

Aloenxertos ósseos na osteossíntese de fracturas traumáticas

Bone allografts in the osteosynthesis of traumatic fractures

Rui M. de Freitas Dias¹, Pedro Carvalhais², Pedro Matos², Fernando Judas³

¹ Assistente Graduado em Ortopedia/*Graduate Assistant in Orthopedics*

² Interno do Internato Complementar de Ortopedia/*Specialist Registrar in Orthopedics*

³ Professor da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Chefe de Serviço de Ortopedia dos HUC
Lecturer at the Faculty of Medicine, Coimbra University; Head of Orthopedics Department

Hospitais da Universidade de Coimbra (HUC) – Serviço de Ortopedia
Orthopedics Department, Coimbra University Hospitals.

RESUMO

Nos últimos anos, assistimos a importantes avanços científicos na área da segurança microbiológica, na imunologia e no conhecimento do comportamento biológico dos aloenxertos do aparelho locomotor, assim como a alterações da legislação que regulamenta as transplantações de órgãos e tecidos de origem humana, o que conduziu a alterações importantes na organização dos Bancos de Tecidos em todo o mundo.

Os aloenxertos ósseos podem estar indicados na osteossíntese de fracturas ósseas traumáticas e no tratamento das complicações desse tipo de lesões, área que não tem sido suficientemente divulgada na literatura internacional.

No período compreendido entre 1982 e 2007, o Banco Tecidos dos HUC disponibilizou 5231 aloenxertos do aparelho locomotor para aplicação clínica. De entre estes e no período compreendido entre os anos 1994 e 2006, foram usados 1078 aloenxertos ósseos na osteossíntese de fracturas ósseas traumáticas e no tratamento de complicações de fracturas, na condição de medida terapêutica complementar: 500 esponjosos granulados, 98 maciços e 480 desmineralizados.

O número das fracturas ósseas traumáticas e dos casos com complicações de fracturas foi de 420, distribuídos da seguinte forma: 290 localizados no fémur, 84 na tibia, 32 no úmero e

ABSTRACT

In recent years, important scientific advances have been made in the areas of microbiological safety and immunology, and we now have much greater knowledge as to the biological behaviour of allografts of the locomotor apparatus. Moreover, there have also been amendments to the legislation regulating human organ and tissue transplants, which has led to significant changes in the organization of Tissue Banks throughout the world.

Bone allografts may be indicated in the osteosynthesis of traumatic bone fractures and the treatment of complications resulting from this type of injury. However, this has not been sufficiently divulged in the international literature.

Between 1982 and 2007, the Tissue Bank of the Coimbra University Hospitals provided 5231 allografts of locomotor apparatus for clinical application. Of these, 1078 bone allografts were used between 1994 and 2006 as auxiliary treatment in the osteosynthesis of traumatic bone fractures and treatment of resulting complications. Of these, there were 500 granulated cancellous bone grafts, 98 solid bone grafts and 480 demineralized.

Of the 420 cases of traumatic bone fractures and fracture complications, 290 were in the femur, 84 in the tibia, 32 in

14 no rádio. As lesões da extremidade distal do fémur representaram a causa mais frequente da aplicação dos aloenxertos.

Nesta série, não foram confirmados casos de infecção associada ao aloenxerto, nem qualquer caso de transmissão de doenças virais aos receptores. A consolidação das fracturas foi conseguida entre os 3 e os 6 meses. Uma reabsorção parcial do enxerto foi verificada em 21 casos (5%), em correlação directa com as deficientes condições vasculares do leito receptor e com a técnica cirúrgica.

A aplicação de aloenxerto ósseo no tratamento de fracturas ósseas e das suas complicações é um procedimento seguro e com resultados satisfatórios.

Palavra-chave: Enxerto ósseo, aloenxerto, autoenxerto, incorporação, Banco de Tecidos, aloenxertos granulados, DBM, aloenxerto cortical.

INTRODUÇÃO

Os enxertos ósseos podem ser usados na osteossíntese de fracturas traumáticas e no tratamento das suas complicações, tais como as perdas de substância óssea, os atrasos de consolidação, as pseudoartroses e as artroses pós-traumáticas [8]. Muito embora o autoenxerto da crista ilíaca seja considerado o *gold standard*, a morbilidade associada a este procedimento não é desprezível, para além de poder apresentar limitações quanto à quantidade disponível.

Os primeiros trabalhos científicos experimentais que relataram a aplicação de enxertos ósseos foram publicados por Ollier em 1858 [5,16]. Contudo, o primeiro enxerto ósseo aplicado num ser humano foi descrito por Macewen em 1881, sendo o primeiro enxerto osteocartilagíneo aplicado por Lexer em 1908. Após alguns anos de resultados clínicos de difícil avaliação, coube a Bush e Wilson, em 1947, a publicação de trabalhos relevantes que conduziram posteriormente à criação dos primeiros Bancos de Ossos [1]. Mais tarde, os trabalhos de Sicart-Mouly (1954) e de Judet (1954) deram conta dos bons resultados da aplicação de aloenxertos nas pseudoartroses e artrodeses lombo-sagradas. No entanto, o seu estudo retrospectivo só surgiu em 1969 com os trabalhos de Parish e Merle d'Aubigné [7,12,17].

Nos últimos anos, assistimos a importantes avanços científicos desenvolvidos nas áreas da segurança microbológica, da imunologia e da biologia de incorporação dos aloenxertos, assim como a alterações da legislação que regulamenta as transplantações de órgãos e tecidos de origem humana, conduzindo a modificações importantes

the humerus and 14 in the radius. Injuries of the distal tip of the femur accounted for the majority of allograft applications.

In this series, there were no cases of infection associated to the allograft, nor any cases of transmission of viral diseases or receptors. Healing of fractures took place between 3 and 6 months. There was partial resorption of the graft in 21 cases (5%), which may be directly correlated with deficient vascular conditions of the receptor bed and surgical technique used.

The application of bone allograft in the treatment of bone fractures and resulting complications is a safe procedure that gives satisfactory results.

Key Words: Bone graft, allograft, autograft, incorporation, Tissue Bank, granulated allografts, demineralised bone matrix (DBM), cortical allograft.

