n.1-2, p.39-43, 2012.

EHRHART, N.P.; RYAN, D.; TIMOTHY, M.F. Tumors of the skeletal system. In: WITHROW, S.J; MACEWENS, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. Saunders Company, p.463-495, 2013.

ENDICOTT, M. Principles of treatment for osteosarcoma. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v.18, p.110-114, 2003.

FERREIRA, M.P. Comparação de enxerto ósseo cortical autógeno e implante ósseo cortical alógeno liofilizado, congelado a -70°C ou conservado no mel na substituição de segmento diafisário do fêmur de gatos domésticos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, n. 2, p. 211-212, 2009.

FERRIGNO, C.R.A. Tratamento de neoplasias ósseas apendiculares com reimplantação de enxerto ósseo autólogo autoclavado associado ao plasma rico em plaquetas: estudo crítico na cirurgia de preservação de membro em cães. **Tese de Livre Docência**. São Paulo: USP, 2011.

GAGE, A.A.; BAUST, J.M.; BAUST, J.G. Experimental cryosurgery investigations *in vivo*. **Cryobiology**, v.59, n.3, p.1-31, 2009.

GOMES, C.; SPAGNOL, C.; FOERSTNOW, L. et al. Tempo de sobrevivência de cães com imagem radiográfica compatível com neoplasia óssea no esqueleto apendicular, sem o uso de quimioterapia. **Veterinária em Foco**, v.5, n.2, p.201-206, 2008.

GOMES, L. et al. Osteossarcoma canino: revisão. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.2, ago., p.204-219, 2008.

HODGE, S.C.; DEGNER, D.; WALSHAW, R. et al. Vascularized ulnar bone grafts for limb-sparing surgery for the treatment of distal radial osteosarcoma. **Journal American Animal Hospital Association**, v.47, n.2, p.98-111, 2011.

JEHN, C.T.; LEWIS, D.D.; FARESE, J.P. Transverse ulnar bone transport osteogenesis: a new technique for limb salvage for the treatment of distal radial osteosarcoma in dogs. **Veterinary Surgery**, n.36, p.324-334, 2007.

JOHNSON, A.L.; HULSE, D.A. Neoplasias ósseas. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 2ed. São Paulo: Roca, p.1165-1176, 2005.

LESTER, P.; GAYNOR, J.S. Management of cancer pain. **Veterinary Clinical North American Small Animal Practice**, v.30, n.4, p.951-966, 2000.

LIPTAK, J.M.; DERNELL, W.S.; DUNCAN X, B. et al. Intraoperative extracorporeal irradiation for limb sparing in 13 dogs. **Veterinary Surgery**, n.33, p.446-456, 2004.

LIPTAK, J.M.; DERNELL, W.S.; STRAW, R.C. et al. Proximal radial and distal humeral osteosarcoma in 12 dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.40, p.461-467, 2004.

LIPTAK, J.M.; DERNELL, W.S.; STRAW, R.C. et al. Intercalary bone grafts for joint and limb preservation in 17 dogs with high-grade malignant tumors of the diaphysis. **Veterinary Surgery**, n.33, p.457-467, 2004.

LIPTAK, J.M.; et al., Canine Appendicular Osteosarcoma: Curative-Intent Treatment, **Compendium: continuing education for veterinarians**, p.186-197, 2004.

LIPTAK, J.M.; PLUHAR, E.G.; DERNELL, W.S. et al. Limb sparing surgery in a dog with osteosarcoma of the proximal femur. **Veterinary Surgery**, n.34, p.71-77, 2005.

LIPTAK, J.M.; EHRHART, N.; SANTONI, B.G. et al. Cortical bone graft and endoprosthesis in the distal radius of dogs: a biomechanical comparison of two different limb-sparing techniques. **Veterinary Surgery**, n.35, p.150-160, 2006a.

LIPTAK, J.M.; DERNELL, W.S.; EHRHART, N. et al. Cortical allograft and endoprosthesis for limb-sparing surgery in dogs with distal radial osteosarcoma: a prospective clinical comparison of two different limb-sparing techniques. **Veterinary Surgery**, n.35, p.518-533, 2006b.

LIPTAK, J.M. The principles of surgical oncology: surgery and multimodality therapy. **Compendium: continuing education for veterinarians**, p.1-14, 2009.

