

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**UTILIZAÇÃO DE MEMBRANA BIOSINTÉTICA DE CELULOSE EM
TROCLEOPLASTIA EXPERIMENTAL EM CÃES**

LUCIANA SANTINI IAMAGUTI

Botucatu –SP
Fevereiro 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**UTILIZAÇÃO DE MEMBRANA BIOSINTÉTICA DE CELULOSE EM
TROCLEOPLASTIA EXPERIMENTAL EM CÃES**

LUCIANA SANTINI IAMAGUTI

Dissertação apresentada junto ao Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária para
obtenção do título de Mestre

Orientadora: Prof^a. Ass. Dr^a. Cláudia Valéria Seullner Brandão

Botucatu –SP
Fevereiro 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Iamaguti, Luciana Santini.

Utilização de membrana biossintética de celulose em trocleoplastia experimental em cães / Luciana Santini Iamaguti. – 2007.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2007.

Orientador: Cláudia Valéria Seullner Brandão

Assunto CAPES: 50501003

1. Cão - Cirurgia 2. Regeneração

CDD 636.70897

Palavras-chave: Trocleoplastia; Membrana biossintética à base de celulose; Regeneração tecidual guiada; Cão

Aos meus pais, exemplos de luta
e sacrifício, pela vida e por terem
me indicado o caminho.

À minha irmã Ana Paula pelo
apoio e amizade.

À minha sobrinha Luana pelo
carinho e momentos de
descontração.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me iluminado e estado comigo em todos os momentos da minha vida.

A minha orientadora, Prof.^a Ass. Dr.^a Cláudia Valéria Seullner Brandão, por ser um exemplo profissional e melhor pessoa, exemplo de conduta, cuja orientação permanente, amizade incondicional e apoio dispensado durante nosso convívio permitiram a realização deste trabalho.

Ao Laboratório Ouro Fino pela doação do Maxicam[®].

Ao Prof. Younes Messadeq do Departamento de Química Geral e Inorgânica - Instituto de Química – UNESP - Araraquara, pelo apoio fundamental quanto à disponibilização da membrana biossintética de celulose.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FMVZ – UNESP Campus de Botucatu pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho.

A CAPES, pelo auxílio financeiro.

A Fundunesp, pelo auxílio pesquisa.

À Prof^a. Ass. Dr^a. Claudia Helena Pellizzon do Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências de Botucatu pelo auxílio e ensinamentos na área de histologia e morfometria.

Aos funcionários do Laboratório de Oftalmologia Experimental da Faculdade de Medicina da UNESP - Campus de Botucatu, Marta Regina Russo de Sarzi e Vitor Marcos de Souza, pelo auxílio no processamento histológico do material.

Aos docentes do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da FMVZ – UNESP Campus de Botucatu pela amizade, ensinamentos e apoio durante esses dois anos de convívio.

Ao doutorando Bruno Watanabe Minto pelo auxílio fundamental na realização dos procedimentos cirúrgicos e anestésicos, dos animais utilizados no experimento.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, em especial à Léo, Maria Clara e Ana, pela colaboração nos cuidados com o material cirúrgico.

Aos docentes do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ – UNESP Campus de Botucatu, em especial à Prof^a. Ass. Dr^a. Maria Jaqueline Mamprim, por permitir a realização dos exames radiográficos e interpretação destes.

À residente Daniela Catarino Gomes, pela realização dos exames radiográficos.

Ao mestrando Leandro Teixeira, pelo auxílio nos estudos em histologia.

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Padovani, do Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências de Botucatu, pela realização das análises estatísticas.

Ao funcionário Luis, pela limpeza do canil e tratamento dos animais do experimento.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação pela atenção e disponibilidade.

À Bibliotecária Selma Maria de Jesus pela confecção da ficha catalográfica.

Aos amigos da Pós-Graduação pela convivência e por compartilharem seus conhecimentos.

A todos os alunos e estagiários que auxiliaram na realização das cirurgias.

Aos amigos Luciana Manoel e Gustavo Leme, pelo auxílio com o computador, e Felipe Coine, pelas imprescindíveis explicações de Odontologia, que muito me esclareceram para a realização deste trabalho.

Aos animais, quero especialmente agradecer-lhes por suas valiosas contribuições na pesquisa experimental.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho.

IAMAGUTI, L.S. Utilização de membrana biossintética de celulose em trocleoplastia experimental em cães. Botucatu, 2007. 99p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicação de membrana biossintética de celulose (MBC) nacional, após a realização de trocleoplastia experimental em cães, com intuito de verificar se o uso desta poderia favorecer a migração de células com potencial condrogênico, assim como ocorre no tecido ósseo. A evolução pós-operatória dos cães foi analisada com especial interesse nos processos de reparação frente ao defeito osteocondral, estabelecendo as vantagens e desvantagens do uso do biomaterial. Foram utilizados 12 cães (*Canis familiaris*) adultos, sadios e sem alterações no aparelho locomotor. Todos os animais foram submetidos ao procedimento de trocleoplastia bilateral, sendo que a MBC foi aplicada no membro esquerdo. Os animais foram avaliados clínica e radiograficamente aos 15, 30, 60 e 90 dias de pós-operatório. A função locomotora do membro foi avaliada em escores pré-definidos, nos referidos momentos. A avaliação macroscópica da articulação foi realizada, nos momentos pré-estabelecidos, seguida da artrotomia exploratória, bem como da coleta de biópsia para o exame microscópico. Todos os animais apresentaram função normal dos membros nos momentos avaliados. Não houve diferença clínica e radiográfica entre os grupos controle (GC) e tratado (GT). Na avaliação histopatológica, aos 30 dias, notou-se intensa celularidade em ambos os grupos, sendo que no GC esta era constituída por fibroblastos ativos e no GT por condrócitos imaturos, formando um tecido conjuntivo mais organizado. O GC apresentava fibrose e muitos fibroblastos aos 60 dias, enquanto o GT apresentava maior número de condrócitos. Aos 90 dias, constatou-se

formação de tecido do tipo fibrocartilaginoso maduro em ambos os grupos. Histomorfometricamente, o GT apresentou melhor resposta ao processo de reparação nos momentos iniciais quanto ao número de células e espessura do tecido. A MBC não promoveu efeitos deletérios, apresentando boa adaptação em ambiente intra-articular. O biomaterial acelerou o processo de reparação inicial da região da trocleoplastia constatado macro e histomorfometricamente, apresentando boa integração do tecido neoformado com a cartilagem adjacente. A MBC, como elemento isolado, não foi efetiva para promover a reparação da cartilagem articular.

Palavras-chave: Trocleoplastia, Membrana bio sintética à base de celulose, Regeneração Tecidual Guiada, Cão.

IAMAGUTI, L.S. Use of the biosynthetic cellulose membrane in experimental trochleoplasty in dogs. Botucatu, 2007. 99p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the application of national biosynthetic cellulose membrane after experimental trochleoplasty, to verify if its utilization could support chondrogenic cells migration like occurs in osseous tissue. The advantages and disadvantages of the use of this biomaterial were evaluated through the observation of the reparative process of the osteochondral injury. Twelve adult healthy dogs (*Canis familiaris*) were used. All dogs were submitted to trochleoplasty in both pelvic limbs and the biosynthetic cellulose membrane was applied in the left limb. Clinical and radiographic evaluation was performed at 15, 30, 60 and 90 postoperatively. The locomotor function of the limb was evaluated in scores on the different moments. The joint macroscopic evaluation was performed before exploratory arthrotomy and biopsy for microscopic exam. All dogs showed normal function of the limbs in all different moments. Radiographic results showed no difference in control (CG) and treated groups (TG). Microscopic results showed at 30 days an increase of the cellularity in both groups was observed. In the CG it was constituted by active fibroblasts and in TG by immatures chondrocytes forming a more organized connective tissue. In the CG a fibrous tissue and many fibroblasts appear at 60 days and in the TG more chondrocytes appear. A mature fibrocartilaginous tissue formed in both groups at 90 days. Histomorphometrically, TG presents better response of repair process in the first moments as the number of cells and the tissue thickness. The biosynthetic cellulose membrane didn't cause deleterious effects showing good adaptation in intrarticular environment. The biomaterial accelerated the initial repair process on the trochleoplasty area on the macroscopic and histomorphometric

evaluation showing good integration between new tissue and the adjacent cartilage. The biosynthetic cellulose membrane alone wasn't effectiveness for the articular cartilage repair.

Key words: Trochleoplasty, Biosynthetic cellulose membrane, Guided Tissue Regeneration, Dog.

Lista de ilustrações

Páginas

Figura 1: Deslocamento medial da patela para exposição do sulco troclear.....	47
Figura 2: Aprofundamento do sulco troclear com o auxílio de uma pinça goiva.....	47
Figura 3: Utilização de lima para uniformizar a região da trocleoplastia e facilitar o deslizamento da patela.....	47
Figura 4: Fixação da membrana biossintética de celulose com fio absorvível sintético 6-0.....	48
Figura 5: Sutura da cápsula articular e retináculo em pontos tipo Sultan, com fio mononáilon 3-0.....	48
Figura 6: Sutura da pele com pontos simples separados.....	48
Figura 7: Animal 7 (A7), aos 15 dias do pós-operatório, apresentando aumento de volume moderado em joelho esquerdo.....	52
Figura 8: Animal 3 (A3), observar deiscência total dos pontos de pele aos 15 dias do pós-operatório.....	52
Figura 9: Animal 11 (A11) apresentando apoio dos membros pélvicos 24 horas após o procedimento cirúrgico.....	52
Figura 10: Imagem radiográfica da articulação do joelho direito do A6 aos 90 dias. Ausência de alterações.....	56
Figura 11: Imagem radiográfica da articulação do joelho esquerdo do A6 aos 90 dias. Ausência de alterações.....	56

Figura 12: Imagem radiográfica da articulação do joelho do A1 aos 30 dias. A proliferação de osteófitos se intensificou em região dorsal da patela (setas).....	56
Figura 13: Imagem radiográfica da articulação do joelho do A3 aos 15 dias. Observar reabsorção do osso subcondral (seta).....	56
Figura 14: Região da sutura da cápsula articular do A2, 15 dias após o procedimento cirúrgico, apresentando proliferação fibrosa cicatricial.....	59
Figura 15: Região da trocleoplastia do GT aos 15 dias do pós-operatório (A2). Observar tecido de reparação com aspecto esbranquiçado (seta).....	59
Figura 16: Região da trocleoplastia do GC aos 15 dias do pós-operatório (A2).....	59
Figura 17: Região da trocleoplastia do GT aos 60 dias do pós-operatório (A7). Observar continuidade do tecido de reparação (seta).....	60
Figura 18: Região da trocleoplastia do GC aos 60 dias do pós-operatório (A7). Observar áreas de irregularidade no tecido de reparação e cartilagem normal adjacente (seta).....	60
Figura 19: Região da trocleoplastia do GT aos 90 dias do pós-operatório (A8). Observar superfície irregular do tecido de reparação (seta).....	60
Figura 20: Região da trocleoplastia do GT aos 90 dias do pós-operatório (A5). Observar superfície regular do tecido de reparação.....	60
Figura 21: Corte da região central do sulco troclear do cão. Cartilagem hialina normal (HE, 40x) c = condrócitos.....	66
Figura 22: Corte da região central do sulco troclear do cão. Cartilagem hialina normal (Tricômio de Masson, 10x) c = condrócitos.....	66

- Figura 23:** Corte da região central da trocleoplastia do GT aos 15 dias. Camada delgada de fibrorcartilagem (fc) e fibrose intensa (HE, 40x)..... 66
- Figura 24:** Corte da região central da trocleoplastia do GC aos 30 dias. Intensa celularidade, constituída por fibroblastos ativos (fb), vascularização evidente (v) e fibrose menos intensa (HE, 40x)..... 67
- Figura 25:** Corte da região central da trocleoplastia do GT aos 30 dias. Intensa celularidade, com células de aspecto fusiforme (cf) na região superficial e com formato estrelado na profunda, semelhantes a condrócitos imaturos (ci). Vascularização menos intensa, sem fibrose. Tecido conjuntivo mais organizado (HE, 40x).....67
- Figura 26:** Corte da região central da trocleoplastia do GC aos 60 dias. Células justapostas (cj) na região superficial, além de muitos fibroblastos (fb) em região mais profunda; fibrose (HE, 40x)..... 67
- Figura 27:** Corte da região central da trocleoplastia do GT aos 60 dias. Maior número de células com formato de condrócitos (c), vascularização e células justapostas pouco evidentes (HE, 40x).....67
- Figura 28:** Corte da região central da trocleoplastia do GC aos 90 dias. Células justapostas (cj), presença de fibroblastos (fb) e condrócitos (c), sem fibrose; tecido de reparação do tipo fibrocartilaginoso maduro, vascularização menos evidente (HE, 40x)..... 68
- Figura 29:** Corte da região central da trocleoplastia do GT aos 90 dias. Células justapostas (cj), presença de fibroblastos (fb) e condrócitos (c), sem fibrose; tecido de reparação do tipo fibrocartilaginoso maduro, vascularização menos evidente (HE, 40x)..... 68
- Figura 30:** Corte da cápsula articular do GC, próximo a linha de incisão, aos 15 dias. Ausência de processo inflamatório (HE, 20x) tcd = tecido conjuntivo denso... 68

Figura 31: Corte da cápsula articular do GT, próximo a linha de incisão, aos 30 dias.
Ausência de processo inflamatório (HE, 20x) tcd = tecido conjuntivo denso... 68

Figura 32: Corte da cápsula articular do GC, próximo a linha de incisão, aos 90 dias.
Ausência de processo inflamatório (HE, 20x). cs = células sanguíneas.....69

Figura 33: Corte da cápsula articular do GT, próximo a linha de incisão, aos 90 dias.
Células sanguíneas; ausência de processo inflamatório (HE, 20x) cs = células
sanguíneas..... 69

Lista de quadros

Páginas

Quadro 1: Características histopatológicas da região da trocleoplastia com e sem o uso da MBC, nos diferentes momentos de avaliação.....	64
---	----

Lista de tabelas

Páginas

Tabela 1: Classificação da função locomotora dos membros posteriores.....	43
Tabela 2: Escore* de claudicação dos animais submetidos a trocleoplastia experimental, nos diferentes momentos (M) de avaliação.....	51
Tabela 3: Avaliação radiográfica da articulação do joelho quanto ao aprofundamento do sulco troclear imediatamente após a cirurgia e nos diferentes momentos (M) de avaliação.....	53
Tabela 4: Avaliação radiográfica da articulação do joelho quanto à manutenção do espaço articular imediatamente após a cirurgia e nos diferentes momentos (M) de avaliação.....	54
Tabela 5: Avaliação radiográfica da articulação do joelho quanto à proliferação de osteófitos na patela, imediatamente após a cirurgia e nos diferentes momentos (M) de avaliação.....	55
Tabela 6: Avaliação radiográfica da articulação do joelho quanto à reabsorção do osso subcondral, imediatamente após a cirurgia e nos diferentes momentos (M) de avaliação.....	55
Tabela 7: Avaliação macroscópica da região de trocleoplastia, nos diferentes grupos experimentais e momentos de avaliação (Ribeiro et al., 2004).....	58
Tabela 8: Mediana e amplitude interquartílica do número de células segundo o grupo experimental e momentos de avaliação.....	70
Tabela 9: Média e desvio padrão da espessura do tecido de reparação na região da trocleoplastia em micrometros segundo o grupo experimental e momentos de avaliação.....	72

Lista de gráficos

Páginas

Gráfico 1: Representação gráfica do número de células segundo o grupo experimental e momentos avaliados..... 71

Gráfico 2: Representação gráfica da espessura do tecido de reparação em micrometros segundo o grupo experimental e momentos avaliados..... 72

SUMÁRIO

	Páginas
Lista de ilustrações	
Lista de quadros	
Lista de tabelas	
Lista de gráficos	
Resumo	
Abstract	
1. Introdução.....	21
2. Revisão de Literatura.....	24
2.1 Anatomia articular.....	24
2.2 Processo de reparação da cartilagem.....	24
2.2.1 Resposta da cartilagem articular à lesões superficiais.....	26
2.2.2 Resposta da cartilagem articular à lesões profundas.....	27
2.3 Luxação de patela.....	28
2.4 Trocleoplastia.....	29
2.5 Regeneração Tecidual Guiada.....	30
2.6 Utilização de enxertos, biomateriais ou outros fatores com potencial condrogênico para reparação da cartilagem.....	31
2.7 Utilização da membrana bio sintética à base de celulose (MBC) na reparação tecidual.....	33
3. Objetivos.....	38
4. Material e Métodos.....	40
4.1 Animais e ambiente de experimentação.....	40