INTRODUCTION

Bone allografts may be used in osteosynthesis of traumatic bone fractures and for the treatment of complications resulting from this type of injury, such as loss of bone substance, delayed healing, pseudarthroses and post-traumatic arthroses [8]. Although an autograft taken from the iliac crest is still considered to be the "gold standard", there is some morbidity associated with this procedure, not to mention limitations as to the amount available.

The first experimental studies relating to the application of bones grafts were published by Ollier in 1858 [5,16]. However, the first bone graft to be applied in a human being was only described in 1881, by Macewen, while the first osteocartilaginous graft was applied by Lexer in 1908. After some years of somewhat ambiguous clinical results, Bush & Wilson published an important work in 1947, which subsequently led to the creation of the first Bone Banks [1]. Later, studies by Sicart-Mouly (1954) and Judet (1954) revealed the good results achieved with the application of allografts in cases of pseudoarthroses and lumbosacral arthrodeses. However, the first retrospective study only appeared in 1969 with works by Parish and Merle d'Aubigné [7,12,17].

In recent years, important scientific advances have been made in the area of microbiological safety, immunology and allograft incorporation biology, and there have been amendments to the legislation that regulates human organ and tissue transplants. This has led to important changes in the organization of Tissue Banks all over the world [4,18,19,20]. Since then, new perspectives have opened up for the application of human bio-



Fig. 1: a) Fractura femoral periprotética do tipo C, na classificação de Vancouver, com evolução para pseudo-artrose e fractura de fadiga do material, após osteossíntese inicial. Substituição do material danificado e aplicação de material de osteossíntese, placa reforço da cortical interna com uma tábua cortical de aloenxerto e aplicação de aloenxerto esponjoso granuloso. b) Aos 6 meses de evolução pós-operatória a pseudo-artrose estava resolvida. Incorporação dos aloenxertos/a) Type C (Vancouver classification) periprosthetic femoral fracture, with development of pseudarthrosis and fatigue fracture of the material, after initial osteosynthesis. Replacement of damaged material and application of osteosynthesis material, reinforcement plate of internal cortex with cortical slab allograft and application of granulated cancellous allograft. b) By postoperative month 6, the pseudoarthrosis was resolved. Incorporation of allografts.

na organização dos Bancos de Tecidos em todo o mundo [4,18,19,20]. A partir daí, foram abertas novas perspectivas de intervenção para a aplicação de estruturas biológicas de origem humana, com elevadíssimas condições de segurança, disponibilidade e integridade biológicas. Actualmente, são aplicados perto de 800.000 substitutos ósseos por ano nos Estados Unidos da América, mais de 450.000 dos quais são aloenxertos ósseos [8,9,15]. Com

logical structures, and there are now very high standards of biological safety, integrity and availability. Today, almost 800,000 bone substitutes are applied per year in the United States of America, of which over 450,000 are bone allografts [8,9,15]. In fact, the application of allografts is considered to be a safe procedure [10,11]. In a recent study, the Musculoskeletal Transplant Foundation found no cases of infection related to the application of allografts in over 2 million units transplanted over the course of 15 years [4].

GRAFT

The term “graft” refers to the application of a viable tissue; for this reason, it should, strictly speaking, be reserved for fresh or cultivated tissues. However, the term is also used in the scientific literature to denote non-viable materials of human origin [4,8,15]. The term “implant” would be more correct in this case, since it means materials of biological or synthetic origin that are not viable [4,8,15]. However, the term “graft” continues to be used to describe materials of human origin that have been devascularized and are without cellular viability. Similarly, the term “transplant”, according to the 2001 definition of the European Association of Tissue Banks, means “the harvesting of an organ, tissue or cells, and their grafting, immediately or after a period of preservation and/or conditioning”. Thus, the application of a preserved bone allograft may be considered a transplant, as cellular viability is not a necessary condition [3,6].

BONE GRAFTS

Thus, a bone graft may be defined as a transplant of living or non-living bone. An autograft is tissue transferred from one part of an individual to another. If the tissue is transferred between two genetically identical individuals, it is called an isograft. An allograft, formerly called a homograft, involves the transfer of tissues from one individual to another genetically different individual of the same species. Finally, a xenograft refers to tissue transferred between individuals of different species [7,9].

The selection of a potential bone graft donor has to obey rigorous epidemiological, clinical and laboratorial criteria, and constitutes a crucial stage in the methodology of Tissue Banks, irrespective of how the tissue is prepared. Although the age of the donor does not constitute



Fig. 2: a) Fractura femoral periprotética do tipo B, na classificação de Vancouver. b) Osteossíntese da fractura com placa e parafusos. Reforço da cortical interna com uma tábua cortical de aloenxerto e aplicação de aloenxerto esponjoso granulado. c) Aos 13 meses de evolução pós-operatória procedeu-se à extracção do material de osteossíntese. Incorporação dos aloenxertos/a) Type B (Vancouver classification) periprosthetic femoral fracture. b) Osteosynthesis of fracture with plate and screws. Replacement of internal cortex with cortical slab allograft and application of granulated cancellous allograft. c) In postoperative month 13, the osteosynthesis material was extracted. Incorporation of allografts.

efeito, a aplicação de aloenxertos é considerada um procedimento seguro [10,11]. Num trabalho recente a “Musculoskeletal Transplant Foundation” não encontrou casos de infecção relacionados com a aplicação de aloenxertos em mais de 2 milhões de unidades transplantadas no decurso de 15 anos [4].

ENXERTO

O termo “enxerto” refere-se à aplicação de um tecido viável e deveria, por isso, ser reservado para os tecidos frescos ou cultivados. Contudo, na literatura científica, o termo “enxerto” também é usado para designar materiais de origem humana não viáveis [4,8,15]. O termo implante, neste caso, seria mais correcto, uma vez que este designa materiais de origem biológica ou sintética não viáveis. Contudo, e consagrado pelo uso, continua a usar-se o termo “enxerto” para descrever materiais de origem humana desvascularizados e sem viabilidade celular. De forma semelhante, o termo “transplantação”, segundo a

exclusion criteria, osteocartilaginous and meniscal grafts should be harvested from donors aged under 45, while fascia lata tendons should come from donors aged under 65. As regards ground or granulated cancellous bone, or other grafts that are not designed to provide structural support, there is no limit to the age for harvesting and preparation. Material may be harvested from donors that are living, have suffered circulatory arrest or are brain dead (the latter will involve the intervention of a multiorgan harvesting team). As regards live donors, grafts are harvested during the course of hip arthroplasties or in cases of fracture of the femoral head, where femoral heads are collected.