MACDONALD, T.L.; SCBAHILLER, T.D. Limb-sparing surgery using tantalum metal endoprosthesis in a dog with osteosarcoma of the distal radius. **Canadian Veterinary**, v.51, 2010.

MARCOVE, R.C; WEIS, L.D.; VAGHAIWALLA et al. Cryosurgery in the treatment of giant cell tumors of bone – a report of 52 consecutive cases. **Cancer**, v.41, p.957-969, 1978.

MELO, M.A.C. Curva de aprendizado na videocirurgia. **Revista Brasileira de Videocirurgia**, n.2, v.3, p.111-113, 2004.

MENEZES, C.L.M. Preservação de cadáver de coelho (*Oryctolagus cuniculus*) com a solução de Larssen modificada para treinamento em cirurgia videolaparoscópica. **Dissertação de mestrado**. Porto Alegre: UFRGS, 2012.

MORELLO, E.; MARTANO, M.; BURACCO, P. Biology, diagnosis and treatment of canine appendicular osteosarcoma: Similarities and differences with human osteosarcoma. **The Veterinary Journal**, v.189, p.268-277, 2011.

OGILVIE, G.K. Bone tumors. IN: **Veterinary Oncology Secrets**. Robert C. Rosenthal. Chapter 24, p.1, 39-141, Hanley & Belfus, INC. Philadelphia, 2001.

PAN, K.L.; CHAN, W.H.; ONG, G.B. et al. Limb salvage in osteosarcoma using autoclaved tumor-bearing bone. **World Journal of Surgical Oncology**, n.10, v.105, p.1-5, 2012.

RAHMAN, M. A., BASSIONY, A., SHALABY, H. Reimplantation of the resected tumour –bearing segment after recycling using liquid nitrogen for osteosarcoma. **International Orthopaedics**, n.33, p.1365-1370, 2009.

RANKIN, K.S.; STARKEY, M.; LUNEC, J. et al. Of dogs and men: comparative biology as a tool for the discovery of novel biomarkers and drug development targets in osteosarcoma. **Pediatric blood cancer**, n.58, p.327-333, 2012.

RECH, A; CASTRO, C.; MATTEI, J. Características clínicas do osteossarcoma na infância e sua influência no prognóstico. **Jornal de pediatria**, v.80, n.1, 2004.

ROCHA, A.G., WITTMACK, M.C.N., PIETRO, N.H.P.S. et al. Comparação de duas técnicas de desvitalização óssea extracorpórea na cirurgia de preservação do membro no tratamento de osteossarcoma em cão. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.9, n.17, p.696-708, 2013.

SAAM, D.E.; LIPTAK, J.M.; STALKER, M.J. et al. Predictors of outcome in dogs treated with adjuvant carboplatin for appendicular osteosarcoma: 65 cases (1996-2006). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.238, n.2, p.195-205, 2011.

SCHERER, S. Desenvolvimento de modelo experimental em cadáver de cão conservado com a solução de Larssen modificada para treinamento em videocirurgia: nefrectomia total e tireoidectomia. **Dissertação de Mestrado**. Porto Alegre: UFRGS, 2009.

SÉGUIN, B.; WALSH, P.J.; MASON, D.R. et al. Use of an Ipsilateral Vascularized Ulnar Transposition Autograft for Lim-Sparing Surgery of the Distal Radius in Dogs: An Anatomic and Clinical Study. **Veterinary Surgery**, n.32, p.69-79, 2003.

SILVA, R. B. Desvitalização extracorpórea de autoenxerto ósseo cortical com nitrogênio líquido – estudo experimental em tíbia de ovelhas. **Dissertação de mestrado**. Porto Alegre: UFRGS, 2011.

SILVA, R.M.G.; MATERA, J.M.; RIBEIRO, A.A.C.M. Preservation of cadavers for surgical technique training. **Veterinary Surgery**, v.33, p.606-608, 2004.

SILVEIRA, P.R. et al. Estudo retrospectivo de osteossarcoma apendicular em cães. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.487-497, 2008.