4.2 Grupos experimentais.....	40
4.3 Protocolo experimental.....	41
4.3.1 Procedimentos pré-operatórios.....	41
4.3.2 Procedimentos anestésicos.....	41
4.3.3 Procedimento cirúrgico.....	41
4.3.4 Procedimentos pós-operatórios.....	42
4.3.4.1 Condutas pós-operatórias.....	42
4.3.4.2 Avaliação clínica.....	43
4.3.4.3 Avaliação radiográfica.....	44
4.3.4.4 Avaliação macroscópica.....	44
4.3.4.5 Avaliação histomorfométrica.....	45
4.4 Análise dos resultados.....	46
4.5 Aspectos éticos.....	46
5. Resultados.....	50
5.1 Técnica cirúrgica.....	50
5.2 Avaliação clínica.....	50
5.3 Avaliação radiográfica.....	53
5.4 Avaliação macroscópica.....	57
5.5 Avaliação morfológica.....	61
5.5.1 Estrutura histológica da tróclea femoral normal.....	61
5.5.2 Histopatologia do sulco troclear dos animais operados.....	61
5.5.2.1 Tróclea femoral aos 15 dias.....	61
5.5.2.2 Tróclea femoral aos 30 dias.....	62
5.5.2.3 Tróclea femoral aos 60 dias.....	62
5.5.2.4 Tróclea femoral aos 90 dias.....	63

5.5.3 Histopatologia da cápsula articular.....	65
5.6 Análise morfométrica.....	70
5.6.1 Número de células.....	70
5.6.2 Espessura do tecido de reparação.....	71
6. Discussão.....	74
7. Conclusões.....	84
8. Referências.....	86

1. INTRODUÇÃO

A trocleoplastia consiste em uma das principais técnicas de correção cirúrgica para a luxação de patela em cães (Hulsen, 1981; Farias, 1995; Iamaguti et al., 1995; Fossum, 2002; Gareth & Sorrel, 2006). Contudo, a progressão da osteoartrite sugere que a biomecânica da articulação mantenha-se alterada mesmo após a cirurgia (Roy et al., 1992; Schöttle et al., 2005; Gareth & Sorrel, 2006). Um elemento estratégico para o sucesso na reparação de defeitos na superfície articular constitui a introdução de enxertos, biomateriais ou outros fatores de alto potencial condrogênico (Mow et al., 1991; Messner & Gillquist, 1993). Membranas biossintéticas apresentam boa aceitação pelo organismo, protegendo e auxiliando a reparação de áreas lesadas por permeabilidade seletiva, além de impedir a contaminação por microorganismos (Carvalho et al., 2003; Astan et al., 2004). Devido às dificuldades de obtenção, importação e conseqüentemente alto custo no Brasil com o uso de biopolímeros ou membranas biológicas, tornou-se evidente a necessidade de se buscar um material nacional que possa ser usado amplamente (Novaes Jr. et al., 1990; Novaes Jr. et al., 1993).

A aplicação de barreiras físicas com o objetivo de regenerar defeitos ósseos foi inicialmente descrito por Dahlin et al., no ano de 1988. O comprometimento do reparo ósseo ocorre pela união fibrosa no defeito ósseo, com invasão de fibroblastos no coágulo sangüíneo. Para que isto seja evitado, pode-se lançar mão de uma técnica cirúrgica que impeça que o coágulo sangüíneo ou a loja óssea sejam povoados por células indesejáveis, pela colocação de membranas ou barreiras físicas, favorecendo assim a migração de células com potencial osteogênico. Assim, impede-se que os fibroblastos colonizem o coágulo antes dos osteoblastos, que são mais lentos em sua função (Macedo et al., 2004). Alguns estudos *in vitro* vêm sendo desenvolvidos para verificar a atuação de membranas no tecido cartilaginoso,

como favorecedora para a migração de células com potencial condrogênico, assim como ocorre no tecido ósseo (Hunziker et al., 2001; Svensson et al., 2005).

A utilização de barreiras físicas com a finalidade de regenerar defeitos ósseos tem sido descrita na Literatura com o nome de Regeneração Tecidual Guiada (Novaes Jr. et al., 1993; Novaes Jr. et al., 2002; Macedo et al., 2004; Astan et al., 2004). Baseando-se nesta propriedade, surgiu a idéia de verificar se no tecido cartilaginoso articular, a colocação da membrana, também favoreceria a migração de células com potencial condrogênico, assim como ocorre no tecido ósseo.

Frente aos fatos acima citados, com o enfoque no processo de reparação da cartilagem, objetivou-se analisar a utilização de membrana biológica biossintética nacional, a base de celulose, em trocleoplastias experimentais, proporcionando um processo alternativo ainda não verificado em ambiente intra-articular.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia articular

As articulações sinoviais permitem movimento, ao mesmo tempo em que proporcionam estabilidade para a transferência de cargas entre os ossos (Fossum, 2002). A articulação do joelho representa uma articulação sinovial condilar complexa. A parte esferoidal principal é formada pelos côndilos femorais que articulam com os côndilos da tíbia, formando a articulação femorotibial e, livremente conectada a ela, está a articulação femoropatelar situada entre a patela e a tróclea do fêmur, sendo as duas articulações interdependentes (Miller et al., 1964). A superfície articular é formada por cartilagem hialina que reveste o osso subcondral subjacente. A matriz extracelular deste tecido é composta por colágeno, proteoglicanos, proteínas não-colágenas e água. Em articulações saudáveis, o espaço intrarticular é preenchido por fluido sinovial, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos (McIlwraith & Trotter, 1996).

2.2 Processo de reparação da cartilagem

A cicatrização consiste na restauração da integridade estrutural e funcional de um tecido, subsequente a uma lesão ou doença. A reparação da cartilagem, ou de qualquer outro tecido, usualmente tem um significado mais restrito, e consiste na reposição da lesão ou perda celular e matriz, por células e matriz novas (Mow et al., 1991). Contudo, a reparação não necessariamente restaura a estrutura e função original do tecido (Buckwalter, 2002).

A habilidade de um tecido em aumentar seu grau de velocidade de síntese de DNA e proteína deve ser levada em consideração. Independente do tipo de tecido envolvido, o processo de reparação é celular no sentido de que fibroblastos ou células específicas como os condrócitos sintetizam o material de reparo (Mankin, 1982). Todavia, deve-se levar em

consideração que condrócitos adultos apresentam pequeno potencial de replicação celular (Simon & Jackson, 2006).

A resposta reparativa usual de uma lesão é dividida em três fases distintas: necrose, inflamação e reparação (Mankin, 1982). Porém, no processo de reparação da cartilagem hialina, essa resposta é alterada devido à cartilagem ser avascular (Coutts et al., 2001; Simon & Jackson, 2006). A cartilagem passa pela fase de necrose, como qualquer outro tecido, na qual as células da região da lesão morrem e a matriz é lesada em graus variados, dependendo da extensão e tipo de trauma (Mankin, 1982). Como os condrócitos são relativamente insensíveis a hipóxia (Astan et al., 2004), provavelmente há morte celular em menor escala do que em relação a outros tecidos. A fase de inflamação, que é praticamente mediada pelo sistema vascular, está ausente. Não há extravasamento de sangue, bem como dilatação vascular, processos de transudação, exsudação e formação de hematoma. Fibrina não é produzida, portanto, esta que atua como suporte para o reparo tecidual está ausente. Considerando a terceira fase, reparação, a ausência das fases inflamatória e vascular limita o número de células capazes de responder ao trauma e, portanto, a reparação falha quanto aos condrócitos existentes, apesar dessas células serem capazes de sínteses ativas de DNA e aumento na atividade sintética da matriz (Mankin, 1982). Quando as lesões articulares atingem vasos sanguíneos do osso subcondral, células promotoras da reparação podem então ter acesso à lesão (Sellers, et al., 1997; Coutts et al., 2001; Van der Kraan et al., 2002). Estas células, infelizmente, não produzem um tecido consistente com uma composição única, estrutura e propriedade biomecânica da cartilagem articular normal (Sellers, et al., 1997; Simon & Jackson, 2006).

Próximo à maioria das lesões na cartilagem, células responsáveis pelo reparo destas, falham na produção de macromoléculas importantes (colágeno tipo II e IX e agregados de proteoglicanos), na organização destas moléculas em um arranjo estrutural apropriado e,

finalmente, falham na produção de uma estrutura fortemente aderente como aquela da cartilagem articular (Muir, 1983; Sellers, et al., 1997; Simon & Jackson, 2006), formando geralmente uma fibrocartilagem.

Cartilagem articular também necessita de células indiferenciadas dentro do tecido que possam migrar para o local da lesão, proliferar e participar da resposta ao reparo. O único tipo celular encontrado na cartilagem madura é o condrócito altamente diferenciado (Stockwell, 1978), sendo este revestido por uma densa e forte matriz extracelular; portanto, apresenta capacidade limitada de proliferação e migração para dentro do tecido (Coutts et al., 1997).

Condrócitos maduros no tecido podem também ter capacidade limitada de aumentar a síntese de matriz (Buckwalter & Mankin, 1998). Em cartilagem madura normal, condrcitos fazem a síntese de quantidades suficientes de colágeno e proteoglicanos para manter a matriz. Entretanto, eles não sintetizam matriz suficiente para reparar defeitos significativamente grandes no tecido (Kidd et al., 2001). Adicionalmente, com o aumento da idade, o tamanho dos proteoglicanos diminui e as moléculas tornam-se mais variáveis em tamanho (Roughly & White, 1980). As alterações na matriz de proteoglicanos decorrentes da idade afetam desfavoravelmente a organização da matriz, as propriedades materiais e talvez a síntese de condrcitos (Stockwell, 1978), reduzindo a capacidade de reparo do tecido. Portanto, um elemento estratégico para o sucesso na reparação de defeitos na superfície articular consiste na introdução de células e outros fatores com fortes potenciais condrogênicos (Messner & Gillquist, 1993).

2.2.1 Resposta da cartilagem articular à lesões superficiais:

Em lesões superficiais, a reação é caracterizada por tentativas fracassadas ou desapontadoras da cartilagem para adicionar componentes celulares e de matriz, os quais em

animais maduros são quase sempre ineficientes na cicatrização de defeitos (Campbell, 1978; Simon & Jackson, 2006).

Uma das prováveis teorias para explicar a ausência de cicatrização é possivelmente o efeito inibitório do proteoglicano na formação do coágulo, além da cartilagem ser um tecido avascular (Coutts et al., 2001; Simon & Jackson, 2006). Essa falha pode estar relacionada com a presença de ácido hialurônico (do líquido sinovial) ou, mais provavelmente, a proteoglicanos vindos da superfície lesada da matriz de cartilagem para cobrir as fibras de colágeno na superfície do defeito e evitar adesões celulares e formação de coágulo (Farkas et al., 1977). Portanto, é certo que lesões lacerativas na cartilagem articular que não penetram o osso subcondral, apresentam apenas um pequeno metabolismo e resposta enzimática, que falham em suprir com números suficientes de novas células e matriz, a reparação de um defeito mínimo. Todavia, essas lesões raramente progridem (Fossum, 2002).

2.2.2 Resposta da cartilagem articular à lesões profundas:

Lesões profundas causam alterações significativas à vascularização do osso subcondral, proporcionando uma resposta reparadora semelhante àquela observada nos tecidos vascularizados (Mitchell & Shepard, 1976). Afinal, o osso subcondral é excelente fonte de novos vasos sanguíneos que trazem células mesenquimais para a diferenciação e modulação em fibroblastos e condroblastos necessários para a fase de reparo, enquanto que os condrócitos residuais adjacentes não participam da reparação da lesão (Shapiro et al., 1993). Campbell (1978) defendeu que defeitos profundos que passam através da cartilagem articular e penetram no osso subcondral, imediatamente são preenchidos com sangue e, posteriormente, hematoma e fibrina. Com o surgimento de capilares na base da ferida, o coágulo de fibrina torna-se um tecido de reparação fibroblástico vascular (Fossum, 2002). Com a fibroplasia progressiva, a lesão é preenchida por uma rede fibrovascular, a qual

gradualmente torna-se mais celular e menos vascular. Esse tecido fibroso vascular une as bordas da ferida e permite a fusão com o novo osso subjacente na base. Na margem de alguns defeitos profundos, a cartilagem hialina restante mostra um breve aumento de atividade sintética. Entretanto, isto só é importante para repor algumas células e matriz destruídas pela ferida inicial, e é essencialmente uma resposta idêntica àquela vista após lesões superficiais.

De acordo com Mitchell & Shepard (1976) o tecido fibroso de reparação primário é convertido para um tecido condróide hialino, que mostra alta atividade mitótica e que é marcado pela presença de uma concentração crescente de proteoglicano. Contudo, após alguns meses esse tecido apresenta-se mais fibroso que cartilaginoso, com superfície fibrilada e a matriz subjacente densamente colagenosa (Campbell, 1978; Fossum, 2002). Além disso, o tecido reparador é mais delgado que a cartilagem articular, tendo propensão a fibrilação e alterações erosivas (Sellers et al., 1997; Simon & Jackson, 2006).

2.3 Luxação de patela

A luxação de patela é causa comum de claudicação de membros pélvicos em cães, podendo ser intermitente, lateral ou medial, traumática ou evolutiva (Popovitch & Nannos, 2000). A luxação medial é a mais freqüente em cães de pequeno porte e miniatura e, geralmente é congênita. Já em cães de grande porte ou de raças gigantes predomina a lateral, associada à deformidades do membro (Gareth & Sorrel, 2006).

Segundo Iamaguti (1995), uma das ocorrências da luxação patelar é a falha de profundidade do sulco troclear, sendo observado um achatamento da crista da tróclea na porção distal do fêmur que origina este sulco.

A perfeita coaptação entre a tróclea femoral e a patela é indispensável para assegurar uma adequada nutrição da cartilagem articular, evitando assim alterações degenerativas da mesma (Hulsen, 1981).

O tratamento desta afecção é cirúrgico, sendo citadas correções por meio de desmotomia medial, sobreposição da fáscia lata, sutura anti-rotacional tibial, liberação do quadríceps, artroplastias trocleares, patelectomia, transposição da crista da tíbia, osteotomias femoral ou tibial (Hulsen, 1981; Farias, 1995; Iamaguti et al., 1995; Fossum, 2002; Gareth & Sorrel, 2006). Apesar da variedade de técnicas cirúrgicas empregadas para o tratamento da luxação de patela, nenhuma delas proporciona uma completa solução do problema e nenhuma pode ser recomendada como superior às outras (Leighton, 1970; Gareth & Sorrel, 2006). Além disso, o agravamento da osteoartrite sugere que a biomecânica da articulação mantém-se anormal mesmo após a cirurgia (Roy et al., 1992).

2.4 Trocleoplastia

A trocleoplastia representa o método mais utilizado para o aprofundamento da tróclea femoral, e consiste na remoção da superfície articular e de um a dois milímetros de osso subcondral, mediante a utilização de diferentes instrumentos cirúrgicos como bisturi, pinça goiva, raspador ósseo e osteótomo (Farias, 1995; Fossum, 2002; Gareth & Sorrel, 2006).

Farias (1995) demonstrou que o aprofundamento do sulco troclear tem como finalidade a preparação de um leito adequado destinado a alojar a patela, permitindo seu deslizamento sobre a tróclea femoral, de maneira mais natural possível, evitando-se assim interferências com o funcionamento normal do mecanismo extensor do joelho, além de ser um procedimento de fácil e rápida execução, levando em média 20 minutos para sua realização.

Macroscopicamente, a superfície articular do sulco troclear aprofundado apresenta um delgado tecido cicatricial de aspecto translúcido, liso e brilhante (Silva et al., 1990). A histopatologia evidencia que a cartilagem hialina da superfície articular foi substituída por um tecido conjuntivo de estrutura delicada, rico em fibras colágenas, células e numerosos vasos

sanguíneos de diferentes diâmetros (Moore et al., 1989; Farias, 1995). Dessa forma, o processo reparador de uma lesão articular é produzido mediante fibrocartilagem. Para permitir a formação rápida de fibrocartilagem, a remoção de cartilagem articular deve ser efetuada até o sangramento do osso subcondral (Moore et al., 1989).