In all harvesting situations (live donors, circulatory arrest or brain death), the medical history of the potential donor is taken into account, in accordance with rigorous international regulations. Then, the graft will be serologically screened for HIV, HTLV, Hepatitis B and C, and will undergo microbiological testing. The careful selection of donors, combined with the serological and bacteriological testing of grafts, has resulted in a high

definição de 2001 da “European Association of Tissue Banks”, significa “a colheita de um órgão, tecido ou células e o enxerto desse órgão, tecido ou células imediatamente ou após um período de preservação e/ou acondicionamento”. Assim, a aplicação de um aloenxerto ósseo conservado pode ser considerada como uma transplantação, uma vez que não é condição necessária que exista uma viabilidade celular [3,6].

ENXERTOS ÓSSEOS

Pelo que acima se disse, podemos definir um enxerto ósseo como uma transplantação de osso vivo ou de osso não vivo. Um autoenxerto é um tecido transferido de uma parte para outra no mesmo indivíduo. No caso de o tecido ser transferido entre dois indivíduos geneticamente idênticos é designado por isoenxerto. O aloenxerto, anteriormente designado por homoenxerto, refere tecidos adquiridos e transferidos entre dois indivíduos da mesma espécie, mas geneticamente diferentes. Finalmente, o xenoenxerto designa o tecido transferido entre indivíduos de espécies diferentes [7,9].

A selecção de um potencial dador de aloenxertos ósseos obedece a rigorosos critérios epidemiológicos, clínicos e laboratoriais, constituindo uma etapa crucial na metodologia dos Bancos de Tecidos, independentemente do método da sua preparação. Muito embora a idade do dador não constitua um critério de exclusão para a colheita, os enxertos osteocartilagíneos e meniscais devem ser colhidos em dadores com idade inferior a 45 anos e os tendões da fascia lata em dadores com menos de 65 anos. Em relação ao osso esponjoso triturado ou granulado ou outro enxerto que não venha a desempenhar um papel de suporte estrutural, não há limite de idade para a sua colheita e preparação. As colheitas podem realizadas em dadores vivos, em dadores em paragem circulatória ou em dadores em morte cerebral, havendo nesta última situação a intervenção de uma equipa de colheita multiorgânica. As colheitas em dadores vivos realizam-se no decurso das artroplastias da anca ou em caso de fracturas do colo femoral, onde se colhem as cabeças femorais.

Em qualquer das situações de colheita (dador vivo, paragem circulatória ou morte cerebral), são considerados os antecedentes médicos dos potenciais dadores por forma a cumprir rigorosos protocolos internacionais. Procedem-se a um rastreio serológico do potencial dador (HIV, HTLV, Hepatite B e C), sendo igualmente efectuado um controlo microbiológico ao enxerto. A crite-

level of microbiological safety, equivalent to a blood transfusion. Moreover, as an additional measure, frozen femoral heads and grafts from multi-organ donors are placed in quarantine and retested for HIV and Hepatitis C, six months after harvesting in the case of femoral heads, and three months after harvesting in the case of multi-organ donors. Thus, laboratory tests are performed on live donors, and in the case of multi-organ harvesting, on the patients that will receive vascularized organs, kidneys or liver.

Quarantine increases the safety of allografts. In addition, chemical treatment of the graft and its subsequent sterilization with gamma rays ensures that the risk is reduced to a minimum, comparable to the osteosynthesis material used in Orthopedics [3,12,20].

As for the current method of preserving allografts, the Tissue Bank of Coimbra University Hospital uses cryopreservation, both in liquid nitrogen (up to -190° C), and in electric deep freezers (-80° C). The Bank presently holds cryopreserved osteocartilaginous and bone allografts (of all types, shapes and sizes), demineralized cortical allografts, and tendon, fascia and meniscal allografts (knee extensor apparatus, Achilles' tendon, knee meniscus).

BIOLOGY OF BONE GRAFT INCORPORATION

There are three main biological mechanisms involved in the incorporation of bone grafts: osteoconduction (a passive property of the graft which enables the progression of new cellular and vascular elements to the surface or interior); osteoinduction (the graft's capacity to induce differentiation of adult multipotential stem cells in the osteoblastic line and thus produce bone tissue); and osteogenesis (the construction of bone matrix by osteoforming cells, that is by the cellular activity of osteoblasts with new bone apposition) [1,5,6,7].

For a bone graft to be incorporated, it has to be revascularized. If it is not, it will not be incorporated and is unable to respond to the mechanical and physiological demands made upon it, which may lead to fatigue fracture [1,2,3,7]. In the first phase, the incorporation of the devascularised bone graft depends upon local receptor conditions. The formation of bruising and inflammatory reactions, with the release of cytokines and bone growth factors, is very similar to what occurs in the bone fracture repair process. Subsequently, a fibrovascular tissue forms, which infiltrates the bruise and the graft. The later stages vary according to the type of graft applied.

riosa selecção dos dadores e o controlo serológico e bacteriológico dos enxertos conduz a um elevado nível de segurança microbiológica, equivalente ao de uma transfusão de sangue. Para reforço deste conceito, as cabeças femorais congeladas e os enxertos provenientes de dadores multiorgânicos são colocados em quarentena, isto é, são repetidas as análises laboratoriais para o HIV e Hepatite C seis meses após a colheita das cabeças femorais e três meses após a colheita nos dadores multiorgânicos. Assim, as análises laboratoriais são efectuadas no dador vivo e, no caso da colheita multiorgânica, nos doentes receptores de órgãos vascularizados, dos rins ou do fígado.

A quarentena permite aumentar a segurança dos aloenxertos. Por outro lado, o tratamento químico dos aloenxertos e a sua posterior esterilização com raios gama é um procedimento que garante um risco infinitesimal, comparável ao do material de osteossíntese usado em Ortopedia [3,12,20].