SIVACOLUNDHU, R.K.; RUNGE, J.J.; DONOVAN, T.A., et al. Ulnar osteosarcoma in dogs: 30 cases (1992-2008). **Journal of American Veterinarian Medical Association**, v.243, n.1, p.96-101, 2013.

SPODNICK et al. Prognosis for dogs with appendicular osteosarcoma treated by amputation alone: 162 cases (1978-1988). **Journal of American Veterinarian Medical Association**, v.200, p.995-999, 1992.

STRAW, R.S. Tumor of the skeletal system. In: WITHROW, S.J; MACEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p.287-315, 1996.

STRAW, R.S.; WITHROW, S.J. Limb sparing for dogs with bone neoplasia. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. 5ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, cap.147, p.2020-2025, 1993.

TATARUNAS, A.C.; MATERA, J.M. Estudo artroscópico da articulação do ombro em cadáveres de cães. **Acta Cirúrgica Brasileira** [serial online] 2004 Maio-Jun;19(3). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.

TATARUNAS, A.C.; MATERA, J.M. Estudo artroscópico da articulação do joelho em cadáveres de cães. **Acta Cirúrgica Brasileira** [serial online] 2004 Jul-Ag;19(4). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.

TORIGOE, T., TOMITA, Y., IWASE, Y., et al. Pedicle freezing with liquid nitrogen for malignant bone tumour in the radius: a new technique of osteotomy of the ulna. **Journal of Orthopaedic Surgery**, v.20, n.1, p.98-102, 2012.

TSUCHIYA, H.; WAN, S.L.; SAKAYAMA, K. et al. Reconstruction using an autograft containing tumour treated by liquid nitrogen. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, n.87B, p.218-225, 2005.

TSUCHIYA, H.; NISHIDA, H.; SRISAWAT, P.; et al. Pedicle frozen autograft reconstruction in malignant bone tumors. **Journal of Orthopaedic Science**, n.15, p.340-349, 2010.

VERTH, R.; SCHREUDER, B.; BEEM, H. et al. Cryosurgery in aggressive, benign, and low-grade malignant bone tumors. **The Lancet Oncology**, v.6, p.25-34, 2005.

WITHROW, S.J., VAIL, D.M. **Small animal clinical oncology**. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; p.540-582, 2007.

YAMAMOTO, N.; TSUCHIYA, H.; TOMITA, K. Effects of liquid nitrogen treatment on the proliferation of osteosarcoma and the biomechanical properties of normal bone. **Journal of Orthopaedic Science**, n.8, p.374-380, 2002.

YAZBEK, K.V.B.; FANTONI, D.T. Validity of health-related , quality-of-life scale for dogs with signs of pain secondary to cancer. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 226, p.1354-1358, 2005.

YAZBEK, K.V.B. Avaliação da dor e da qualidade de vida em cães com câncer. **Revista da Dor**, v.9, n.3, p.1297-1304, 2008.

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**, 2003.

ANEXO A – Carta de aprovação da Comissão de Ética no uso de animais

	UFRGS UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL	PRÓ-REITORIA DE PESQUISA Comissão De Ética No Uso De Animais	
--	--	--	--

CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 24463

Título: Preservação do membro em cães com tumores ósseos através da técnica de congelamento em nitrogênio líquido

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

MARCELO MELLER ALIEVI - coordenador desde 01/03/2013
 CARLOS AFONSO DE CASTRO BECK - pesquisador desde 01/03/2013
 DAVID DRIEMEIER - pesquisador desde 01/03/2013
 LUCIANA SONNE - pesquisador desde 01/03/2013
 EGLETE MARIA PACHECO RODRIGUES - Médico Veterinário desde 01/03/2013
 MARCELO DE SOUZA MUCCILLO - Médico Veterinário desde 01/03/2013
 Simone Scherer - Aluno de Doutorado desde 01/03/2013
 ALINE SILVA GOUVEA - Aluno de Doutorado desde 01/03/2013
 PAULA CRISTINA SIECZKOWSKI GONZALEZ - Aluno de Mestrado desde 01/03/2013
 Verônica Santos Mombach - Aluno de Mestrado desde 01/03/2013
 ALESSANDRA VENTURA DA SILVA - Aluno de Mestrado desde 01/03/2013
 Kauê Danilo Helene Lamos dos Reis - Aluno de Mestrado desde 01/03/2013

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo, em reunião realizada em 27/05/2013 - Sala do 2º andar, prédio da Reitoria, Campus Centro, Porto Alegre, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 40 cadáveres de cães e 20 cães, de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008 que disciplina a criação e utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa.