2.5 Regeneração Tecidual Guiada

O conceito biológico da Regeneração Tecidual Guiada (RTG) baseia-se na observação de que a cicatrização desejada pode ser alcançada pela criação de espaço segregado que será povoado pelo tipo celular capaz de regenerar o tecido que tenha sido perdido (Majzoub et al., 1999; Hunziker et al., 2001; Carvalho et al., 2003; Astan et al., 2004).

O tratamento utilizando a RTG envolve a colocação de barreira celular oclusiva sobre a lesão óssea, de modo que a proliferação de tecidos moles adjacentes para dentro da área protegida, seja evitada. Assim, permite-se que células com potencial osteogênico das margens ósseas existentes, invadam o espaço criado e produzam osso (Carvalho et al., 2003; Wikesjö et al., 2003; Astan et al., 2004).

Há vários fatores a serem considerados a respeito do material e estrutura da membrana que será usada na RTG. Além de ser biocompatível, ela deve ter a capacidade de criar e manter espaço adequado para suportar o volume do tecido neoformado (Oh et al., 2003). O selamento periférico entre a barreira e a superfície adjacente à área testada deve prevenir o crescimento de tecido conjuntivo externo e a soltura da membrana (Hunziker et al., 2001; Astan et al., 2004). Outro fator de importância é o grau de porosidade da barreira que irá influenciar o resultado da cicatrização (Lundgren et al., 1998), bem como se a membrana é absorvível (Lu, 2003) ou não-absorvível (Macedo et al., 2003), e possui facilidade de aplicação.

2.6 Utilização de enxertos, biomateriais ou outros fatores com potencial condrogênico para reparação da cartilagem

Em pacientes com lesões pequenas, tentativas são feitas para restaurar a cartilagem da superfície articular por meio de vários métodos. Estes, incluem implante de enxertos de tecidos de reposição ou emprego de técnicas que estimulem o processo de reparação nativo (O' driscoll, 1998).

A cartilagem pode ser substituída por pequenos tampões de uma região de menor suporte de peso da articulação (autoenxertos) ou por completos aloenxertos. Autoenxertos, obtidos da patela, do côndilo femoral ou da fíbula proximal são limitados pela pequena quantidade de cartilagem disponível para transplante de outros sítios (Buckwalter & Mankin, 1998; O' driscoll, 1998). Além disso, os efeitos prejudiciais ao sítio doador devem ser considerados. Há também evidências de que, tecidos provenientes de regiões de menor suporte de peso, não são hábeis para suportar as forças aplicadas na superfície articular. Já os aloenxertos têm apresentado uma taxa de sobrevivência alta (95%) (Simon & Jackson, 2006).

Outra opção descrita consiste no uso de enxertos periosteais ou pericondrais (Sellers el al., 1997; Lu el al., 2001; Simon & Jackson, 2006). Contudo, como opção de tratamento, o uso de pericôndrio para enxertos autólogos é menos atrativo do que periósteo, pois este está apenas disponível na margem esternal das costelas, promovendo uma restrita disponibilidade de material. Já o periósteo não apresenta esta limitação anatômica e possui bom potencial condrogênico, além de promover a síntese de matriz extracelular com propriedades histomorfométrica, biológica, bioquímica e biomecânica semelhantes àquelas da cartilagem articular normal (O'driscoll, 1998).

No intuito de eliminar a necessidade de um sítio doador e devido ao interesse associado com alo e auto-enxertos, muitas tentativas foram realizadas para cicatrizar ou regenerar a cartilagem, antes da sua substituição. As técnicas propostas têm sido focalizadas

nas propriedades intrínsecas de regeneração de tecido ou transplante de condrócitos para formar mais tecido. Infelizmente, nenhuma delas têm tido completo sucesso, especialmente em populações mais velhas (Buckwalter & Mankin, 1998; O'driscoll, 1998). O tratamento mais comum para a regeneração da cartilagem consiste em penetrar o osso subcondral por meio de abrasão ou perfuração, criando um defeito profundo. Há formação de um coágulo sobre a superfície do osso subcondral, o qual pode promover um suporte para migração de células tronco mesenquimais e suas eventuais diferenciações em condrócitos e osteócitos (Shapiro et al., 1993). Contudo, em estudo realizado por Mitchell & Shepard (1976), quando perfurações múltiplas são feitas diretamente no osso subcondral, os orifícios são preenchidos primeiramente por fibrocartilagem.

Pode ser feito o transplante de condrócitos ou células indiferenciadas usando método de um retalho periosteal suturado sobre o defeito, como uma barreira sob a qual culturas autólogas de condrócitos são injetadas (Brittberg et al., 1994; Gillogly et al., 1998). Porém, essa técnica exige um sítio doador e ainda não apresentou resultados convincentes. Alternativamente, suportes porosos de polímeros sintéticos ou derivados naturais podem ser usados para manter células diferenciadas em uma dada região (Sellers et al., 1997; Lu et al., 2001). Esta técnica reduz a morbidade do sítio doador, promovendo um limite para retenção de células, no qual os condrócitos ancorados-dependentes podem aderir-se (Thomson et al., 1995).

O uso de materiais sintéticos têm aumentado as chances de reparar a cartilagem articular, visto que os tecidos autólogos podem falhar na recuperação da espessura exata e, a matriz sintética, pode ajustar-se sob a forma do defeito (Simon & Jackson, 2006). De acordo com Messner & Gillquist (1993), implantes de poliéster (Dacron[®]) e politetrafluoroetileno (PTFE) (TEFLON[®]) proporcionaram crescimento celular dentro da matriz e apresentaram propriedades mecânicas capazes de resistir à cargas fisiológicas.

Estudos têm sido desenvolvidos implantando-se auto ou aloenxertos de condrócitos, sendo aplicados isoladamente ou sedimentados em material sintético ou biológico, o qual serve como arcabouço, sendo verificado melhor qualidade no tecido de reparação quando comparado àqueles formados pelas técnicas anteriormente descritas.

O uso de material sintético ou biológico, como arcabouço para as células cultivadas, tem algumas vantagens em relação ao implante de condrócitos isoladamente (Brittberg et al., 1996; Katsube et al. 2000).

Lettry (2003) implantou condrócitos cultivados em hidrogel com duas camadas, uma densa e outra porosa; o autor relatou que a porosidade do hidrogel foi adequada para a promoção da nutrição dos condrócitos pelo tecido adjacente, além de manter sua capacidade de síntese. A apresentação do hidrogel em duas camadas distintas permite que as células cultivadas sejam sedimentadas na porção mais porosa, atuando como arcabouço adequado e, permitindo que os condrócitos recuperem sua morfologia diferenciada. Já quando implantadas em defeitos osteocondrais, a porção mais densa teria a função de impedir que as células inflamatórias atacassem e, eventualmente, destruíssem os condrócitos implantados.

2.7 Utilização da membrana biossintética à base de celulose (MBC) na reparação tecidual

A membrana de celulose, sintetizada pela bactéria *Acetobacter xylinum*, é estudada desde os anos 60 (Webb & Colvin, 1967). Na década de 80, o LQBB – Laboratório de Químico/Biotecnologia de Biomassa da Universidade Federal do Paraná desenvolveu uma película de celulose pura microfibrilar biossintética, obtida por um processo de fermentação desta bactéria. Atualmente, a membrana vem sendo utilizada como substituto da pele (Rebello et al., 2001), curativo de feridas cirúrgicas de papilas mamárias de vacas (Biofill®) (Marques et al., 1991), curativo para cirurgias periodontais (Gengiflex®)

(Novaes Jr. et al., 1993), reconstrução vascular (Klemm et al., 2001), substituto da dura-máter (Mello et al., 1996), entre outras aplicações em estudo. Essa membrana é constituída por uma camada formada por rede de microfibrilas de celulose cristalina prensadas, que dão estrutura e rigidez à membrana. A do tipo Gengiflex® possui também uma camada externa de alcali-celulose que é, na realidade, uma modificação química da camada interna. Este processo biotecnológico de baixo custo permite à membrana de celulose um preço mais acessível (Novaes Jr. et al., 1993). O produto possui características biocompatíveis, sendo biodegradável (Salata et al., 2001), inerte, atóxico e seletivamente permeável (Novaes Jr. & Novaes, 1993), possuindo as qualidades necessárias para a RTG.

Novaes Jr. et al. (1990) descreveram uma técnica cirúrgica em Odontologia utilizando Biofill® no tratamento de lesão de furca, sendo que os resultados apresentados revelaram sucesso na sua utilização. Com o propósito de minimizar algumas dificuldades inerentes do procedimento de enxerto gengival livre, Lima & Passeri (1991) utilizaram uma película microfibrilar tipo celulósica. Após controle da hemorragia, várias camadas de película sintética foram colocadas no intuito de revestir o leito receptor, sendo mantida em posição pelo coágulo sangüíneo. Após avaliação clínica, apesar da pequena amostra (cinco pacientes), os autores concluíram, ao final dos períodos de 15 e 30 dias, que a película sintética permitiu a substituição da camada superficial, sem interferir com a reparação do leito receptor.

Há uma preocupação do cirurgião dentista quanto à perda óssea ocorrida nos diversos procedimentos cirúrgicos, assim como a formação de tecido fibroso onde deveria existir tecido ósseo, limitando a perfeita adaptação de próteses, futuramente. Por isto, muitas pesquisas têm sido realizadas no sentido de possibilitar a aplicação de materiais no interior de cavidades ósseas, nas quais possam vir a ocorrer uma loja óssea, após o procedimento cirúrgico (Novaes Jr. et al., 1993). Na tentativa de reconstrução total ou parcial dessas

estruturas perdidas, desenvolveram-se técnicas com o objetivo de recuperar o contorno anatômico normal, eliminar espaços mortos, favorecer a cicatrização, além de prevenir a invaginação de tecidos moles para o interior dessas cavidades, reduzindo assim as chances de infecções secundárias (Novaes Jr. et al., 2002). Novaes Jr. & Novaes (1993) descreveram restauração completa de defeito ósseo ao redor de implante de titânio. A Gengiflex® foi usada na RTG para cobrir o implante e, a hidroxiapatita foi utilizada como material de enxerto. O preenchimento do defeito foi verificado clinicamente após seis meses e, a análise histológica durante a exposição do implante, confirmou a formação óssea. Estudos estão sendo realizados na busca por materiais que substituam o osso perdido, ou ainda técnicas que venham a possibilitar a formação de osso a partir de um substrato ósseo preexistente (como o uso de membranas), ou ainda de substâncias que induzam a formação óssea (Novaes Jr. & Novaes, 1993; Novaes Jr. et al., 2002; Macedo et al, 2004). Novaes Jr. et al. (1993) demonstraram que o osso formado através do auxílio da RTG responde favoravelmente à implantação de cargas oclusais, tal qual o osso normal.

A membrana de celulose também foi empregada como substituto de dura-máter em cães e apresentou pouca reação fibrótica (Mello et al., 1996), sendo considerada, portanto, material adequado para enxerto dural. A análise destas características histológicas sugere que a celulose sofre degradação no organismo animal, por processo bioquímico a esclarecer. O achado de partículas refringentes de celulose no citoplasma das células gigantes, em ratos que receberam implante de celulose no fígado, sugeriu absorção do material por fagocitose (Mello et al., 2001).

Em estudo desenvolvido por Salata et al. (2001), foi demonstrado que o modelo de reparação óssea encontrado no grupo da membrana de celulose foi predominantemente de ossificação endocondral. Em contraste, a membrana de e-PTFE induziu formação óssea direta (ossificação intramembranosa). A formação de cartilagem durante a reparação óssea

é considerada como consequência da baixa tensão de oxigênio no tecido. Sandberg et al. (1993) observaram áreas de cartilagem nos defeitos mandibulares experimentais de ratos, revestidos por membrana. A presença de cartilagem pode ter ocorrido devido à baixa tensão de oxigênio gerada pelo selamento do suprimento vascular periosteal. Salata et al. (2001) concluíram que devido à presença de inflamação severa, provavelmente pela biodegradação da membrana, os requisitos para o acúmulo de proteína morfogenética, não foram encontrados com o uso da membrana de celulose. Todos esses efeitos combinados podem levar à formação de cartilagem, no lugar da deposição óssea direta, nos defeitos cobertos com essa membrana. Os resultados obtidos nesse estudo sugerem a possibilidade de RTG do tecido cartilaginoso, que possui capacidade limitada de reparo após lesão.

Svensson et al. (2005) desenvolveram um estudo para avaliar o potencial da membrana de celulose na reparação da cartilagem *in vitro*, observando um crescimento significativo de condrócitos viáveis. A regeneração tecidual guiada (RTG) através de membranas biológicas tem mostrado considerável sucesso em cranioplastias e, na restauração de parede lateral de seio maxilar (Pikos, 1999). A RTG pode ser distinguida como uma conduta que, utilizando princípios biológicos, proporciona condições para a superação de determinados obstáculos, além da correção de problemas, anteriormente sem possibilidades de solução.

3. OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivos, por meio de exames clínicos, macroscópicos, radiográficos e histopatológicos:

- Avaliar o uso de MBC em trocleoplastias experimentais em cães.
- Comparar os resultados obtidos entre os tratamentos com e sem a MBC.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais e ambiente de experimentação

Foram utilizados 12 animais da espécie canina (*Canis familiaris* – Linnaeus, 1758), provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista – Campus de Botucatu, sem raça definida, machos e fêmeas, faixa etária entre um e três anos, com peso variando entre oito e quatorze quilos, sadios e sem alterações no aparelho locomotor.

Os cães foram selecionados após exame clínico completo, com atenção especial aos exames ortopédico e neurológico; foram realizadas análise da locomoção, inspeção e palpação ósteo-articular. Os animais foram mantidos em canis individuais e alimentados com ração comercial¹ e água *ad libitum*.

O procedimento cirúrgico foi realizado no Centro Cirúrgico de Pequenos Animais do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu-SP.

4.2 Grupos experimentais

Todos os animais foram submetidos ao procedimento de trocleoplastia femoral dos membros pélvicos, sendo que a aplicação da membrana biossintética à base de celulose disponibilizada pelo Departamento de Química Geral e Inorgânica – Instituto de Química – UNESP - Araraquara foi realizada no membro pélvico esquerdo. Constituíram-se dois grupos experimentais designados grupo controle (GC), o membro direito submetido à realização da trocleoplastia e o grupo tratado (GT), o membro esquerdo submetido à realização da trocleoplastia, com a aplicação da MBC. Cada grupo experimental foi sorteado aleatoriamente em quatro subgrupos de três cães, de acordo com os diferentes momentos (M) de observação, ou seja, 15 (M15), 30 (M30), 60 (M60) e 90 (M90) dias do pós-operatório. Nos diferentes

¹ Socil Guyomarc'h Ind. Com. Ltda. – Descalvado - SP

momentos de observação, de acordo com o subgrupo do animal, foi realizada artrotomia exploratória para a avaliação macroscópica do joelho e obtenção de biópsia para o exame histopatológico.

4.3 Protocolo experimental

4.3.1 Procedimentos pré-operatórios:

Os membros pélvicos dos cães foram tricotomizados, abrangendo desde a região da articulação do tarso até o terço proximal do fêmur. A aplicação de enrofloxacina² foi feita pela via subcutânea, na dose de 7mg/kg, no momento da indução anestésica; bem como, foi administrado o flunixin meglumine³, na dose de 1,1 mg/kg, pela via subcutânea.

4.3.2 Procedimentos anestésicos:

Todos os cães foram mantidos em jejum alimentar de 12 horas e hídrico de duas horas. Estes receberam medicação pré-anestésica à base de acepromazina⁴ e morfina⁵, nas doses de 0,05 mg/kg e 0,3 mg/kg, respectivamente, pela via intramuscular. Com os animais tranqüilizados foi realizada anti-sepsia prévia utilizando-se solução de iodopovidine degermante⁶. Após 15 minutos, foi realizada anestesia epidural com aplicação de lidocaína⁷, 0,3 mg/kg de bupivacaína⁸, ambas com vasoconstrictor, associadas à 0,1 mg/kg de morfina.

4.3.3 Procedimento cirúrgico:

Após a indução anestésica, os animais foram encaminhados à sala de cirurgia e posicionados em decúbito dorsal. A anti-sepsia da região cirúrgica foi realizada com álcool

² Flotril 2,5%® – Laboratório Schering-Plough Veterinária S/A.