Quanto ao método actual de conservação dos aloenxertos no Banco de Tecidos dos H.U.C., usamos a criopreservação, quer no azoto líquido (até -190°C), quer em arcas frigoríficas eléctricas (-80°C). O Banco dispõe, actualmente, de aloenxertos osteocartilagíneos e ósseos criopreservados (de todos os tipos, dimensões e formas), aloenxertos corticais desmineralizados e de aloenxertos tendinosos, fasciais, meniscais (aparelho extensor do joelho, tendão de Aquiles, meniscos do joelho)

BIOLOGIA DA INCORPORAÇÃO DOS ENXERTOS ÓSSEOS

Três mecanismos biológicos dominam o processo de incorporação dos enxertos ósseos: a osteocondução, propriedade passiva do enxerto que permite a progressão de novos elementos celulares e vasculares na sua superfície ou para o seu interior; a osteoindução, capacidade que o enxerto apresenta para induzir a diferenciação das células estaminais adultas, pluripotenciais, na linha osteoblástica e assim produzir tecido ósseo; e a osteogénese, construção da matriz óssea pelas células osteoformadoras, ou seja, pela actividade celular dos osteoblastos com aposição de osso novo [1,5,6,7].

A incorporação de um enxerto ósseo implica a sua revascularização, isto é, se o enxerto não for revascularizado, não é incorporado e não apresenta condições para responder às solicitações mecânicas e fisiológicas, surgindo eventualmente uma fractura de fadiga [1,2,3,7]. Numa primeira fase, a incorporação do enxerto ósseo

In a cancellous bone autograft, incorporation is quick and complete, due to early revascularization (48 h) and osteogenesis, which is very active. The effectiveness of this process depends upon the size of the graft (5mm) and the application time following harvesting, which should be less than 30 minutes in order to preserve the largest number of living osteoblasts, the cells that produce the bone matrix that is subsequently mineralized.

Preserved cancellous allografts are incorporated in a very similar way to autografts [6]. However, as there is a more intense reaction process and the cells of the graft are necrosed, incorporation time is longer and the result is slightly less complete.

The incorporation of cortical graft takes much longer and is also less complete than a cancellous graft, whether an auto- or allograft. Given the dense structure of cortical bone, the initial phase is dominated by the osteoclastic line. The depositing of bone matrix on the surface of the graft begins after 12 weeks, contemporaneous with the formation of subperiosteal bone callus. The incorporation of this type of graft always takes a long time and requires various months. There is no significant difference between the incorporation of a cortical autograft and a cortical allograft. The incorporation of the allograft is slightly slower because there is a more significant inflammatory response, but the final outcome is similar. In the cortical auto- and allograft, the bigger the graft is, the less completely it will be incorporated. This type of allograft may show signs of mechanical fatigue after some time. To minimize this complication, it is necessary to apply osteosynthesis material with the intention of reinforcing mechanical stability. The use of cancellous autograft is also recommended at the junction between the cortical allograft and the patient's own cortical bone, in order to accelerate the bone healing process.

The use of cryopreserved osteocartilaginous allografts in the arm has long given good results. However, in the leg the radiological results are not so positive in the medium term. This is explained by the weak survival rate of chondrocytes following deepfreezing. Thus, it is preferable to apply fresh osteocartilaginous allografts, i.e. applied up to 72 hours after the respective harvest. The safety of this procedure may be comparable with that of vascularized fresh organ transplant.

Demineralized cortical bone was used for the first time in 1889 by Le Dentu and Senn. From 1965, there was greater interest in its clinical application, thanks to the work of Urist, who showed how new bone is formed through a process of endochondral ossification. This endo-

desvascularizado depende das condições locais do receptor. A formação do hematoma e a reacção inflamatória, com a libertação de citocinas e de factores de crescimento ósseo, é muito semelhante ao processo que se verifica na reparação da fractura óssea. Posteriormente, forma-se um tecido fibrovascular que infiltra o hematoma e o enxerto. Os estádios posteriores diferem consoante o tipo de enxerto aplicado.

No autenxerto ósseo esponjoso, a incorporação é rápida e completa devido à revascularização muito precoce (48 h) e à osteogénese, que é muito activa. A eficácia deste processo depende das dimensões do enxerto (5mm) e do tempo de aplicação após a sua colheita, que deve ser inferior a 30 minutos para preservar o maior número de osteoblastos vivos, as células produtoras de matriz osteóide que posteriormente é mineralizada.

A incorporação de aloenxertos esponjosos conservados é muito semelhante à do autoenxerto [6]. No entanto, devido ao processo reaccional mais intenso e ao facto de as células do enxerto estarem necrosadas, o tempo de incorporação é mais demorado e o resultado é ligeiramente menos completo.

A incorporação de enxerto cortical é muito mais longa e também mais incompleta do que a do enxerto esponjoso, quer se trate de um autoenxerto ou de um aloenxerto. Devido à estrutura densa do osso cortical, a fase inicial é dominada pela linha osteoclástica. A deposição de matriz osteóide na superfície do enxerto começa pelas 12 semanas e é contemporânea da formação do calo ósseo subperióstico. A incorporação deste tipo de enxerto é sempre demorada e necessita de vários meses. Não existe uma diferença significativa entre a incorporação de um autoenxerto cortical e de um aloenxerto cortical. A incorporação do aloenxerto é um pouco mais lenta porque existe uma resposta inflamatória mais importante, mas o resultado final é similar. No autoenxerto e no aloenxerto cortical, quanto maior forem as suas dimensões, mais incompleta será a incorporação. Este tipo de aloenxerto pode apresentar, ao fim de algum tempo, sinais de fadiga mecânica. Para minimizar esta complicação, é necessário aplicar material de osteossíntese com a intenção de reforçar a estabilidade mecânica. Recomenda-se também usar autoenxerto esponjoso na junção entre o aloenxerto cortical e o osso cortical do paciente, para acelerar o processo de consolidação óssea.

