

Universidade Federal do Paraná

Daniel Kyubin Cho

**Desenvolvimento de Sistema para Fixar Tendões
Calcâneos de Ratos a Dispositivos de Tração
Controlada**

Development of a System to Hold Achilles Tendons of Rats on Controlled Traction Devices

Curitiba

2015

Daniel Kyubin Cho

Desenvolvimento de Sistema para Fixar Tendões Calcâneos de Ratos à Dispositivos de Tração Controlada

Trabalho de Conclusão da Especialização em
Cirurgia do Tornozelo e Pé apresentado à
Universidade Federal do Paraná como
exigência parcial para obtenção do título.

Orientador: Prof. Dr. João Luiz Vieira da Silva

Curitiba

2015

Resumo

Introdução: O tendão calcâneo é o mais espesso e resistente do copro humano. É formado pela união das porções tendinosas dos músculos gastrocnemios e sóleo. É mal vascularizado, especialmente em sua porção média, de 2 a 6 cm de sua inserção na tuberosidade posterior do calcâneo. Há dificuldade em fixar esses tendões, especialmente em sua porção miotendínea em células de carga para realizar experimentos de tração controlada. Alguns métodos descritos elevam demasiadamente o custo, havendo a necessidade de se desenvolver um sistema de baixo custo e efetivo para fixar os tendões em células de carga de tração controlada. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 8 tendões calcâneos de membros traseiros de 8 ratos wistar. Os membros foram previamente preparados, desbastando delicadamente a extremidade muscular do tendão calcâneo, na sequência foi utilizado um fio de aço galvanizado de 0,89mm e fixado com auxílio de cola instantânea e sequencialmente sobreposto (enrolado) até o limite da transição miotendínea. Em sua extremidade óssea foi preservado um baguete ósseo de 0,5x0,5 cm da pata traseira. Foram realizados testes sequenciais com máquina de tração controlada. **Resultados:** Todos os 8 tendões ficaram bem adaptados. Com força máxima de 70,91 +- 9,36N e distensão de 18,33 +- 5,55mm. **Discussão/Conclusão:** O método de fixação é eficaz, de baixo custo e facilmente reproduzível.

Palavras-chave: Tendão Calcâneo; Resistência à Tração; Ratos Wistar Furth;

Lista de Ilustrações

Figura 1 – Peça recém dissecada	9
Figura 2 – Fio de aço	9
Figura 3 – Lixa de densidade P50	9
Figura 4 – Conjunto tendão-fio	10
Figura 5 – Conjunto tendão-fio-lixas	10
Figura 6 – Conjunto lixa-tendão-fio-lixas	11
Figura 7 – Conjunto fixado à célula de carga	11
Figura 8 – Ruptura do tendão calcâneo sob tração controlada	12
Figura 9 – Gráfico Força x Distensão	12

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 MATERIAIS E MÉTODOS	6
2.1 Experimento animal.....	7
2.1.1 <i>Espaço destinado aos animais.....</i>	7
2.1.2 <i>Contenção dos animais</i>	7
2.1.3 <i>Procedimento anestésico e analgesia</i>	7
2.1.4 <i>Monitoramento da anestesia</i>	8
2.1.5 <i>Grupo de estudo</i>	8
2.2 Ensaio de tração	8
2.3 Preparo da extremidade músculo tendínea	8
3 RESULTADOS.....	12
4 DISCUSÃO/CONCLUSÃO.....	13
REFERÊNCIAS	14

1 INTRODUÇÃO

O tendão calcâneo, também conhecido como tendão de Aquiles, é o mais espesso e resistente tendão do corpo humano. (O'BRIEN, 1992) ⁽¹⁾

Os tendões são transmissores da força produzida pela contração muscular aos ossos, possibilitando a mobilidade. O peso seco de um tendão é representado por 70% de colágeno.(O'BRIEN, 1992) ⁽¹⁾ Sendo aproximadamente 95% do colágeno tipo I com uma pequena quantidade de elastina.(BALEY, 1973; COOMBS 1980) ^(2,3)

O tendão calcâneo é formado pela união das porções tendinosas dos músculos gastrocnêmios e sóleo, (CUMMINS, 1946) ⁽⁴⁾ que compõem a massa muscular posterior da perna, permitindo movimentos e a marcha.

Ele é mal vascularizado, especialmente em sua porção média, de 2 a 6 cm de sua inserção na tuberosidade posterior do calcâneo, (LAGERGREN 1959) ⁽⁵⁾ com seu suprimento sanguíneo vindo do paratendão para sua substância. (EDWARDS 1946; SCHMIDT-ROGLFING 1992) ^(6,7)

O tendão calcâneo pode suportar forças de até 10 vezes o peso corporal, chegando até a 7000 newtons. (KOMI 1992; CLAIN 1992) ^(8,9)

Durante o experimento “Utilização do Ácido Hialurônico no Tratamento de Tendinopatia Induzida de Tendão de Aquiles de Ratos”, verificou-se uma grande dificuldade na fixação dos tendões calcâneos dos ratos às presilhas da célula de carga, especialmente em sua extremidade muscular.