³ Banamine® – Laboratório Schering-Plough Veterinária S/A.

⁴ Acepram 0,2%® – Laboratório Comercial Agropecuario Scarparo Ltda.

⁵ Dimorf® – Laboratório Cristália Prod. Quim. Farm. Ltda.

⁶ Laboriodine Degermante® – Laboratório Glicolabor Ind. Farm.

⁷ Xylestesin® – Laboratório Cristália Prod. Quim. Farm. Ltda.

⁸ Neocaína® – Laboratório Cristália Prod. Quim. Farm. Ltda.

iodado e em seguida, a extremidade do membro pélvico envolvida com faixa de crepe esterilizada. Um pano de campo cirúrgico fenestrado foi utilizado, delimitando a região operatória. O acesso cirúrgico foi realizado por uma abordagem lateral da articulação do joelho (Piermattei, 1993). Realizou-se uma incisão parapatelar lateral da pele de 5 a 7 cm, seguida da incisão do retináculo e cápsula articular; até a exposição da articulação do joelho. Com o membro em extensão a patela foi deslocada, promovendo a exposição da tróclea femoral (Figura 1). Realizou-se então a flexão do joelho e o procedimento de trocleoplastia por meio do aprofundamento do sulco troclear com auxílio de uma goiva e uma lima (Figuras 2 e 3), retirando-se toda a superfície de contato com a face articular da patela, até o sangramento do osso subcondral. No membro esquerdo dos cães, a membrana bio sintética, a base de celulose com 5 micrometros de espessura, foi aplicada após o aprofundamento do sulco, sendo fixada com 4 a 5 pontos simples separados na borda cartilaginosa normal, com a utilização de fio de sutura absorvível sintético⁸ 6-0 (Figura 4). A patela foi reposicionada após a extensão do membro, realizando-se então a síntese da cápsula articular e retináculo em pontos tipo “Sultan”, com fio mononáilon⁹ 3-0 (Figura 5). A seguir, foram feitas as sínteses do tecido subcutâneo em padrão simples contínuo e pele, utilizando-se mononáilon 3-0, com pontos simples separados (Figura 6).

4.3.4 Procedimentos pós-operatórios:

4.3.4.1 Condutas pós-operatórias:

Após o procedimento cirúrgico, os animais operados foram mantidos com colar Elizabetano, em jaulas individuais para limitar sua movimentação. A antibioticoterapia profilática foi feita utilizando-se enrofloxacin¹⁰ via oral, na dose de 7 mg/kg de peso, em

⁸ Vicryl® - Ethicon – Johnson & Johnson.

⁹ Mononylon® Ethicon – Johnson & Johnson.

¹⁰ Enropet Oral® – Purina.

intervalos de 24 horas, durante sete dias. O antiinflamatório e analgésico utilizado foi o meloxicam¹¹, a cada 24 horas, na dose de 0,1 mg/kg durante os primeiros quatro dias de pós-operatório, e buprenorfina¹² na dose de 10 µg/kg por via subcutânea em intervalos de 12 horas, durante dois dias. A limpeza da ferida cirúrgica foi realizada diariamente, utilizando-se uma solução aquosa de Iodopovidine¹³ a 1% . Os pontos da pele foram removidos no oitavo dia do pós-operatório. Após o final do período de observação e recuperação funcional dos membros, os animais foram doados.

4.3.4.2 Avaliação clínica:

Os cães foram submetidos ao exame clínico, sempre pelo mesmo examinador, e filmados com câmera¹⁴, nos seguintes momentos: 24 horas após a cirurgia (Momento 1 – M1); 15 dias após a cirurgia (M15); 30 dias (M30); 60 dias (M60); e 90 dias após a cirurgia (M90). A função locomotora do membro foi avaliada em escores (Tabela 1), conforme modificação da classificação proposta por Aiken et al. (1992), nos diferentes momentos de avaliação.

Tabela 1: Classificação da função locomotora dos membros posteriores.

<i>DESCRIÇÃO DA LOCOMOÇÃO</i>	ESCORE
Ausência de claudicação durante a locomoção	0
Claudicação discreta durante a locomoção; apoio quando em estação	1
Claudicação moderada na locomoção; apoio quando em estação	2
Claudicação evidente, elevação do membro ao correr, apoio infrequente do membro quando em estação	3
Claudicação sem apoio do membro (impotência funcional)	4

4.3.4.3 Avaliação radiográfica:

¹¹ Maxicam® – Laboratório Ouro Fino.

¹² Temgesic® – Laboratório Schering – Plough S/a

¹³ Laboriodine Tópico® – Laboratório Glicolabor Ind. Farm.

¹⁴ Modelo GR-SXM757 – JVC Compact VHS Camcorder.

Todos os animais foram submetidos ao exame radiográfico das articulações do joelho antes do procedimento cirúrgico, imediatamente após a cirurgia (POI), aos 15 (M15), 30 (M30), 60 (M60) e 90 (M90) dias do pós-operatório, de acordo com seu respectivo grupo experimental. Os exames radiográficos foram realizados na posição “skyline” (tangencial), com a incidência dos raios em ângulo de 45° em relação ao maior eixo do fêmur, e na posição lateral.

Todas as radiografias foram obtidas com os animais tranqüilizados com 0,1mg/kg de acepromazina¹⁵, por via intramuscular, e anestesiados com tiopental sódico¹⁶, na dose de 10 mg/kg por via intravenosa, com exceção da radiografia no pré e pós-operatório imediato que foi realizada com o animal ainda sob efeito da anestesia para o ato cirúrgico. Foram analisadas alterações articulares e ósseas no sulco troclear aprofundado, bem como a manutenção do espaço articular.

4.3.4.4 Avaliação macroscópica:

A artrotomia exploratória foi realizada em todos os animais, de acordo com seu subgrupo experimental nos diferentes momentos, sendo utilizados os mesmos protocolos descritos para a conduta anestésica, cirúrgica e pós-operatória.

Na avaliação macroscópica, pós artrotomia exploratória, foram observadas a presença ou ausência da membrana de celulose e sua fixação, as superfícies articulares e alterações na cápsula articular. Quatro parâmetros foram avaliados: aspecto da reparação na região da trocleoplastia; continuidade, representada por nivelamento e integração com a cartilagem adjacente; brilho na região da trocleoplastia, que foram qualificados em escores presentes (+) ou ausente (-); e superfície da região, que foi classificada em regular ou irregular (Ribeiro et al., 2004).

¹⁵ Acepram® – Laboratório Comercial Agropecuario Scarparo Ltda.

¹⁶ Thionembutal – Laboratório Cristália Prod. Quim. Farm. Ltda.

4.3.4.5 Avaliação histomorfométrica:

Uma biópsia óssea foi obtida da região da trocleoplastia de todos os joelhos operados, as quais foram avaliadas por meio de microscopia óptica aos 15, 30, 60 e 90 dias, de acordo com o respectivo subgrupo. Foi examinada a região de trocleoplastia com e sem a aplicação da membrana de celulose. Os mesmos protocolos anestésicos, cirúrgicos e pós-operatórios foram realizados para a obtenção da biópsia óssea e da cápsula articular, no final do período de avaliação de cada subgrupo. Os fragmentos foram acondicionados em solução tamponada de Formaldeído a 10 %⁹, no qual permaneceram até o processamento histológico.

Os fragmentos da região da trocleoplastia foram descalcificados em ácido nítrico 5%; processados pelo Auto-Técnico; passando por seis aplicações de álcoois, três de xilol e três banhos de parafina, com duração de uma hora cada passagem. O material foi colocado no inclusor onde passou por outro banho de parafina e depois foi incluído em parafina. A microtomia consistiu de vários cortes seriados de quatro micrometros de espessura. As lâminas foram colocadas em estufa à 60 °C, sendo depois corados pelos métodos de hematoxilina-eosina (HE) e tricrômio de Masson, e examinados por meio de microscopia óptica.

A biópsia da cápsula articular foi realizada em todas as articulações, próxima a linha de incisão para a artrotomia e processada de acordo com rotina histopatológica padrão.

Na análise histopatológica, a resposta biológica foi determinada em função do processo de reparação da cartilagem, alterações vasculares e infiltrado inflamatório.

A análise morfométrica foi realizada, utilizando-se o “software” de captura de imagens acoplado ao microscópio Leica[®] DM, sem o conhecimento prévio dos grupos experimentais; nesta, foram avaliados o número de células e espessura do tecido de reparação

⁹ Formaldeído a 10% - Dinâmica

no leito. A região central da trocleoplastia foi utilizada como padrão para análise morfométrica.

4.4 Análise dos resultados

O procedimento quantitativo das variáveis estudadas foi realizado pela técnica da análise de variância para o modelo com dois fatores, complementada com os respectivos testes de comparações múltiplas. Para a contagem do número de células, considerou-se a técnica não paramétrica, enquanto que para a espessura, a técnica paramétrica. Todas as comparações foram realizadas no nível de 5% de significância (ZAR. 1999).

4.5 Aspectos éticos

Os procedimentos experimentais desenvolvidos foram aprovados pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Campus de Botucatu, no dia 28 de abril de 2005.



Figura 1: Deslocamento medial da patela para exposição do sulco troclear.



Figura 2: Aprofundamento do sulco troclear com o auxílio de uma pinça goiva.



Figura 3: Utilização de lima para uniformizar a região da trocleoplastia e facilitar o deslizamento da patela.



Figura 4: Fixação da membrana bio sintética de celulose com fio absorvível sintético 6-0.



Figura 5: Sutura da cápsula articular e retináculo em pontos tipo Sultan, com fio mononáilon 3-0.



Figura 6: Sutura da pele com pontos simples separados.

5. RESULTADOS

5.1 Técnica Cirúrgica

A abordagem parapatelar à articulação fêmoro-tíbio-patelar, nas condições em que foi realizada, permitiu exposição adequada do sulco troclear e as manobras pertinentes ao seu aprofundamento e aplicação da membrana de celulose.

A realização da técnica cirúrgica foi exequível e sem maiores complicações. Durante a aplicação da membrana de celulose destacou-se a necessidade de utilização de instrumentais delicados e treinamento, para que essa ficasse posicionada adequadamente.

O fio empregado na sutura da cápsula articular e pele ofereceu resistência adequada na maioria dos casos, conforme a tensão destas regiões anatômicas. Já o fio utilizado para fixação da membrana, apesar do fácil manuseio, necessitou de certa habilidade para evitar o rompimento da membrana.

5.2 Avaliação Clínica

Na inspeção clínica, não foi observado aumento de volume no joelho direito (GC) em nenhum animal no pós-operatório imediato (M1). Contudo, três animais (25%) apresentaram aumento de volume discreto após esse período, sendo notado até os 15 dias do pós-operatório, desaparecendo nos momentos subseqüentes. Já no joelho esquerdo (GT), aumento de volume moderado, decorrente de seroma, foi observado nas primeiras 24 horas (M1) do pós-operatório em dois animais (16,6%), em apenas um deles esse aumento persistiu até o M15 (Figura 7). Outros dois animais apresentaram aumento de volume após o M1, persistindo até o M15 e diminuindo nos momentos subseqüentes.

A deiscência total de pontos do joelho direito (GC) foi observada em um animal nos primeiros dias do pós-operatório (8,3%). No joelho esquerdo (GT) foi notada deiscência parcial, dois pontos, em um cão já no M1 (8,3%), coincidente com o seroma, e total em outro

(Figura 8) após esse período (8,3%). Um tratamento clínico tópico, buscando-se cicatrização por segunda intenção, foi instituído.

Nos demais cães, não se evidenciou reação inflamatória no pós-operatório, podendo ser notada a completa cicatrização da ferida cirúrgica no décimo dia do pós-operatório. O resultado estético após a retirada dos pontos e crescimento dos pêlos foi equivalente ao observado antes da cirurgia.

Com relação à avaliação da locomoção, todos os animais, em estação, apresentaram apoio dos membros nas primeiras 24 horas do pós-operatório (Figura 9). A maioria dos animais não apresentou claudicação nos períodos observados, exceto um animal (A6) no qual foi observada claudicação discreta do membro pélvico esquerdo (GT), durante a locomoção no M1 (Tabela 2), permanecendo durante dois dias.

Tabela 2: Escore* de claudicação dos animais submetidos a trocleoplastia experimental, nos diferentes momentos (M) de avaliação.

Animal	M1	M15	M30	M60	M90
A1	0	0	0		
A2	0	0			
A3	0	0	0	0	
A4	0	0	0	0	
A5	0	0	0	0	0
A6	1**	0	0	0	0
A7	0	0	0	0	
A8	0	0	0	0	0
A9	0	0	0		
A10	0	0	0		
A11	0	0			
A12	0	0			

*Classificação da função locomotora dos membros posteriores proposta por Aiken et al. (1992).

0- Ausência de claudicação durante a locomoção; 1- Claudicação discreta durante a locomoção; apoio quando em estação; 2- Claudicação moderada na locomoção; apoio quando em estação; 3- Claudicação evidente, elevação do membro ao correr, apoio infreqüente do membro quando em estação; 4-: Claudicação sem apoio do membro (impotência funcional)

** Escore 1 no GT e 0 no GC.



Figura 7: Animal 7 (A7), aos 15 dias do pós-operatório, apresentando aumento de volume moderado em joelho esquerdo.



Figura 8: Animal 3 (A3), observar deiscência total dos pontos de pele aos 15 dias do pós-operatório.



Figura 9: Animal 11 (A11) apresentando apoio dos membros pélvicos 24 horas após o procedimento cirúrgico.

5.3 Avaliação Radiográfica

O posicionamento do animal para execução da radiografia em “skyline” foi relativamente difícil, entretanto, permitiu observar a presença ou não do aprofundamento do sulco troclear, bem como a manutenção do espaço articular (Tabela 3). Na posição lateral não foram observadas alterações articulares e ósseas dignas de nota.

Com relação ao aprofundamento do sulco troclear e manutenção do espaço articular, os grupos controle e tratado apresentaram comportamento semelhante (Figuras 10 e 11). Não foi possível notar radiograficamente o aprofundamento deste em quatro animais do GC (33,3%) e em três do GT (25%) em nenhum dos momentos de avaliação (Tabela 3). Assim como em três animais (25%) no GC e três no GT (25%), o aprofundamento foi observado após o M15.

A manutenção do espaço articular estava presente em todos os animais independente do período e grupo experimental (Tabela 4).

Tabela 3: Avaliação radiográfica da articulação do joelho quanto ao aprofundamento do sulco troclear imediatamente após a cirurgia e nos diferentes momentos (M) de avaliação.

Animal	<i>Aprofundamento do sulco troclear</i>									
	GC					GT				
	POI	M15	M30	M60	M90	POI	M15	M30	M60	M90
1	+	+	+			+	+	+		
2	-	-				+	+			
3	+	+	+	+		+	+	+	+	
4	+	+	+	+		+	+	+	+	
5	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
6	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
7	-	-	-	-		-	-	-	-	
8	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
9	+	+	+			+	+	+		
10	+	+	+			+	+	+		
11	-	-				-	-			
12	-	-				-	-			

Legenda: (+) presente; (-) ausente

POI- pós-operatório imediato; M- momentos em dias; GC- Grupo controle; GT- Grupo tratado

Tabela 4: Avaliação radiográfica da articulação do joelho quanto à manutenção do espaço articular imediatamente após a cirurgia e nos diferentes momentos (M) de avaliação.

Animal	<i>Espaço articular</i>									
	GC					GT				
	POI	M15	M30	M60	M90	POI	M15	M30	M60	M90
1	+	+	+			+	+	+		
2	+	+				+	+			
3	+	+	+	+		+	+	+	+	
4	+	+	+	+		+	+	+	+	
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+		+	+	+	+	
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+			+	+	+		
10	+	+	+			+	+	+		
11	+	+				+	+			
12	+	+				+	+			

Legenda: (+) presente; (-) ausente

POI- pós-operatório imediato; M- momentos em dias; GC- Grupo controle; GT- Grupo tratado

No GC, quatro animais apresentaram proliferação de osteófitos discreta (25%), entretanto, em um animal (A1), essa mesma característica foi observada aos 15 dias do pós-operatório, intensificando-se no momento seguinte (M30) (Figura 12). A proliferação de osteófitos (discreta) foi observada em três animais (25%) no GT, sendo dois a partir do M30 e um do M90 (Tabela 5). Quanto à reabsorção do osso subcondral, esta foi notada em três animais do GC (25%) (Figura 13) e dois do GT (16,6%), logo aos 15 dias do pós-operatório (Tabela 6).