A utilização dos aloenxertos osteocartilagíneos criopreservados no membro superior é desde há muito tempo uma técnica com resultados demonstrados. No entanto, no membro inferior e sob o ponto de vista radiológico, os resultados a médio prazo não são tão favoráveis.

chondral sequence is very similar to what occurs during skeleton formation in the embryo, in bone ontogenesis, the long bone growth and bone fracture repair. The calcium content of the demineralized allograft or DBM is 1% of that obtained in the same type of bone that is not demineralised; that is to say, the allograft is almost completely demineralised.

Demineralised bone has osteoinductive properties. The size of the demineralized allografts should not be less than 75µm–2mm because otherwise it will unleash an inflammatory reaction that inhibits the inductive response. Demineralized grafts do not have physical support capacity and are more porous than cancellous bone. For these reasons, demineralised bone has weak osteoconductive properties [8,13,14,17].

As regards the mechanical resistance of bone allografts, this depends upon the state of incorporation. According to Enneking (1975) [6,9,21], necrotic bone has a resistance that is identical to that of living bone. The mechanical properties are altered by the apposition of the new bone and resorption of the graft. While cancellous bone resistance gradually increases with new bone apposition, cortical allograft resistance temporarily decreases, as the resorption phase is more intense than the apposition phase. Resistance may reduce by half between 6 and 18 months, which may explain the occurrence of fatigue fractures at this stage. On the other hand, the existence of necrotic bone in the middle of cortical bone does not alter the allograft's resistance.

FACTORS AFFECTING THE INCORPORATION OF BONE ALLOGRAFTS

The incorporation of bone allografts may be affected by metabolic changes, the stability of the focus, the part of the body, the presence of "live" osteogenic cells and immunological phenomena.

Metabolic alterations resulting from the organism's nutritional status and the vascular quality of the receptor bed may influence the incorporation of bone graft, as they determine the cellular differentiation of multipotential mesenchymal cells in osteoblasts, chondroblasts and fibroblasts. The stability of the focus is a determining factor for the formation of blood vessels from tissues to the bone graft. However, the clinical success of the graft will be determined by osteosynthesis quality.

The part of the body where the injury has occurred also affects the final outcome. There are some anatomical areas (such as the humerus) that have a higher rate of

A fraca sobrevivência dos condrócitos após a congelação explica estes resultados. Deste modo, é preferível aplicar aloenxertos osteocartilagíneos frescos, isto é, aplicados até às 72 horas após a respectiva colheita. A segurança deste procedimento pode ser comparável à da transplantação de órgãos frescos maciços vascularizados.

O osso cortical desmineralizado foi usado pela primeira vez em 1889 por Le Dentu e por Senn. A partir de 1965, registou-se um maior interesse na sua aplicação clínica, graças aos trabalhos desenvolvidos por Urist, que mostrou a formação de osso novo através de um processo de ossificação endocondral. Esta sequência endocondral é muito semelhante ao processo que ocorre na formação embrionária do esqueleto, na ontogénese óssea, no crescimento dos ossos longos e na reparação das fracturas ósseas. O teor de cálcio do aloenxerto desmineralizado ou "DBM" é de 1% do valor obtido no mesmo tipo de osso não desmineralizado, isto é, o aloenxerto apresenta praticamente uma desmineralização total.

O osso desmineralizado tem capacidade osteoindutora. As dimensões dos aloenxertos desmineralizados não devem ser inferiores a 75µm-2mm porque desencadeiam uma reacção inflamatória que inibe a resposta indutora. Os enxertos desmineralizados não oferecem capacidade física de suporte e apresentam uma menor porosidade do que o osso esponjoso. Por estas razões, o osso desmineralizado tem fracas propriedades osteocondutoras [8,13,14,17].

No que diz respeito à resistência mecânica dos aloenxertos ósseos, esta depende do estágio da sua incorporação. Segundo Enneking (1975) [6,9,21], o osso necrótico tem uma resistência idêntica à do osso vivo. As qualidades mecânicas são alteradas pela aposição de osso novo e reabsorção do enxerto. Enquanto que a resistência do osso esponjoso aumenta progressivamente com a aposição de osso novo, a resistência do aloenxerto cortical diminui temporariamente, uma vez que a fase de reabsorção é mais intensa do que a fase de aposição. A resistência pode diminuir para metade entre os 6 meses e os 18 meses. Este facto pode explicar a existência de fracturas de fadiga nesta fase. Por outro lado, a existência de osso necrótico no meio de osso cortical não altera a resistência do aloenxerto.

FACTORES QUE PODEM MODIFICAM A INCORPORAÇÃO DOS ALOENXERTOS ÓSSEOS

As alterações metabólicas, a estabilidade do foco, a zona anatómica, a presença de células osteogénicas

pseudarthroses and graft resorptions, which may be explained by insufficient mechanical compression forces. On the other hand, the importance of the presence of "live" osteogenic cells has long been recognised as contributing to bone incorporation [8,6]. Only in fresh bone autograft does the cellular line play an important role in osteogenesis.

Immunological factors are also important for the bone incorporation process [9,21]. After the application of a bone graft, there is an intense inflammatory reaction that is very rich in macrophages and lymphocytes [8,12]. The main antigens are found on the surface of bone marrow cells. Cancellous bone grafts cause a much more important inflammatory response than cortical grafts, because they are much richer in cells (Friedlaender. 1983). Demineralized bone matrix (DBM) has less antigen capacity, although it may unleash an immune response (Elves) [8].

CLINICAL APPLICATIONS OF BONE ALLOGRAFTS

Traumatic bone fractures occupy an important role in Orthopedics due to their high incidence and morbidity rates. Most of these lesions are today treated surgically, using various types of osteosyntheses. However, the complexity of the fracture, presence of bone defects, delayed healing and pseudarthroses may require the application of bone allografts. Although an autograft from the iliac crest is still the standard type of bone graft, the morbidity associated with its harvesting and the conditions of clinical application, particularly in children and the elderly, have led orthopedic surgeons to seek other methods.

Bone defects may be classified into three types according to size: small (<2.5 cm), moderate (>2.5 and <5 cm) and extensive (>5 cm) [7,8]. Small defects, which are the most common in Traumatology, may be resolved with a cancellous bone autograft or the use of synthetic bone substitutes (hydroxyapatite, bioactive glass or coral). In cases with moderate bone defects, the isolated use of cancellous autograft is limited, and it is necessary to associate bone allografts and/or natural or synthetic bone substitutes in order to increase the bone mass volume. There are few scientific objections to the use of allografts or alternative techniques with extensive defects.