Porto Alegre, Sexta-Feira, 5 de Julho de 2013

STELA MARIS KUZEL RATES
Coordenadora de comissão de ética.

APÊNDICE A - Termo de consentimento informado

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do projeto: **Preservação do membro em cães com tumores ósseos através da técnica de congelamento em nitrogênio líquido.**

Pesquisador responsável: **Marcelo Meller Alievi**, Professor Adjunto IV da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Pós-graduando responsável: **Aline Silva Gouvêa**, doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias pela Faculdade de Veterinária da UFRGS.

Este projeto objetiva analisar a evolução pós-operatória a qualidade e tempo de sobrevivência de cães acometidos por tumores ósseos, através do método de preservação do membro com congelamento em nitrogênio líquido, técnica descrita em humanos. Que consta do tratamento do tumor e após inserção de placa e parafusos quando indicado. O seu animal será submetido ao procedimento cirúrgico e após quimioterapia, tendo alta assim que o animal estiver em condições seguras. Você e seu animal deverão retornar ao HCV mensalmente após a cirurgia para a avaliação clínica, exames radiográficos e sessões de quimioterapia.

Todos os procedimentos serão realizados no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS. Se algo inesperado acontecer, o animal receberá todos os cuidados sem qualquer custo ao tutor. O tutor e o seu animal terão participação de pelo menos um ano na pesquisa e tem a garantia de sigilo das informações obtidas bem como o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo.

APÊNDICE B – Consentimento livre e esclarecido

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu _____, RG _____, CPF _____ tutor do paciente _____, ficha clínica número _____, estou ciente de que o animal de minha responsabilidade estará participando do projeto de pesquisa: **Preservação do membro em cães com tumores ósseos através da técnica de congelamento em nitrogênio líquido.** E fui esclarecido pela doutoranda Aline Silva Gouvêa sobre todas as etapas da pesquisa, incluindo os riscos e benefícios dos procedimentos que serão realizados. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção do acompanhamento do meu animal.

Da mesma forma, autorizo a publicação dos dados obtidos em todas as etapas da pesquisa e comprometo-me a permitir que o animal de minha responsabilidade, fique internado no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, para coleta de sangue para exames pré-operatórios, radiografias, avaliação clínica pós-operatória, registro fotográfico e coleta de dados durante o período mínimo de 10 dias, que poderá se estender conforme evolução do paciente após a cirurgia.

Comprometo-me também a comparecer nas revisões necessárias, cuja frequência será mensal. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Porto Alegre, _____ de _____ de 201 .

Assinatura do tutor

Assinatura do pesquisador

Veterinário e Pesquisador Responsável: M.V. Marcelo Meller Alievi (CRMVRS- 6461)

Pós-graduando Responsável: M.V. Aline Silva Gouvêa (CRMVRS- 8441)

Telefone: (51) 9172 9078 ou (51) 3308-6112

E-mail: aline.gouvea@bol.com.br

End. Av. Bento Gonçalves, 9090. Bairro Agronomia, Porto Alegre - RS.

APÊNDICE C – Termo de doação de corpo

TERMO DE DOAÇÃO DE CORPO

Eu,....., formalizo por meio deste documento, a doação do corpo do animal de minha propriedade abaixo identificado, ao Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, para que o mesmo seja utilizado no projeto de pesquisa intitulado: Preservação do membro em cães com tumores ósseos através da técnica de congelamento em nitrogênio líquido.

Identificação do Tutor	
Nome:	RG:
Endereço:	CPF:
Bairro:	CEP:
Cidade:	Cel:

Nome:	Sexo:
Raça:	Data do óbito:
Idade:	Ficha:

Identificação do(a) Veterinário(a) Responsável					
Nome completo:					
CRMV-RS:	Função:	<input type="checkbox"/> Resid.	<input type="checkbox"/> Pós-grad.	<input type="checkbox"/> Téc.	<input type="checkbox"/> Prof.

Porto Alegre, de de 201....

Assinatura do Tutor