Tabela 5: Avaliação radiográfica da articulação do joelho quanto à proliferação de osteófitos na patela, imediatamente após a cirurgia e nos diferentes momentos (M) de avaliação.

Animal	<i>Osteófitos</i>									
	GC					GT				
	POI	M15	M30	M60	M90	POI	M15	M30	M60	M90
1	-	+	++			-	-	-		
2	-	-				-	-			
3	-	-	-	-		-	-	-	-	
4	-	-	-	+		-	-	+	+	
5	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
6	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
7	-	-	-	-		-	-	-	-	
8	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
9	-	-	-			-	-	-		
10	-	-	-			-	-	-		
11	-	-				-	-			
12	-	-				-	-			

Legenda: (-) ausente; (+) leve; (++) moderada; (+++) intensa;

POI- pós-operatório imediato; M- momentos em dias; GC- Grupo controle; GT- Grupo tratado

Tabela 6: Avaliação radiográfica da articulação do joelho quanto à reabsorção do osso subcondral, imediatamente após a cirurgia e nos diferentes momentos (M) de avaliação.

Animal	<i>Reabsorção do osso subcondral</i>									
	GC					GT				
	POI	M15	M30	M60	M90	POI	M15	M30	M60	M90
1	-	-	-			-	-	-		
2	-	-				-	-			
3	-	+	+	+		-	-	-	-	
4	-	-	-	-		-	+	+	-	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-		-	-	-	-	
8	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
9	-	+	-			-	-	-		
10	-	+	+			-	-	-		
11	-	-				-	-			
12	-	-				-	-			

Legenda: (-) ausente; (+) leve; (++) moderada; (+++) intensa;

POI- pós-operatório imediato; M- momentos em dias; GC- Grupo controle; GT- Grupo tratado



Figura 10: Imagem radiográfica da articulação do joelho direito do A6 aos 90 dias. Ausência de alterações.

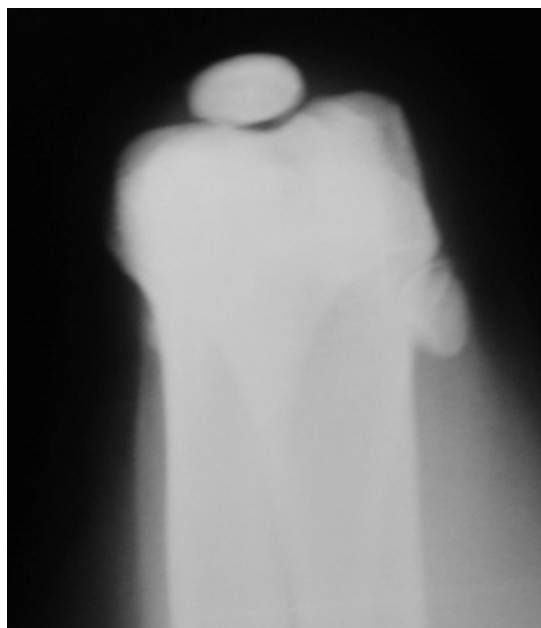


Figura 11: Imagem radiográfica da articulação do joelho esquerdo do A6 aos 90 dias. Ausência de alterações.



Figura 12: Imagem radiográfica da articulação do joelho direito do A1 aos 30 dias. A discreta proliferação de osteófitos se intensificou em região dorsal da patela (setas).

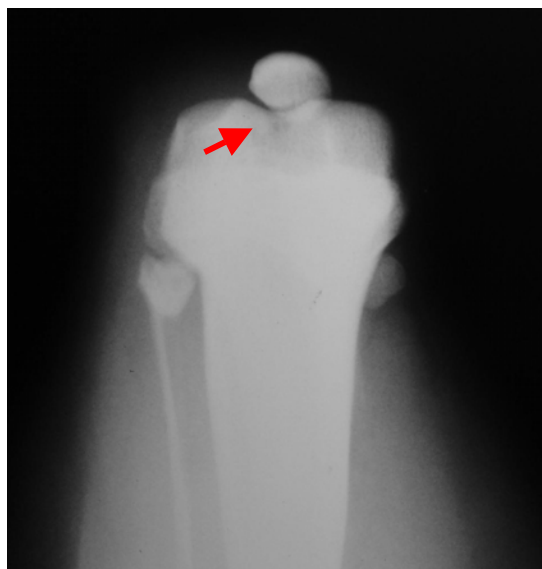


Figura 13: Imagem radiográfica da articulação do joelho direito do A3 aos 15 dias. Observar reabsorção do osso subcondral (seta).

5.4 Avaliação Macroscópica

Na avaliação macroscópica da cápsula articular do joelho de todos os animais, independente do grupo experimental, o local de incisão apresentava-se espesso em consequência da proliferação fibrosa cicatricial (Figura 14), sendo este mais evidente nos animais no M15 e M30. Nos demais momentos, observou-se processo de reparação em fase mais avançada. O fio de náilon monofilamentar empregado na sutura capsular promoveu discreta reação nos tecidos circundantes e, um completo envolvimento do mesmo, foi evidenciado durante a artrotomia exploratória.

A membrana de celulose, utilizada na artroplastia do GT, não foi visualizada macroscopicamente aos 15 dias do pós-operatório, assim como nos demais momentos de avaliação. O ponto de fio absorvível 6-0 foi observado apenas em um cão (A12) no M15.

A região da superfície articular submetida à trocleoplastia foi avaliada quanto ao aspecto do tecido de reparação, continuidade e brilho (Tabela 7). Um tecido de reparação de aspecto esbranquiçado (Figura 15) foi observado em todos os joelhos do GT, sendo que com a evolução do pós-operatório este se tornava mais evidente. No GC, aos 15 dias do pós-operatório (M15), o aspecto esbranquiçado não foi observado (Figura 16), entretanto após o M30, essa característica já começava a ser notada.

A continuidade do tecido de reparação também foi verificada em todos os joelhos do GT em todos os momentos de avaliação (Figura 17). Já no GC observou-se falha dessa continuidade em todos os animais no M15, em dois no M30 e um no M60 (Figura 18). A presença de superfície articular irregular na região de trocleoplastia foi verificada em três animais (25%) do GT, sendo dois aos 60 e um aos 90 dias do pós-operatório (Figura 19) e em oito do GC (66,6%), sendo dois animais aos 30 dias e três aos 60 e 90 dias do pós-operatório. Superfície mais regular foi observada na maioria dos animais do GT (Figura 20). O brilho estava presente na maioria dos animais, exceto em dois do GC aos 30 dias.

Tabela 7: Avaliação macroscópica da região de trocleoplastia, nos diferentes grupos experimentais e momentos de avaliação (Ribeiro et al., 2004).

Momentos de Avaliação	Animal	Reparação		Continuidade		Superfície		Brilho	
		GC	GT	GC	GT	GC	GT	GC	GT
M15	2	-	+	-	+	lisa	lisa	+	+
	11	-	+	-	+	lisa	lisa	+	+
	12	-	+	-	+	lisa	lisa	+	+
M30	1	+	+	-	+	irregular	lisa	-	+
	9	+	+	-	+	irregular	lisa	-	+
	10	+	+	+	+	lisa	lisa	+	+
M60	3	+	+	+	+	irregular	lisa	+	+
	4	+	+	+	+	irregular	irregular	+	+
	7	+	+	-	+	irregular	irregular	+	+
M90	5	+	+	+	+	irregular	lisa	+	+
	6	+	+	+	+	irregular	lisa	+	+
	8	+	+	+	+	irregular	irregular	+	+

* Avaliação macroscópica dos defeitos cartilaginosos proposta por Ribeiro et al (2004):

Reparação: (+) presente; (-) ausente

Continuidade: (+) presente; (-) ausente

Superfície: regular; irregular

Brilho: (+) presente; (-) ausente

Na patela, por sua vez, não foram notadas alterações inflamatórias ou degenerativas, apesar de sua estreita relação com o sulco troclear, havendo manutenção da superfície articular com características normais e deslizamento normal da mesma sobre a tróclea femoral. Com relação ao líquido sinovial, não foram verificadas alterações macroscópicas dignas de nota, quanto ao aspecto e quantidade, em nenhum grupo ou momento de avaliação.

Após o restabelecimento clínico dos animais, os mesmos foram doados.



Figura 14: Região da sutura da cápsula articular do A2, 15 dias após o procedimento cirúrgico, apresentando proliferação fibrosa cicatricial.



Figura 15: Região da trocleoplastia do GT aos 15 dias do pós-operatório (A2). Observar tecido de reparação com aspecto esbranquiçado (seta).



Figura 16: Região da trocleoplastia do GC aos 15 dias do pós-operatório (A2).



Figura 17: Região da trocleoplastia do GT aos 60 dias do pós-operatório (A7). Observar continuidade do tecido de reparação com a cartilagem adjacente (seta).



Figura 18: Região da trocleoplastia do GC aos 60 dias do pós-operatório (A7). Observar áreas de irregularidade no tecido de reparação e cartilagem normal adjacente (seta).



Figura 19: Região da trocleoplastia do GT aos 90 dias do pós-operatório (A8). Observar superfície irregular do tecido de reparação (seta).



Figura 20: Região da trocleoplastia do GT aos 90 dias do pós-operatório (A5). Observar superfície regular do tecido de reparação.

5.5 Avaliação Morfológica

5.5.1 Estrutura histológica da tróclea femoral normal:

O sulco troclear tem formato côncavo e arredondo com superfície regular, lisa e recoberta por tecido cartilaginoso do tipo hialino. A espessura dessa cartilagem é uniforme sobre toda a superfície da tróclea femoral. O tecido cartilaginoso, que reveste o sulco troclear é constituído por condrócitos e matriz, possui camada superficial formada por condrócitos achatados, estando separados por matriz menos acidófila na coloração hematoxilina e eosina (HE) (Figura 21) e menos intensamente corada pelo tricômico de Masson (Figura 22). A seguir, observam-se condrócitos isolados, com formato arredondado, com matriz cartilaginosa levemente mais corada. Na região mais profunda, há numerosos condrócitos arredondados, dispostos de forma isolada ou em grupos isógenos coronários. Pela técnica de HE, a matriz próxima do condrócito apresenta-se fortemente basófila, enquanto a interterritorial é fortemente acidófila. Na região da inserção óssea, o tecido cartilaginoso assume aspecto de fibrocartilagem.

5.5.2 Histopatologia do sulco troclear dos animais operados:

5.5.2.1 Tróclea femoral aos 15 dias:

Nas alterações histopatológicas evidenciadas aos 15 dias (Quadro 1), a cartilagem periférica à trocleoplastia apresentou morfologia similar à normal acima descrita, sendo verificada transição brusca para a região submetida à trocleoplastia; nesta foi observada delgada camada de tecido conjuntivo do tipo fibrocartilaginoso, em continuidade com o tecido cartilaginoso e ósseo, nativos. Em ambos os grupos, a lesão central era evidente e recoberta por material acidófilo (matriz óssea) envolto por intensa fibrose, que era melhor observado nas lâminas coradas com o Tricômio de Masson. Nesta região, notava-se grande quantidade de fibroblastos e osteoclastos, além da intensa presença de vasos sanguíneos intumescidos

(Figura 23). Observou-se também presença de alguns macrófagos e linfócitos. Não houve diferença entre os dois grupos, tratado e controle.

5.5.2.2 Tróclea femoral aos 30 dias:

No GC, a região da trocleoplastia estava mais evidente, sendo observada grande quantidade de células, representadas por fibroblastos ativos, vascularização intensa e presença de macrófagos e osteoclastos. Observou-se fibrose na região, porém menos intensa quando comparada ao período anterior (Figura 24). Já no GT, o tecido de reparação que recobria a região da trocleoplastia era constituído por tecido conjuntivo mais organizado, apresentando maior espessura quando comparado ao período anterior. Na região central também se verificou intensa celularidade, porém na região superficial foram observadas células de aspecto fusiformes e na região profunda, células com formato estrelado, semelhantes a condrócitos imaturos. Não observou-se fibrose aparente, porém notou-se presença de poucos macrófagos. A lesão apresentava vascularização menos intensa que o GC (Figura 25). Nos dois grupos, o tecido neoformado e o nativo estavam bem integrados.

5.5.2.3 Tróclea femoral aos 60 dias:

Presença de células justapostas na região da trocleoplastia, muitos fibroblastos em região mais profunda no GC e fibrose (Figura 26). O tecido de reparação possuía espessura similar à observada aos 30 dias. O GT apresentou maior quantidade de células em formato de condrócitos, com contornos arredondados e matriz levemente mais corada. A espessura do tecido de reparação também era similar ao período anterior. Neste grupo foram observados poucos vasos e as células justapostas eram menos evidentes quando comparada ao GC (Figura 27).

5.5.2.4 Tróclea femoral aos 90 dias:

Aos 90 dias do pós-operatório, as células apresentavam-se justapostas e possuíam aspectos normais de fibroblastos e condrócitos. O tecido de reparação era do tipo fibrocartilaginoso maduro e mais delgado que aos 30 e 60 dias. A vascularização era menos intensa que nos períodos anteriores e não foi observada fibrose tanto no GC como no GT. Não houve diferenças entre os dois grupos, estes se apresentavam mais homogêneos e em continuidade com o tecido nativo (Figura 28 e 29).

Momentos de Avaliação	Grupos	
	Controle	Tratado
M15	camada delgada de tecido conjuntivo do tipo fibrocartilaginoso; lesão central evidente e recoberta por material acidófilo (matriz óssea) envolto por intensa fibrose; presença de alguns macrófagos, linfócitos e osteoclastos	camada delgada de tecido conjuntivo do tipo fibrocartilaginoso; lesão central evidente e recoberta por material acidófilo (matriz óssea) envolto por intensa fibrose; presença de alguns macrófagos, linfócitos e osteoclastos
M30	intensa celularidade, constituída por fibroblastos ativos, vascularização evidente e presença de macrófagos e osteoclastos, fibrose menos intensa	intensa celularidade, na região superficial verificou-se células de aspecto fusiforme e, na profunda, células com formato estrelado, semelhantes à condrócitos imaturos. Menor quantidade de macrófagos e fibrose aparente; vascularização menos intensa; tecido conjuntivo mais organizado
M60	células justapostas na região superficial, além de muitos fibroblastos em região mais profunda; fibrose	maior número de células com formato de condrócitos, vascularização e células justapostas pouco evidentes
M90	células justapostas, presença de fibroblastos e condrócitos, sem fibrose; tecido de reparação do tipo fibrocartilaginoso maduro, vascularização menos evidente	células justapostas, presença de fibroblastos e condrócitos, sem fibrose; tecido de reparação do tipo fibrocartilaginoso maduro, vascularização menos evidente

Quadro 8: Características histopatológicas da região da trocleoplastia com e sem o uso da MBC, nos diferentes momentos de avaliação.

5.5.3 Histopatologia da cápsula articular:

A cápsula articular apresentou-se praticamente normal em todos os momentos avaliados, tanto no GC quanto no GT. Foi observado grande número de células sanguíneas, contudo não se verificou sinal de inflamação. A membrana sinovial revestia completamente cápsula articular na região da incisão. No estroma subsinovial, um discreto infiltrado mononuclear foi observado, apresentando-se mais intenso ao redor do fio cirúrgico e com proliferação de tecido conjuntivo denso, promovendo espessamento moderado dessa região no M15 (Figura 30); no M30, o mesmo padrão foi observado (Figura 31). Aos 60 e 90 dias (M60, M90), a membrana sinovial apresentou aspectos praticamente normais e no tecido subsinovial, região dos pontos, proliferação discreta de tecido conjuntivo (Figuras 32 e 33).

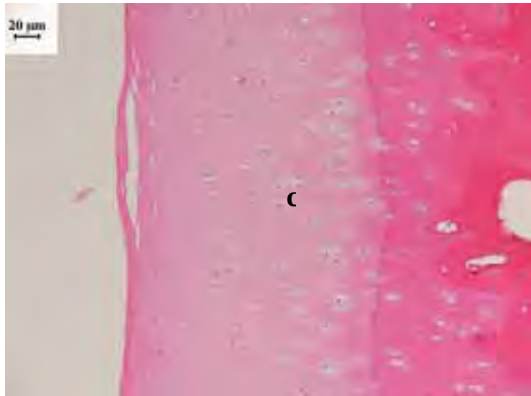


Figura 21: Corte da região central do sulco troclear do cão. Cartilagem hialina normal (HE, 40x). Notar condrócitos (c).