There is growing demand for allografts for the surgical reconstruction of musculoskeletal injuries, such as for the osteosynthesis of fractures, treatment of their complications (delayed healing, pseudarthroses), knee ligament reconstruction, limb and spine arthrodesis, and addition

“vivas” e fenómenos de índole imunológica são factores que podem alterar a incorporação dos aloenxertos ósseos.

As alterações metabólicas que resultam do estado nutricional do organismo e da qualidade vascular do leito receptor podem influenciar a incorporação do enxerto ósseo, uma vez que determinam a diferenciação celular das células mesenquimatosas pluripotenciais em osteoblastos, condroblastos e fibroblastos. A estabilidade do foco é determinante para a formação de vasos sanguíneos a partir dos tecidos em direcção ao enxerto ósseo. Por outro lado, a qualidade da osteossíntese é um factor determinante para o sucesso clínico do enxerto.

A região anatómica da lesão influencia também o desempenho final do enxerto. Assim, em algumas zonas anatómicas (por exemplo o úmero) regista-se uma maior taxa de pseudoartroses e reabsorções do enxerto, que pode ser explicada por uma insuficiência de forças de compressão mecânica. Por outro lado, tem sido discutida desde sempre a importância da presença de células osteogénicas “vivas” para o bom desenvolvimento da incorporação óssea [8,6]. Só no autoenxerto ósseo fresco é que a linha celular tem um papel importante para a osteogénese.

Os fenómenos imunológicos têm igualmente um papel de relevo no processo da incorporação óssea [9,21]. Após a aplicação de um enxerto ósseo, há uma reacção inflamatória intensa muito rica em macrófagos e linfócitos [8,12]. Os principais antigénios encontram-se na superfície das células da medula óssea. Os enxertos ósseos esponjosos determinam uma resposta inflamatória muito mais importante do que os enxertos corticais, porque os primeiros são muito mais ricos em células (Friedlaender, 1983). A matriz óssea desmineralizada (“DBM”) tem uma menor capacidade antigénica, embora possa desencadear uma resposta imunitária (Elves) [8].

APLICAÇÕES CLÍNICAS DE ALOENXERTOS ÓSSEOS

As fracturas ósseas traumáticas ocupam um lugar de relevo em Ortopedia devido à sua elevada incidência e morbidade. A maioria destas lesões têm, actualmente, indicação cirúrgica, usando-se para isso tipos vários de osteossínteses. No entanto, a complexidade da fractura, os defeitos ósseos presentes, os atrasos de consolidação e as pseudoartroses podem requerer a aplicação de aloenxertos ósseos. Apesar de o autoenxerto da crista ilíaca representar o enxerto ósseo de referência, a morbidade associada à sua colheita e os condicionalismos ligados à sua aplicação na clínica, nomeadamente nas crianças e nos

osteotomies in the degenerative knee, amongst others. It is hoped that the effective use of autografts may be extended to more situations, such as the treatment of atrophic pseudarthroses in the diaphysis and delayed healing of solid allografts at the junction between the graft and primitive bone.

Cancellous allograft in the form of granules is indicated in the treatment of traumatic bone fractures, delayed healing and pseudarthroses, for the filling of bone defects in periprosthetic fractures (hip and knee), as an osteoconductive material.

Demineralised cortical bone is indicated in similar situations to cancellous bone. However, it has osteoconductive and osteoinductive properties, due to the presence of morphogenetic proteins (BMPs).

Solid cortical allograft, for its part, has a structural capacity and may function as a biological plate. It is particularly suitable for the cortex reinforcement in the long bones and for the reconstruction of extensive bone substance losses.

The clinical success of the bone allograft depends upon the patient's general state of health, local trophic conditions, the amount of bone substance loss, the technical resources available, the surgical technique used, mechanical conditions achieved and upon the experience, ambitions and personal convictions of the surgeon.

The Orthopedics Department at Coimbra University Hospital has had a Bone Bank since 1982. This was reorganised in 1994, when the structural conditions were created to enable it to acquire national reach, satisfying the demand for grafts from other Portuguese hospitals and health institutions.

Between 1982 and 2007, the Tissue Bank of the Coimbra University Hospitals provided 5231 allografts for clinical application (Graph I). 1078 were used between 1994 and 2006 for the osteosynthesis of traumatic bone fractures and the treatment of resulting complications (500 granulated cancellous grafts, 480 decalcified cortical allografts in small fragments and 98 solid grafts).

These grafts were used in the auxiliary treatment of 420 clinical cases of traumatic bone fractures and fracture complications (delayed healing in traumatic limb fractures, pseudarthroses of limbs, periprosthetic fractures of the hip and knee, arthrodeses in limb fractures, loss of bone substance). The topography is as follows: 290 located in the femur; 84 in the tibia; 32 in the humerus and 14 in the radius. Injuries of the distal tip of the femur accounted for the majority of allograft applications.

idosos, levou os cirurgiões ortopedistas a procurar métodos alternativos.

Os defeitos ósseos podem ser classificados, quanto à dimensão, em três tipos: pequenos (<2,5 cm), moderados (>2,5 e <5 cm) e extensos (>5 cm) [7,8]. Os pequenos defeitos, os de maior incidência em Traumatologia, podem ser solucionados com autoenxerto esponjoso ou com substitutos ósseos sintéticos (hidroxiapatite, biovidro ou biocoral). Nas situações de defeitos ósseos moderados, o uso isolado de autoenxerto esponjoso está limitado, sendo necessário associar aloenxertos ósseos e/ou substitutos ósseos naturais ou sintéticos, por forma a aumentar o volume da massa óssea. Nos defeitos extensos, o uso de aloenxertos ou de técnicas alternativas não levanta grandes objeções científicas.

Existe uma cada vez maior procura de aloenxertos para a reconstrução cirúrgica de lesões do sistema musculoesquelético, de que são exemplos, a osteossíntese de fracturas, o tratamento das suas complicações (atrasos de consolidação, pseudoartroses), a reconstrução ligamentar do joelho, as artrodeses dos membros e coluna e as osteotomias de adição no joelho degenerativo, para além de

To our knowledge, there are no other studies in the literature with so large a series.

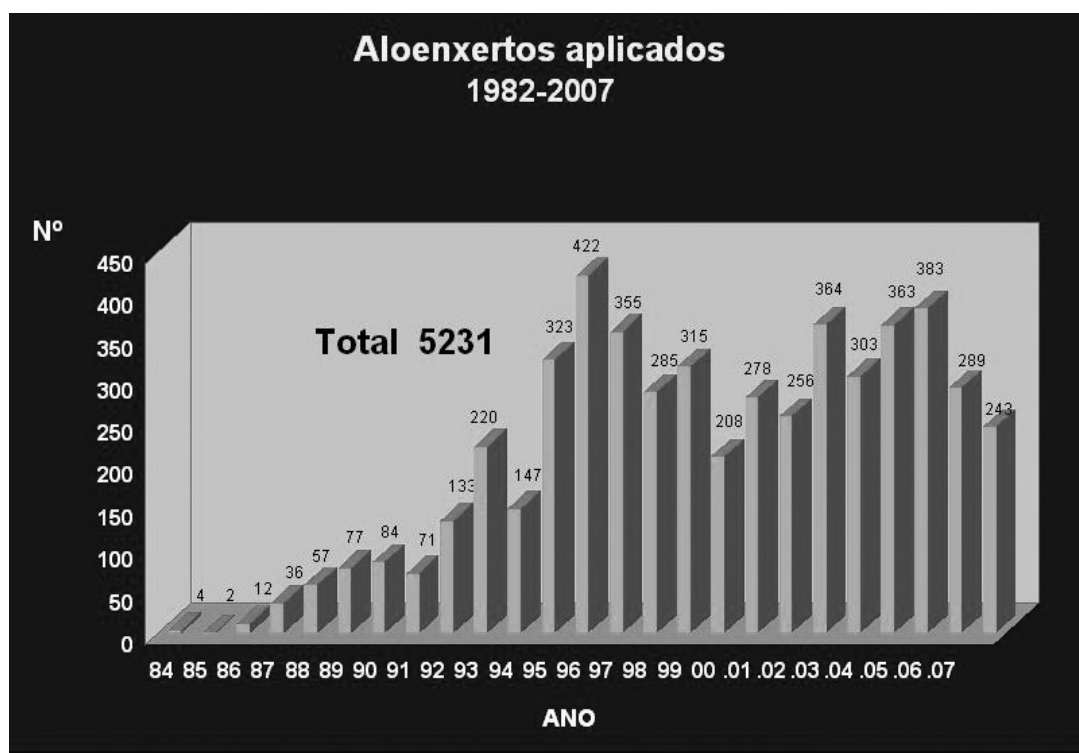
There were no confirmed cases of infection associated to the allograft, nor any cases of transmission of viral diseases. Healing of traumatic bone fractures was achieved between 3 and 6 months, with an average healing time of 4 months. There was partial resorption of the graft in 21 cases (5%), which may be directly correlated with deficient vascular conditions in the receptor bed and surgical technique.

CONCLUSIONS

The application of bone allograft in the osteosynthesis of bone fractures and the treatment of resulting complications is a safe procedure that gives satisfactory results.

Its indications are closely dependent upon the "personality" of the fracture and local trophic conditions, in addition to other factors.

Bone allograft is the human biomaterial most frequently transplanted after blood.



Gráfico/Graph I. Casuística do Banco de Tecidos dos HUC: foram disponibilizados 5231 aloenxertos do aparelho locomotor no período decorrido entre os anos 1982 e 2007/ Statistics from Coimbra University Hospital Tissue Bank: 5231 allografts for the locomotor apparatus were provided between 1982 and 2007.

outras. Pretende-se que os autoenxertos tenham, cada vez mais, indicações electivas, como sejam, no tratamento de pseudartroses atroficas em sítio diafisário e de atrasos de consolidação de aloenxertos maciços na junção entre o enxerto e o osso primitivo.

O aloenxerto de esponjoso sob a forma de grânulos está indicado no tratamento de fracturas ósseas traumáticas, atrasos de consolidação e pseudoartroses, no preenchimento de defeitos ósseos em fracturas periprotéticas (anca e joelho), na condição de material osteocondutor.

O osso cortical desmineralizado tem indicações semelhantes às do osso esponjoso. Todavia, apresenta capacidade osteocondutora e osteoindutora, sendo esta última devida à presença das proteínas morfogenéticas (“BMPs”).

Por sua vez, o aloenxerto cortical maciço tem capacidade estrutural, pode funcionar como uma placa biológica, estando particularmente indicado no reforço da cortical dos ossos longos e na reconstrução de grandes perdas de substância óssea.

O sucesso clínico de um aloenxerto ósseo depende da condição geral do doente, das condições tróficas locais, da dimensão da perda de substância óssea, dos recursos técnicos disponíveis, da técnica cirúrgica aplicada, das condições mecânicas conseguidas e, ainda, da experiência, ambições e convicções pessoais do cirurgião.

O Serviço de Ortopedia dos Hospitais da Universidade de Coimbra (H.U.C.) dispõe, desde 1982, de um Banco de Ossos. Este Banco de Ossos foi reorganizado em 1994, tendo sido criadas as condições estruturais necessárias para que adquirisse um carácter nacional e, assim, satisfazer os pedidos de enxertos de outros hospitais e instituições de saúde nacionais.

No período compreendido entre 1982 e 2007, o Banco de Tecidos dos HUC disponibilizou 5231 aloenxertos para aplicação clínica (Gráfico I). Dentre estes e no período compreendido entre 1994 e 2006, 1078 foram aplicados na osteossíntese de fracturas traumáticas e no tratamen-

to de complicações de fracturas 500 enxertos esponjosos granulados, 480 aloenxertos corticais descalcificados em pequenos fragmentos e 98 enxertos maciços.