Figura 22: Corte da região central do sulco troclear do cão. Cartilagem hialina normal (Tricômio de Masson, 10x). Condrócitos (c).

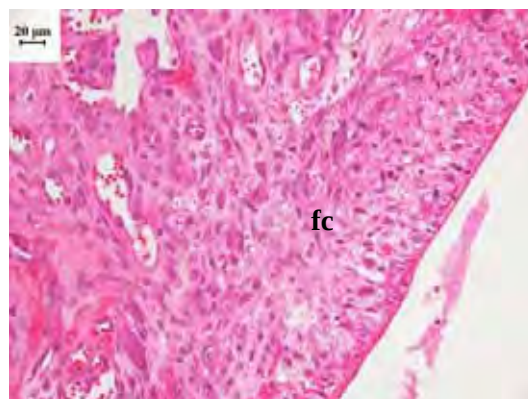


Figura 23: Corte da região central da trocleoplastia do GT aos 15 dias. Camada delgada de fibrorcartilagem (fc) e fibrose intensa (HE, 40x).

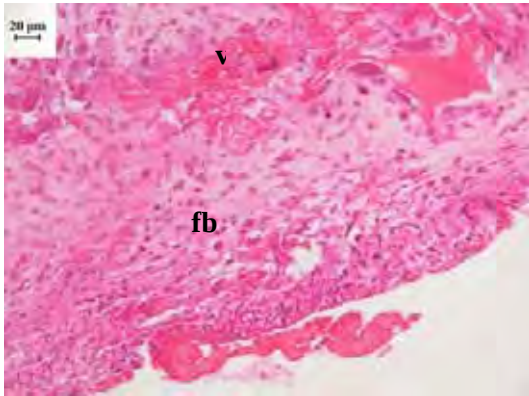


Figura 24: Corte da região central da trocleoplastia do GC aos 30 dias. Intensa celularidade, constituída por fibroblastos ativos (fb), vascularização evidente (v) e fibrose menos intensa (HE, 40x).

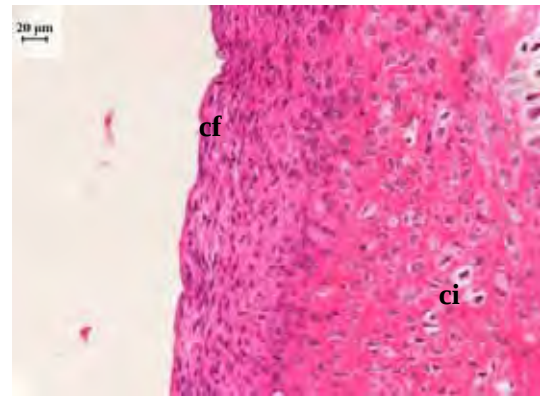


Figura 25: Corte da região central da trocleoplastia do GT aos 30 dias. Intensa celularidade, com células de aspecto fusiforme (cf) na região superficial e com formato estrelado na profunda, semelhantes à condrócitos imaturos (ci). Vascularização menos intensa, sem fibrose. Tecido conjuntivo mais organizado (HE, 40x).

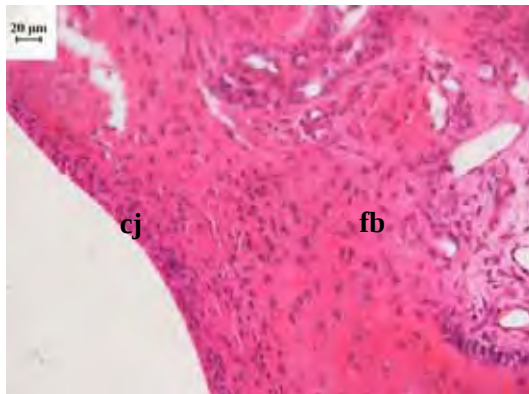


Figura 26: Corte da região central da trocleoplastia do GC aos 60 dias. Células justapostas (cj) na região superficial, além de muitos fibroblastos (fb) em região mais profunda; fibrose (HE, 40x).

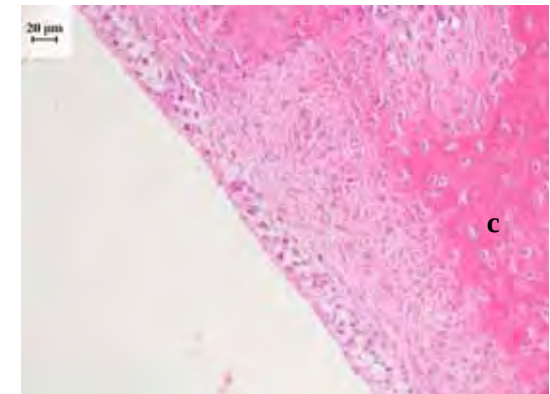


Figura 27: Corte da região central da trocleoplastia do GT aos 60 dias. Maior número de células com formato de condrócitos (c), vascularização e células justapostas pouco evidentes (HE, 40x).

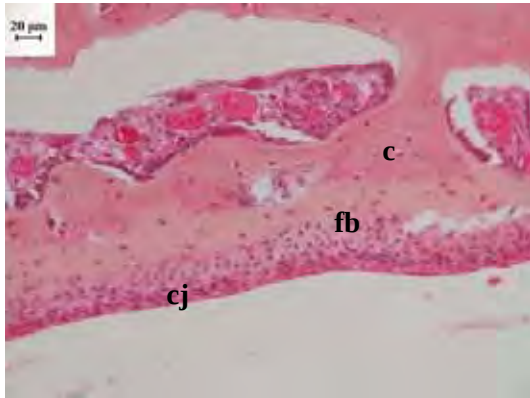


Figura 28: Corte da região central da trocleoplastia do GC aos 90 dias. Células justapostas (cj), presença de fibroblastos (fb) e condrócitos (c), sem fibrose; tecido de reparação do tipo fibrocartilaginoso maduro, vascularização menos evidente (HE, 40x).



Figura 29: Corte da região central da trocleoplastia do GT aos 90 dias. Células justapostas (cj), presença de fibroblastos (fb) e condrócitos (c), sem fibrose; tecido de reparação do tipo fibrocartilaginoso maduro, vascularização menos evidente (HE, 40x).

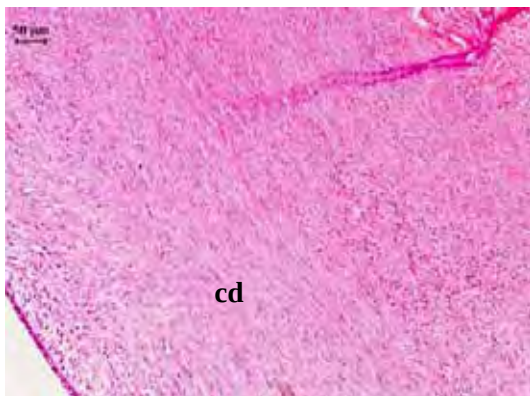


Figura 30: Corte da cápsula articular do GC, próximo a linha de incisão, aos 15 dias. Ausência de processo inflamatório e tecido conjuntivo denso (cd) (HE, 20x).

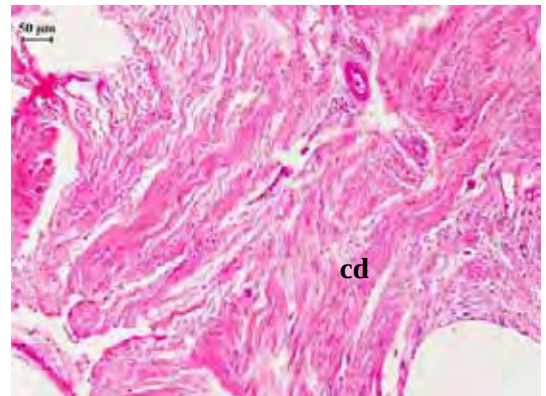


Figura 31: Corte da cápsula articular do GT, próximo a linha de incisão, aos 30 dias. Ausência de processo inflamatório e tecido conjuntivo denso (cd) (HE, 20x).

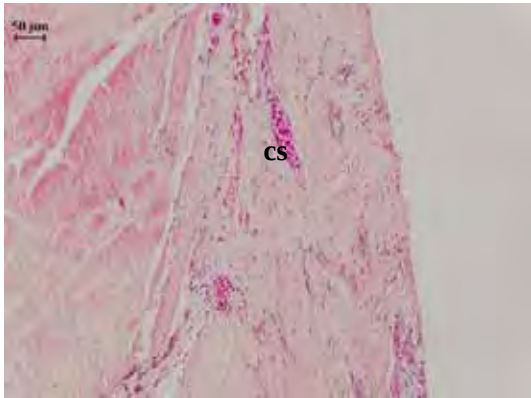


Figura 32: Corte da cápsula articular do GC, próximo a linha de incisão, aos 90 dias. Ausência de processo inflamatório; notar neovascularização e células sanguíneas (cs) (HE, 20x).

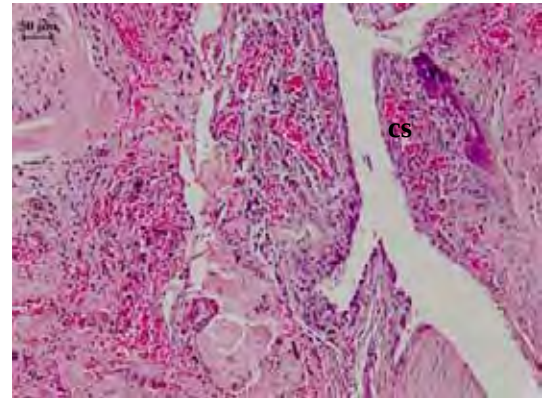


Figura 33: Corte da cápsula articular do GT, próximo a linha de incisão, aos 90 dias. Células sanguíneas (cs); ausência de processo inflamatório (HE, 20x).

5.6 Análise Morfométrica

5.6.1 Número de células:

O número de células de acordo com o grupo experimental e os momentos avaliados está apresentado na Tabela 8.

Quanto ao número de células na região da trocleoplastia entre os diferentes momentos analisados, verificou-se que o GC apresentou aumento do M15 para o M30, permanecendo na mesma proporção até os 90 dias do pós-operatório. Contudo, no GT, observou-se diferença entre o M15 e M60, retornando a valores próximos a M15 aos 90 dias do pós-operatório; a diminuição do número de células também foi notada entre M30 e M60 em relação a M90 (Gráfico 1).

Quanto à comparação entre os grupos, no GT, o número de células foi estatisticamente superior em todos os momentos em relação ao GC, com exceção dos 90 dias do pós-operatório. Neste período, apesar dessa diferença persistir, o GT apresentou número de células inferior ao GC, retornando a valores próximos do M15 (Gráfico 1).

Tabela 8: Mediana e amplitude interquartílica do número de células segundo o grupo experimental e momentos de avaliação.

Grupos	Momentos de Avaliação			
	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Controle	590,5 ± 105,5 aA*	923,0 ± 112,5 aB	920,0 ± 360,5 aB	1076,5 ± 311,3 bB
Tratado	893,0 ± 183,8 bAB	1073,5 ± 201,3 bBC	1483,0 ± 455,4 bC	690,0 ± 219,5 aA

*Letras minúsculas indicam comparação entre grupos nos diferentes momentos de avaliação

Letras maiúsculas indicam comparação do grupo nos diferentes momentos de avaliação

Médias de grupos seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente

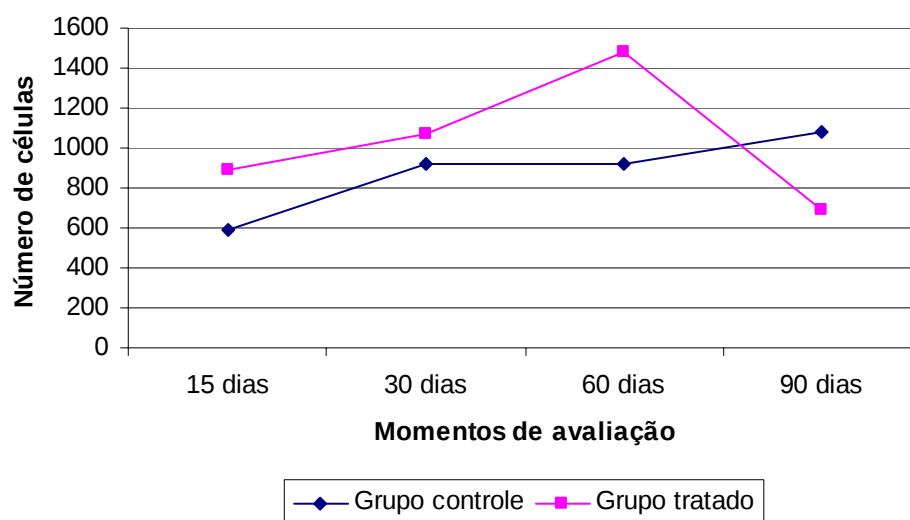


Gráfico 1: Representação gráfica do número de células segundo o grupo experimental e momentos avaliados.

5.6.2 Espessura do tecido de reparação:

A espessura do tecido de reparação de acordo com o grupo experimental e os momentos avaliados está apresentada na Tabela 9.

Quanto à espessura do tecido de reparação na região da trocleoplastia, o GC não apresentou diferença entre os diferentes momentos de avaliação. Contudo, no GT verificou-se aumento da espessura do M15 em relação ao M30, sendo que nos momentos subseqüentes houve diminuição numérica desta. Aos 90 dias, a espessura foi semelhante aos 15 dias do pós-operatório (Gráfico 2).

Quanto à comparação entre os grupos, verificou-se que o GT apresentou-se mais espesso que o GC somente aos 30 dias do pós-operatório. Porém, aos 90 dias, o GC apresentou maior espessura que o tratado (Gráfico 2).

Tabela 9: Média e desvio padrão da espessura do tecido de reparação na região da trocleoplastia, em micrometros, segundo o grupo experimental e momentos de avaliação.

Grupos	Momentos de Avaliação			
	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Controle	155,5 ± 26,0 aA*	146,8 ± 33,4 aA	166,7 ± 14,1 aA	174,3 ± 44,4 bA
Tratado	154,9 ± 23,3 aAB	263,9 ± 34,5 bC	206,0 ± 35,4 aBC	121,5 ± 12,8 aA

*Letras minúsculas indicam comparação entre grupos nos diferentes momentos de avaliação

Letras maiúsculas indicam comparação do grupo nos diferentes momentos de avaliação

Médias de grupos seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente

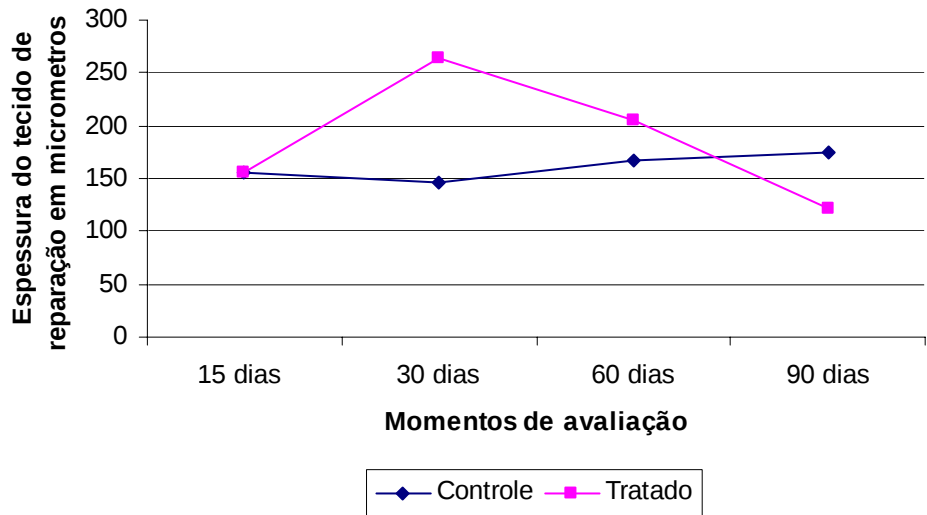


Gráfico 2: Representação gráfica da espessura do tecido de reparação em micrometros segundo o grupo experimental e momentos avaliados.