Estes enxertos foram aplicados no tratamento complementar de 420 casos clínicos de fracturas ósseas traumáticas e de complicações de fracturas (atrasos de consolidação de fracturas dos membros, pseudartroses dos membros, fracturas peri-protéticas da anca e joelho, artrodeses em fracturas dos membros, perdas de substância óssea). Estas situações clínicas apresentaram a seguinte topografia: 290 localizaram-se no fémur, 84 na tíbia, 32 no úmero e 14 no rádio. As lesões situadas no terço distal do fémur representaram a causa mais frequente da aplicação dos enxertos.

Tanto quanto sabemos, não existem na literatura trabalhos que mostrem, neste domínio, uma casuísta clínica tão alargada

Não foram confirmados casos de infecção associada ao aloenxerto, nem qualquer caso de transmissão de doenças virais. A consolidação das fracturas ósseas traumáticas foi conseguida entre os 3 e os 6 meses, com um tempo médio de consolidação de 4 meses. A reabsorção óssea do aloenxerto foi verificada em poucos casos (21), mostrando correlação directa com as condições vasculares do leito receptor e a técnica cirúrgica usada.

CONCLUSÕES

A aplicação de aloenxertos ósseos na osteossíntese de fracturas e no tratamento das suas complicações é um procedimento seguro e com resultados satisfatórios.

As suas indicações estão estreitamente dependentes, para além de outros factores, da “personalidade” da fractura e das condições tróficas locais.

O aloenxerto ósseo é o biomaterial de origem humana mais frequentemente transplantado, logo a seguir ao sangue.

BIBLIOGRAFIA/REFERENCES

1. Aurori B.F., Wejerman RJ, Lowell MA et al.: Pseudarthrosis after spinal fusion for scoliosis. A comparison of autogenic and allogeneic bone grafts. *Clin Orthop.* 1985; 199:153-158
2. Delloye C. H., Hebrant A., Coutelier I.: Osteoinduction in twelve year preserved HCl-decalcified bone alloimplants. (Letter to the editor) *Clin. Orthop.*, 1986, 205, 309-310
3. Delloye C. H., N. Allington, N. Munting, a. VincenT: L'os de Banque lyophilise, technique et résultats après trois années d'utilisation. *Acta Orthopaedica Belgica*, Tome 53, Fasc. 1, 1987, 1, 4, 5-7
4. Delloye, Christian Md, Phd; Banse, Xavier MD, PHD; Brichard, Benedicte MD, PHD; Docquier, Pierre-Louis MD; Cornu, Olivier MD: Pelvic Reconstruction with a Structural Pelvic Allograft After Resection of a Malignant Bone Tumor. *Journal of Bone & Joint Surgery - American Volume.* 89-A(3):579-587, March 1, 2007.
5. Dimar, John R. MD; Glassman, Steven D. MD, PHD: The Art of Bone Grafting. *Contemporary Spine Surgery.* 9:1-7, January 2008.
6. Duparc J, f. Bonnel, b. Loty, f. Langlais: 42 Conférences d'Enseignement 1992. *cahiers d'enseignement de la SOFCOT*, 211-216, 220-222.

7. Farfalli, German L MD; Buttaro, Martin A MD; Piccaluga, Francisco MD: Femoral Fractures in Revision Hip Surgeries with Impacted Bone Allograft. *Clinical Orthopaedics & Related Research*. 462:130-136, September 2007.
8. Judas F.: Contribuição para o estudo de enxertos ósseos granulados alógenos e de biomateriais. 2002. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.
9. Judas F, Teixeira L, Proença A.: Coimbra University Hospitals bone and Tissue bank: 22 years of experience. *Transplantation Proceedings*. 2005; 37(6): 2799-801.
10. Judas F, Figueiredo M H., Cabrita A M S, Proença A.: Incorporation of impacted morselized bone allografts in rabbits. *Transplantation Proceedings*. 2005; 37(6): 2802-4.
11. Kounine, Melissa M; Maheshwari, Aditya V; Pitcher, J David; Temple, H Thomas: Bone allograft in limb reconstruction. *Current Opinion in Orthopedics*. 18(6):579-589, November 2007.
12. Kuhn, Michael A. Md; Ross, Glen MD: Anterior Cruciate Ligament Reconstruction Using Tibialis Allograft and Cross Pin Fixation. *Techniques in Knee Surgery*. 5(2):80-86, June 2006.
13. Malinin, Theodore MD; Temple, H. Thomas MD; Buck, Bill E. MD: Transplantation of osteochondral allografts after cold storage. *Journal of Bone & Joint Surgery - American Volume*. 88-A(4):762-770, April 2006.
14. Migaud H, Jardin C, Fontaine C, Pierchon F, D'herbomez O, Duquennoy A: Rescellement fémoral par tige cimentée avec reconstruction par allogreffes spongieuses impactées et protégées par un treillis métallique. *Rev Chir, Orthop*, 1997, 83, 360-367.
15. Noguchi and all. : Repair of osteochondral defects with grafts of cultured chondrocytes. Comparaison of allografts and isografts. *Clin Orthop* 1994 May; :251-8
16. O. Cornu, V. Druetz, C. Delloye: Interet d'une Banque de Tissus en chirurgie orthopedique. *Maîtrise Orthopédique*, 154, May 2006
17. Ottolenghi, C. E.: Massive osteo and osteo-articular bone grafts. Technic and results of 62 cases. *Clin. Orthop*, 1972 87, 156-164.
18. Parrish F. F.: Treatment of bone tumors by total excision and replacement with massive autologous and homologous grafts. *J. Bone Joint Surg*, 1966, 48A, 968-990
19. Trancik T. M., Stulberg B., M., Wide A. M., Feiglin D. M.: Allograft reconstruction of the acetabulum during revision total hip arthroplasty. *J. Bone Joint Surg*, 1986, 68A, 527-533.
20. Ver Bruggen et coll. Human meniscal proteoglycan metabolism in long-term tissue culture. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1996; 4:57-63
21. Verdonk: Alternative treatments for meniscal injuries. *JBJS B* 1997 Sept; 79 :866-73
22. Verdonk: Chirurgie réparatrice des ménisques du genou. *Cahiers d'Enseignement de la SOFCOT. Conférences d'enseignement* 1997, 269-280.