6. DISCUSSÃO

O estabelecimento dos princípios biológicos da Regeneração Tecidual Guiada tem orientado pesquisas de vários materiais para desenvolvimento de barreiras físicas que induzirão a formação de tecidos desejados (Macedo et al., 2004). Devido às dificuldades de obtenção, importação e conseqüentemente alto custo, no Brasil com o uso de biopolímeros ou membranas biológicas, tornou-se evidente a necessidade de se buscar um material nacional. Dessa forma, a membrana bio sintética à base de celulose vem sendo amplamente estudada (Novaes Jr. et al., 1993). A possibilidade de utilização de materiais com características acima descritas estimularam o desenvolvimento do presente estudo.

A trocleoplastia consiste em uma das principais técnicas de correção cirúrgica para a luxação de patela em cães (Hulsen, 1981; Farias, 1995; Iamaguti et al., 1995; Fossum, 2002; Gareth & Sorrel, 2006). Contudo, a progressão da osteoartrite sugere que a biomecânica da articulação mantenham-se alterada, mesmo após a cirurgia (Roy et al., 1992; Schöttle et al., 2005; Gareth & Sorrel, 2006). Um elemento estratégico para o sucesso na reparação de defeitos na superfície articular constitui a introdução de enxertos, biomateriais ou outros fatores com potencial condrogênico (Mow, 1991; Messner & Gillquist, 1993). Alguns estudos vêm sendo desenvolvidos para verificar se no tecido cartilaginoso articular, a colocação de membrana também favorecerá a migração de células com potencial condrogênico, assim como ocorre no tecido ósseo (Hunziker et al., 2001; Svensson et al., 2005). Na rotina clínica-cirúrgica de pequenos animais, a trocleoplastia é técnica considerável e aplicada com alta freqüência, seja de maneira isolada ou associada, na correção cirúrgica de luxação de patela. Desse modo, procedimentos que possam ser utilizados para culminar em respostas mais favoráveis são importantes e devem ser sempre incentivados tanto na Medicina Humana quanto na Veterinária.

A utilização do cão como modelo experimental permitiu avaliar com maior precisão o processo de reparação da cartilagem articular nesta espécie, após a trocleoplastia, visto que é descrito na literatura, variação no processo de reparação cartilaginosa de espécie para espécie (Mitchell & Shepard, 1976; Sellers et al., 1997).

Como descrito por Farias (1995), a abordagem parapatelar à articulação do joelho de aproximadamente 5 a 7 centímetros de comprimento, num cão de tamanho médio, foi suficiente para expor adequadamente a tróclea femoral e realizar o aprofundamento do sulco. Além disso, neste experimento também foi possível verificar que essa abordagem foi apropriada para a aplicação da membrana de celulose.

Muitos autores relatam a necessidade da fixação da membrana para que não ocorra a migração de tecido indesejável e a soltura desta (Brittberg et al., 1994; Hunziker et al., 2001; Macedo et al., 2003; Astan et al., 2004; Schöttle et al., 2005). Deve-se ressaltar que, apesar de a técnica cirúrgica ter sido exequível e sem complicações, o procedimento de aplicação da membrana exige treinamento e utilização de instrumentais delicados para evitar que ela se rompa.

Neste experimento, não se evidenciou reação inflamatória no pós-operatório na maioria dos animais, notando-se a completa cicatrização da ferida cirúrgica no décimo dia. Na literatura, verificou-se que a utilização de fio de náilon na síntese das estruturas envolvidas nesse tipo de cirurgia, apresenta resultados satisfatórios sem qualquer reação tecidual (Farias, 1995). Contudo, foi observado aumento de volume decorrente de seroma no joelho esquerdo (GT) de quatro animais entre o M1 e M15, e no joelho direito (GC) de três animais após as primeiras 24 horas persistindo até os 15 dias do pós-operatório. Gareth & Sorrel (2006) encontraram em seu estudo retrospectivo, casos de formação de seroma após cirurgia para correção de luxação de patela. Isso demonstra que, apesar de ser considerado uma complicação, o aumento de volume decorrente de seroma, é um fato comum nesse tipo de

cirurgia não trazendo riscos para o seu êxito, nem exigindo grandes esforços no processo de resolução.

Apesar de um animal apresentar claudicação discreta do membro pélvico esquerdo (GT) durante os dois primeiros dias após a cirurgia, o pós-operatório dos animais transcorreu de maneira bastante tranqüila, sendo que a maioria deles não apresentou claudicação em nenhum dos períodos observados, inclusive nas primeiras 24 horas. Dessa forma, a cirurgia bilateral realizada em um único ato operatório não proporcionou transtornos consideráveis, visto que os animais retornaram à função normal do membro, precocemente. Este dado discorda de Farias (1995) que observou que os animais submetidos a atrocleoplastia começaram a apoiar o membro no terceiro dia do pós-operatório, enquanto Moore et al. (1989) relataram que os animais tratados apresentaram claudicação, crepitação ou efusão articular nas duas primeiras semanas de cirurgia. Não se deve deixar de salientar que as medidas pós-operatórias tomadas devem ter contribuído para tais resultados, em especial, o uso trans e pós-operatório de antiinflamatórios, que são utilizados rotineiramente no serviço de Cirurgia da FMVZ de Botucatu.

Como método de diagnóstico radiográfico, as projeções lateral e “skyline” têm sido indicadas na detecção da extensão das deformidades ósseas existentes no fêmur e tíbia, grau de degeneração articular e profundidade do sulco troclear (ROY et al., 1992; Fossum, 2002). Deve-se ressaltar que, apesar da dificuldade no posicionamento do animal durante a execução da radiografia “skyline”, somente essa projeção permitiu observar alterações na tróclea femoral, assim como é citado na literatura (Moore et al., 1989; Farias, 1995). Contudo, sabe-se que esses efeitos da cirurgia sobre a cartilagem articular, não são observados através de exame radiográfico (Schöttle et al., 2006).

A imagem radiográfica nos dois grupos (controle e tratado) possibilitou a observação da manutenção do espaço articular em todos os casos, sugerindo ausência de

processo inflamatório ou degenerativo, mesmo com a presença da membrana de celulose. Farias (1995) notou apenas a presença do aprofundamento do sulco troclear na avaliação radiográfica. Este dado não foi observado no experimento em três animais, tanto no joelho direito quanto no esquerdo, em nenhum momento avaliado. Contudo, em outros três animais, o aprofundamento do sulco não foi observado somente no pós-operatório imediato, sendo visível nos momentos subseqüentes.

Neste trabalho não foi notada reação periosteal, apenas em um animal (A1) observou-se presença moderada de osteófitos dorsais na patela, aos 30 dias do pós-operatório. Tal fato pode ser decorrente de variabilidade individual e até mesmo de interferências com relação ao procedimento cirúrgico, uma vez que este animal foi o primeiro. Apesar de alguns autores não terem encontrado evidências de alterações do tipo degenerativas ou proliferativas na avaliação radiográfica do sulco troclear aprofundado ou na patela (Moore et al., 1989; Farias, 1995); Iamaguti et al. (1995) observaram irregularidades na região do sulco com discreta reação do periósteo na área da inserção da cápsula articular, que se intensificaram aos 60 dias do pós-operatório.

Na avaliação macroscópica, a cápsula articular, excetuando-se um espessamento no local da incisão cirúrgica como consequência do processo cicatricial, não apresentou outras alterações tanto no grupo controle quanto no tratado, como também foi citado por alguns autores (Farias, 1995; Iamaguti et al., 1995). O líquido sinovial com características e quantidades normais está de acordo com o achado por Farias (1995), apesar de Iamaguti et al. (1995) terem relatado um aumento de quantidade do líquido.

Neste experimento, a permanência de um ponto de fio absorvível (Vicryl®) usado para suturar a membrana, em apenas um animal no M15 foi um fato interessante, visto que a absorção deste ocorre por hidrólise no máximo em 70 dias e talvez em ambiente intra-articular esse processo tenha sido acelerado; deve-se ressaltar também a espessura fina (6-0)

do fio, contribuindo para tal resultado. Schöttle et al. (2006) relataram completa absorção do fio Vicryl® nos três pacientes submetidos à biópsia por artroscopia, para avaliação da viabilidade da cartilagem articular, seis meses após a realização da trocleoplastia. Contudo, este mesmo autor refere observação de uma alteração tipo “pannus” nos locais da cartilagem articular onde foram realizadas as suturas do flape cartilaginoso. Isto não foi observado neste experimento, até o período final de avaliação.

Farias (1995) observou macroscopicamente a presença de um delgado tecido cicatricial de aspecto translúcido, liso e brilhante no defeito articular induzido no sulco troclear, que se tornou mais denso e esbranquiçado aos 90 dias do pós-operatório. Ribeiro et al. (2004) também observaram tecido de reparo, que foi classificado como biologicamente aceitável, em defeitos tratados com cartilagem autóloga e, não tratados, na cartilagem articular do côndilo femoral de coelhos aos 90 dias do pós-operatório. Este tipo de tecido também foi encontrado em todos os momentos do GT e, a partir dos 30 dias no GC. Dessa forma, macroscopicamente, o emprego da membrana de celulose parece ter possibilitado formação precoce de tecido de reparação de melhor qualidade (M15).

Ribeiro et al. (2004) relataram que reparos biologicamente aceitáveis podem se formar a partir de defeitos tratados e não tratados e ser indistinguíveis pela aparência macroscópica aos 90 dias do pós-operatório. Isto foi observado neste experimento, visto que somente aos 15, 30 e 60 dias pós-operatório há uma diferença entre o GC e o GT quanto à continuidade e ao brilho do tecido de reparo. A maior irregularidade observada na macroscopia aos 90 dias do pós-operatório no GC frente ao GT (33,33%), pode ser decorrente de um processo de reparação com menor evolução.

A superfície patelar de todos os animais avaliados não apresentou alterações inflamatórias ou degenerativas, apesar de sua estreita relação com o sulco troclear, possivelmente porque o sulco não apresentou alterações macroscópicas dignas de nota.

Todavia, Iamaguti et al. (1995) observaram hipertrofia da superfície patelar em contato com o sulco aprofundado.

Na avaliação histopatológica do sulco troclear, notou-se que aos 15 dias não houve diferença entre o GC e o GT, permitindo-se comprovar que a cartilagem hialina da superfície articular foi substituída por um tecido conjuntivo de estrutura delicada, rico em fibroblastos e numerosos vasos sanguíneos de diferentes diâmetros. Neste sentido, alguns autores também descreveram a presença de tecido intensamente vascularizado, com alto conteúdo celular e tecido conjuntivo denso cobrindo totalmente o sulco troclear (Moore et al., 1989; Farias, 1995). Deve-se ressaltar que o osso subcondral foi acessado no procedimento de trocleoplastia, sendo fonte primária para o desenvolvimento de tal resposta. Dessa forma, foi comprovado que a reparação foi obtida com tecido do tipo fibrocartilaginoso que possui características biomecânicas inferiores à cartilagem articular original (Sellers et al., 1997; Malmonge et al., 2000; Simon & Jackson, 2006).

Contudo, foi notada diferença entre os grupos controle e tratado aos 30 e 60 dias do pós-operatório, sendo que, nestes dois períodos, verificou-se a presença de mais células semelhantes a condrócitos nas lesões recobertas com a membrana de celulose, sugerindo o desenvolvimento de tecido com maior prevalência de células cartilaginosas, apesar do aspecto imaturo. Já nas lesões do GC, foi observada maior quantidade de fibroblastos ativos, além da fibrose sobre a lesão. Dessa forma, o processo de reparação iniciou-se com 30 dias no GT em oposição a Simon & Jackson (2006), que relatam que mesmo utilizando enxertos, biomateriais ou outros fatores com alto potencial condrogênico, a reparação do tecido cartilaginoso é iniciada somente aos 45 dias. Além disso, Malmonge et al. (2000) descrevem que no grupo controle ocorreu formação de tecido fibroso após 1 a 2 meses do procedimento cirúrgico. Isto sugere que a membrana de celulose pode ter proporcionado aceleração no

processo de reparação da cartilagem articular e melhorado a evolução histológica, direcionando e organizando a resposta cicatricial.

A integração do tecido neoformado com o tecido adjacente foi observada em todos os grupos nos diferentes momentos, fato este que discorda do apresentado na literatura. Malmonge et al. (2000) relataram falta de continuidade entre os tecidos formado e nativo em defeitos realizados nos côndilos femorais, enquanto Shapiro et al. (1993) observaram necrose na cartilagem nativa adjacente ao defeito criado após a cirurgia. O estímulo promovido pelo deslizamento patelar no sulco troclear, no presente estudo, à semelhança de Farias (1995), pode ter contribuído para melhor integração entre o tecido neoformado e a cartilagem adjacente.

Na avaliação da cápsula articular não foram observadas alterações nem reação inflamatória em nenhum dos momentos avaliados, tanto no GC quanto no GT, apenas infiltrado mononuclear mais intenso ao redor do fio cirúrgico com proliferação de tecido conjuntivo denso. Isto sugere que a membrana de celulose foi biocompatível, não proporcionando formação de debris e reações de corpo estranho nem induzindo sinovites como descrito por Messner & Gillquist (1993).

A membrana apresentou boa aceitação pelo organismo, auxiliando em algumas fases o processo de reparação da região da trocleoplastia semelhante ao descrito por Carvalho et al. (2003) e Astan et al. (2004). No ambiente intra-articular, a membrana apresentou-se biocompatível e atóxica, além de biodegradável, não promovendo alterações na histopatologia na membrana sinovial, similar ao descrito por Salata et al. (2001) e Novaes Jr. & Novaes (1993) em ambiente extra-articular. Segundo Mello et al. (2001), a celulose sofre degradação no organismo animal por processo bioquímico a esclarecer; tal observação também foi verificada neste experimento, em ambiente intra-articular.

Quanto à análise morfométrica, não foram encontrados dados na literatura consultada a respeito dessa avaliação utilizando membranas biológicas. No GC houve aumento progressivo do número de células até o período final de avaliação; quando se analisou o GT, verificou-se que em relação aos períodos iniciais, essa diferença ocorreu até os 60 dias, sendo verificado retorno aos padrões iniciais aos 90 dias. Este fato foi corroborado pela espessura do tecido de reparação neoformado seguindo padrão semelhante, e pela observação, à microscopia, de tecido conjuntivo mais organizado conforme a evolução do processo. Além disso, o número de células no GT foi superior ao encontrado no GC até os 60 dias do pós-operatório, sendo esse comportamento invertido aos 90 dias. A evolução do número de células sugere que a membrana de celulose pode ter favorecido a migração de células com potencial para reparação na fase inicial, uma vez que se verificou maior celularidade nas fases mais precoces do experimento; no entanto, aos 90 dias, apesar da formação de um tecido fibrocartilaginoso mais organizado e maduro, houve uma tendência à estabilização do mesmo, com menor presença de células em relação ao GC. Tal fato vem ao encontro das afirmativas descritas por Simon & Jackson (2006), de que condrócitos adultos apresentam pequeno potencial de replicação celular, verificando-se, portanto, que o estímulo prevalente foi para o desenvolvimento de fibrocartilagem.

Talvez a maior celularidade do GT em relação ao GC, aos 15 dias do pós-operatório, tenha contribuído com a diferença observada na macroscopia quanto ao tecido de reparação de aspecto esbranquiçado encontrado, apesar de não serem verificadas alterações na análise morfológica.

A fase de reparação na trocleoplastia não foi limitada devido ao aporte sanguíneo e celular a partir do osso subcondral, já que os vasos sanguíneos deste tecido foram atingidos neste experimento, seguindo o processo de reparação de uma lesão profunda (Mankin, 1982). Dessa forma, as células promotoras tiveram acesso à lesão (Sellers et al., 1997; Simons &

Jackson, 2006), proporcionando a formação de tecido composto por fibrocartilagem (Muir, 1983; Sellers et al., 1997; Simon & Jackson, 2006).

O estudo de reparação de cartilagem, apesar de amplamente descrito na literatura, ainda merece atenção e destaque. Vários outros estudos na tentativa de adicionar fatores que influenciem positivamente tal resposta devem ser estimulados, assim como, o uso de membrana de celulose ou outros biomateriais.

7. CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos, nas condições experimentais deste trabalho, permite concluir que:

- A membrana biossintética à base de celulose, não promoveu efeitos deletérios e apresentou boa adaptação e integração tecidual em ambiente intra-articular, mostrando-se clinicamente aplicável em cães.
- Os membros pélvicos submetidos à trocleoplastia com e sem a aplicação da MBC não apresentaram diferença nas avaliações clínicas ou radiográficas, verificando-se o restabelecimento clínico precoce dos mesmos.
- Na macroscopia, o biomaterial acelerou o processo de reparação inicial da região da trocleoplastia, possibilitando a formação de tecido de reparação de melhor qualidade aos 30 e 60 dias.
- Histomorfometricamente verificou-se que o grupo tratado com MBC apresentou melhor resposta ao processo de reparação aos 30 e 60 dias, quanto ao número de células e espessura.
- A integração do tecido neoformado com a cartilagem adjacente foi observada em todos os animais nos diferentes momentos de avaliação.
- A membrana de celulose, como elemento isolado para promover a regeneração da cartilagem, não foi efetiva, porém pode ser usada como arcabouço para a introdução de células ou outros fatores potencialmente condrogênicos.

8. REFERÊNCIAS

AIKEN, S.W., BAUER, M.S., TOOMBS, J.P. Extra-articular fascial strip repair of the cranial cruciate deficient stifle: technique and results in seven dogs. **Vet. Comp. Orthop. Traumatol.**, v.5, p.145-50, 1992.

ASTAN, M.; SIMSEK, G.; DAYL, E. Guided bone regeneration (GBR) on healing bone defects: a histological study in rabbits. **J. Contemp. Dent. Pract.**, v. 2, n. 5, p. 114-23, 2004.

BRITTBERG, M.; LINDAHL, A.; NILSSON, A.; OHLSSON, C.; ISAKSSON, O.; PETERSON, L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocytes transplantation. **N. Engl. J. Med.**, v. 331, p. 889-95, 1994.

BRITTBERG, M.; LINDHAL, A.; NILSSON, A.; OHLSSON, C.; ISAKSSON, O.; PETERSON, L. Rabbit articular cartilage defects treated with autologous cultured chondrocytes. **Clin. Orthop. Rel. Res.**, v.1, n. 326, p. 270-83, 1996.

BUCKWALTER, J.A.; MANKIN, H.J. Articular cartilage degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration and transplantation. **AAOS Inst. Course Lect.**, v. 47, p. 487-504, 1998.

BUCKWALTER, J.A. Articular cartilage injuries. **Clin. Orthop.**, V. 402, p2 21-37, 2002.

CAMPBELL, C.J. **The healing and joint surgery**, v. 60A, p.1076-81, 1978.

CARVALHO, R. S.; NELSON, D.; KELDERNIAN, H.; et al. Guided bone regeneration to repair an osseous defect. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, v. 123, p. 455-67, 2003.

COUTTS, R.D.; SAH, R.L.; AMIEL, D. Effect of growth factors on cartilage repair. **AAOS Inst. Course Lect.**, v. 46, p.487-94,1997.

COUTTS, R.D.; HEALEY, R.M.; OSTRANDER, R. et al. Matrices for cartilage repair. **Clin. Orthop. Rel. Res.**, n. 391S, p. S271-9, 2001.

DAHLIN, C.; LINDE, A.; GOTTLOW, J. et al. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. **Plast Reconstr Surg.**, v.81, p. 672-6, 1988.

FARIAS, L.L. **Aprofundamento experimental do sulco troclear no tratamento da luxação da patela no cão: avaliação clínica, histológica e radiográfica.** Botucatu, 1995. 63p. Dissertação (mestrado). – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista.

FARKAS, T.; LIPPIELLO, L.; MITROVIC, D.; SCHACHAR, N.S.; TRAHAN, C.; MANKIN, H.J. Papain induced healing of superficial lacerations in articular cartilage of adult rabbits. **Trans. Orthop. Res. Soc.**, v.2,p.204, 1977.

FOSSUM, T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**, 1.^a ed, Ed. Roca, São Paulo, 2002, 1335p.

GARETH, I.A., SORREL, J.L.H. Complications associated with corrective surgery for patellar luxation in 109 dogs. **Vet. Surg.**, v. 35, p. 559-566, 2006.

GILLOGLY, S.D.; VOIGHT, M.; BLACHBURN, T. Treatment of articular cartilage defects of the knee with autologous chondrocytes implantation. **J. Orthop. Sports Phys. Ther.**, v.28, p. 241-51,1998.

HULSEN, D.A. Pathophysiology and management of medial patellar luxation in the dog. **Vet. Med. Small Animal Clin.**, v. 76, p. 43-51, 1981.

HUNZIKER, E.B.; DRIESANG, I.M.; SAAGER, C. Structural barrier principle for growth factor-based articular cartilage repair. **Association of bone and joint surgeons workshop supplement: Articular cartilage repair: Experimental models of cartilage repair**. v. 391, p. S182-9, 2001.

IAMAGUTI, P.; PRADO, L. DEL CARLO, R.J.; VULCANO, L.C.; MAMPRIM, M.J.; DAL PAI, V. Patelectomia e aprofundamento do sulco troclear no tratamento de luxação de patela. Estudo experimental em coelhos. **Vet. e Zoot.**, n. 7, p. 85-99, 1995.

KATSUBE, K.; OCHI, M.; UCHIO, Y.; MANIWA, S.; MATSUSAKI, M.; TOBITA, M.; IWASA, J. Repair of articular cartilage defects with cultured chondrocytes in Atelocollagen gel. Comparison with cultured chondrocytes in suspension. **Arch. Orthopaedic Trauma Surgery.**, v. 120, n. 30, p. 121-7, 2000.

KIDD, J.A.; FULLER, C.; BARR, R.S. Osteoarthritis in the horse. **Equine Vet. Edu.**, v.3; n.3, 2001.

KLEMM, D.; SCHUMANN, D.; UDHARDT, U.; MARSCH, S. Bacterial synthesis cellulose – artificial blood vessels for microsurgery. **Prog. Polym. Sci.**, v. 26, p. 1561-1603, 2001.

LIMA, A.F.M.; PASSERI, L.A. Enxerto gengival : procedimento alternativo. **Rev.Paul.Odont.**, v.13, n.4, p.25-7, 1991.

LEIGHTON, R.L. A technique for repair of medial patellar luxation in the dog. **Vet. Med. Small Animal Clin.**, v. 65, p. 365-8, 1970.

LETTRY, V. **Cultivo de condrócitos eqüinos e avaliação da sua condrogenicidade mediante implante de células associadas ao hidrogel em subcutâneo de camundongos atímicos**. 2003. 60f. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

LU, L.; ZHU, X.; VALENZUELA, R.G.; et al. Biodegradable polymer scaffolds for cartilage tissue engineering. **Clin. Orthop. Rel. Res.**, n. 391S, p. S251-70, 2001.

LU, S. Guided bone regeneration using an absorbable membrane combined with a one-stage implant into a recent extraction site: a case report. **Quintessence Int.**, v. 34, p. 253-7, 2003.

LUNDGREN, A.; LUNDGREN, D.; TAYLOR, A. Influence of barrier occlusiveness on guided bone augmentation: an experimental study in the rat. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 9, n. 4, p. 251-60, 1998.

MACEDO, N.L.; MACEDO, L.G.S.; MATUDA, F.S.; et al. Guided bone regeneration with subperiosteal implants of PTFE and hydroxyapatite physical barriers in rats. **Braz. Dent. J.**, v. 14, n. 2, p. 119-24, 2003.

MACEDO, N. L.; MATUDA, F. S.; DE MACEDO, L. G. S.; MONTEIRO, A. S. F.; VALERA, M. C.; CARVALHO, Y. R. Evaluation of two membranes in guided bone tissue regeneration: histological study in rabbits. **Braz J Oral Sci.**, v. 3, n. 8, p. 395-400, 2004.

MAJZOUN, Z.; BERENGO, M.; GIARDINO, R.; et al. Role of intra marrow penetration in osseous repair: a pilot study in the rabbit calvaria. **J. Periodontol.**, v. 70, n. 12, p. 1501-10, 1999.

MALMONGE, S.M.; ZAVAGLIA, C.A.C.; BELANGER, W.D. Biomechanical and histological evaluation of hydrogel implant in articular cartilage. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 307-12, 2000.

MANKIN, H.J. The response of articular cartilage to mechanical injury. **J. Bone Joint Surg.**, v. 64A, n. 3, p. 460-64, 1982.

MARQUES, J. A.; DALECK, C. R.; MARQUES, L. C.; GOMES, M. C. Curativo biológico (Biofill) no tratamento de feridas cutâneas de papilas mamárias de vacas. **Hora Vet**, v. 11, n.61, p. 39-42, 1991.

MCLLWRAITH, C.W.; TROTTER, G.W. **Joint Disease in the horse**, Saunders, p. 1-28, 1996.

MELLO, L.R.; FELTRIN, L.T.; FONTES NETO, P.T.L.; ABREU, A.R. Duraplastia com celulose biossintética - estudo experimental. **Arq Bras Neurocirurg.**, v.15, p.14-21, 1996.

MELLO, L. R.; FELTRIN, Y.; SELBACH, R.; MACEDO Jr., G.; SPAUTZ, C.; HAAS, L. J. Uso da cellulose liofilizada em lesões de nervos periféricos com perda de substância. **Arq Neuro-Psiquiatr.**, v. 59, n. 2B, 2001.

MESSNER, K.; GILLQUIST, J. Synthetic implants for the repair of osteochondral defects of the medial femoral condyle: a biomechanical and histological evaluation in the rabbit knee. **Biomaterials**, v. 14, n. 7, p. 513-21, 1993.

MILLER, M.E.; CHRISTENSEN, G.C.; EVANS, H.E. **Anatomy of the dog**. 1.^a ed., Saunders, 1964, 941 p.

MITCHELL, N.; SHEPARD, N. The resurfacing of adult rabbits articular cartilage by multiple perforations through the subcondral bone. **J. Bone Joint Surg.**, v. 58A, n. 2, p. 230-3, 1976.

MOORE, J.A.; BANKS, W.J.; BLASS, C.E. Repair of full-thickness defects in the femoral trochlea of dogs after trochlea arthroplasty. **Am. J. Vet. Res.**, v. 50, p. 1460-13, 1989.

MOW, V.C.; RATCLIFFE, A.; ROSENWASSER, M.P.; BUCKWANTER, J.A. Experimental studies on repair of large osteochondral defects at a high weight bearing area of the knee joint: a tissue engineering study. **Transactions of the ASME**, v. 113, p. 198-206, 1991.

MUIR, H. Proteoglycans as organizers of the extracellular matrix, **Biochem. Soc. Trans.**, v. 11, p. 613-22, 1983.

NOVAES JR., A. B.; MORAES, N.; NOVAES, A.B. Uso do BioFill como membrana biológica no tratamento de lesão de furca com e sem a utilização de hidroxiapatita porosa. **Rev Bras Odontol.**, v. 46, p. 29-33, 1990.

NOVAES JR., A. B.; NOVAES, A. B. Bone formation over a TiAl6V4 (IMZ) implant placed into an extraction socket in association with membrane therapy (Gengiflex) **Clinical Oral Implants Research**, v.4, p. 106, 1993.

NOVAES JR., A. B.; NOVAES, A. B.; GRISI, M. F. M.; SOARES, U. N.; GABARRA, F. Gengiflex, an alkali-cellulose membrane for GTR: histologic observations **Braz Dent J.**, v. 4, n. 2, p. 65-71, 1993.

NOVAES JR., A. B.; PAPALEXIOU, V.; LUCZYSZYN, S. M.; MUGLIA, V.; SOUZA, S. L. S.; TABA, M. Immediate implant in extraction socket with acellular dermal matrix graft and bioactive glass: a case report. **Implant Dentistry.**, v. 11, n. 4, p. 343-8, 2002.

O' DRISCOLL, S.W. The healing and regeneration of articular cartilage. **J. Bone Joint Surg.**, v.80A, p. 1795-812,1998.

OH, T.; MERAW, S.J.; LEE, E.; et al. Comparative analyses of implant dehiscence defects. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 14, n. 1, p. 80-90, 2003.

PIKOS, M. A. Maxillary sinus membrane repair: report of a technique for large perforations. **Implant. Dent.**, v. 8, n. 2, p. 29-34, 1999.

PIERMATTEI, D.L. **An Atlas of surgical approaches to the bones and joints of the dog and cat**, 3.^a ed., Saunders, 1993, 317p.

POPOVITCH, C.A.; NANNOS, A. Emergency management of open fractures and luxations. **Small Animal Practice**, v.3, n.3, 2000.

RIBEIRO, J.L.; CAMANHO, G.L.; TAKITA, L.C. Estudo macroscópico e histológico de reparos osteocondrais biologicamente aceitáveis. **Acta ortop. Bras.**, v. 12, n. 2, 2004.

REBELLO, C.; ALMEIDA, D.A.; LIMA JR., E.M.; et al. Biofill, um novo substituto de pele: nossa experiência. **Rev. Bras. Cirurg.**, v. 26, p. 1561-1603, 2001.

ROUGHLY, P.J.; WHITE, R.J. Age-related changes in the structure of the proteoglycan subunits from human articular cartilage. **J. Biol. Chem.**, v. 255, p. 217-23, 1980.

ROY, R.G.; WALLACE, L.J.; JOHNSTON, G.R.; WICKSTROM, S.L. A retrospective evaluation of stifle osteoarthritis in dog with bilateral medial patellar luxation and unilateral surgical repair. **Vet. Surg.**, v. 21, n. 6, p. 475-9, 1992.

SALATA, L.A.; HATTON, P.V.; DEVLIN, A.J.; et al. In vitro and in vivo evaluation of e-PTFE and alkali-cellulose membranes for guided bone regeneration. **Clin. Oral Implants**, v. 12, n. 1, p. 62-8, 2001.

SANDBERG, D.; DAHLIN, C.; LINDE, A. Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: an experimental study in rats. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 51, n. 10, p. 1106-14, 1993.

SELLERS, R.S.; PELUSO, D.; MORRIS, E.A. The effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) on the healing of full-thickness defects of articular cartilage. **J. Bone Joint Surg.**, v. 79-A, n. 10, p. 1452-63, 1997.

SCHÖTTLE, P.B.; FUCENTESE, S.F.; PFIRRMANN, C.; BEREITER, H.; ROMERO, J. Trochleoplasty for patellar instability due to trochlear dysplasia. A minimum 2-year clinical and radiological follow-up of 19 knees. **Acta Orthop.**, v. 76, n. 5, p. 693-8, 2005.

SCHÖTTLE, P.B.; SCHELL, H.; DUDA, G.; WEILER, A. Cartilage viability after trochleoplasty. **Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.**, sep, 2006.

SHAPIRO, F.; KOIDE, S.; GLIMCHER, M.J. Cellular origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. **J. Bone Joint Surg.**, v.75 A, p. 532-53, 1993.

SILVA, A.M.; FIALHO, S.A.G.; SANTOS, M.N. Remoção de parafuso compressivo utilizado na fixação interna de osteotomias condilares em cães e avaliação da cicatrização óssea e da cartilagem articular. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v. 42, p. 477-87, 1990.

SIMON, T.M.; JACKSON, D.W. Articular cartilage: injury pathways and treatment option. **Sports Med. Arthrosc. Rev.**, v. 14, n. 3, p. 146-54, 2006.

STOCKWELL, R.A. Chondrocytes. **J. Clin. Pathol.**, 1978, suppl. 7-13.

SVENSSON, A.; NICKLASSON, E.; HARRAH, T.; et al. Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. **Biomaterials**, v. 26, p. 419-31, 2005.

THOMSON, R.C.; WAKE, M.C.; YASZEMSKI, M.J. MIKOS, A.G. Biodegradable polymer scaffolds to regenerate organs. **Adv. Polym. Sci.**, v.122. p. 245-74, 1995.

VAN DER KRAAN, P.M.; BUMA, P. van KUPPEVET, T.; van den BERG, W.B. Interaction of chondrocytes, extracellular matrix and growth factors: relevance for articular cartilage tissue engineering. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 10, m. 8, p. 631-7, 2002.

WEBB, T.E.; COLVIN, J.R. The extracellular proteins of *Acetobacter xylinum* and their relationship to cellulose synthesis. **Can. J. Biochem.**, v. 45, n. 4, p. 465-76, 1967.

WIKESJÖ, V.M.E.; LIM, W.H.; THOMSON, R.G.; et al. Periodontal repair in dogs: gingival tissue occlusion, a critical requirement for GTR? **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, n. 7, p. 655-64, 2003.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 4^a ed. Prentice – Hal. New Jersey, 663p., 1999.