Alguns dos métodos descritos elevam demasiadamente o custo do experimento com moldes específicos fabricados sob medida e utilização de nitrogênio líquido sob condições controladas. (BARROS 2007) ⁽¹⁰⁾

Objetivo: Desenvolver um método de fixação de tendão de ratos a célula de carga de dispositivo de tração controlada de baixo custo e de fácil reprodução.

2 MATERIAIS E MÉTODOS:

Esse experimento é braço do projeto de mestrado Utilização do Ácido Hialurônico no Tratamento de Tendinopatia Induzida de Tendão de Aquiles de Ratos.

Trabalho realizado no Biotério da Universidade Positivo, tendo sido aprovado pelo comitê de ética em pesquisas sob protocolo n. 185/2014

2.1 Experimento animal

As experiências com animais foram realizadas nos termos institucionais de acordo com a normas previstas na Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e após aprovação da Comissão de Ética do uso de Animais (CEUA) da Universidade Positivo (UP).

Oito (8) membros traseiros direitos de oito (8) ratos machos da raça *Wistar* pesando entre 250 a 300g compuseram a amostra para o estudo.

2.1.1 Espaço destinados aos animais:

O ambiente destinado ao alojamento dos animais foi arejado, com iluminação ambiente e controle de ruídos. Os animais foram alojados em gaiolas plásticas de 49x34x16 cm disponibilizadas pelo Biotério da Universidade Positivo num total de 4 (quatro) animais por caixa. A alimentação se deu por administração de ração específica e água através de dispensadores apropriados.

2.1.2 Contenção dos Animais:

Os ratos foram mobilizados de suas gaiolas pelo tronco, colocando-se o polegar da mão direita no lado esquerdo do pescoço, o indicador no lado direito do pescoço e o 3º dedo atrás da pata direita. Caso os ratos sejam mais ariscos ou agressivos foram imobilizados colocando-se o polegar e o 3º dedo da mão direita em cada lado do pescoço e segurando o seu tronco logo em seguida.

A contenção do rato foi feita segurando a cauda do animal com a mão direita, para pinçar a pele do pescoço, logo abaixo das orelhas, com o polegar e o indicador da mão esquerda e logo a seguir, pinçar a pele do dorso com os 3º, 4º e 5º dedos contra a palma da mão, o rato foi imediatamente elevado do apoio, após a contenção, virando-se as patas para cima.

2.1.3 Procedimento Anestésico e analgesia:

Os animais foram submetidos à anestesia geral, primeiramente com indução anestésica com isoflurano, com inalação em campânula de vidro, e posteriormente foi administrado, por via intramuscular na região do quadríceps e parte posterior da coxa, com agulha 25x5,

aproximadamente 0,5 ml de uma associação de cloridrato de ketamina (80mg/Kg) e cloridrato de xilazina (10mg/Kg).

A analgesia foi realizada com o uso de acetaminofeno líquido em dose diária de 200mg/Kg/dia o qual foi administrado via oral administrado na água.

2.1.4 Monitoramento da Anestesia:

A profundidade anestésica foi avaliada por meio da presença ou ausência de determinados sinais como reflexo da cauda, reflexo palpebral e corneal e das alterações das frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR), que sofrem modificações de acordo com os planos atingidos (profundidade da anestesia).

2.1.5 Grupo de Estudo:

O procedimento de eutanásia foi realizado em câmara de CO₂. Imediatamente após a eutanásia, foram expostos e removidos os tendões de Aquiles dos animais para estudo, através de incisão longitudinal posterior, com bisturi n° 15, pinça dente de rato, e tesoura de dissecação.

2.2 Ensaio de Tração

Os testes de tração foram realizados em uma máquina de ensaio universal (modelo DL 2000, EMIC São José dos Pinhais, Brasil), na qual foram acopladas duas garras auto-fixantes, superior fixada na junção miotendínea com preparo prévio do tecido e inferior na junção ósteo-tendínea com distância aproximada de 5mm entre elas e velocidade de tracionamento constante de 1,8mm/min. (SILVA 2013) ⁽¹¹⁾

2.3 Preparo da Extremidade Músculo Tendínea

A extremidade muscular do tendão calcâneo foi desbastada delicadamente para se tornar mais plana, na sequência foi utilizado um fio de aço galvanizado de 0,89mm de diâmetro (Viva®), esse fio foi fixado a extremidade muscular do tendão através de cola instantânea (SuperBonder®) e sequencialmente sobreposto (enrolado) até o limite da transição miotendínea.

(Fig. 1 Foto da peça recém dissecada. 1. Transição miotendínea. 2. Tendão calcâneo. 3. Pata, preservando a inserção do tendão calcâneo.)



Fonte: Autor

(Fig. 2. Fio de aço de 0,89mm de diâmetro.)



Fonte: Autor

Foram utilizadas lixas de densidade P50 (Mestre Tigre®), cortadas de forma retangular de 2x3cm e fixadas com uso de cola instantânea em sua parte lisa, formando duas superfícies ásperas.

(Fig. 3. Lixa de densidade P50 grãos (Mestre Tigre®)



Fonte: Autor

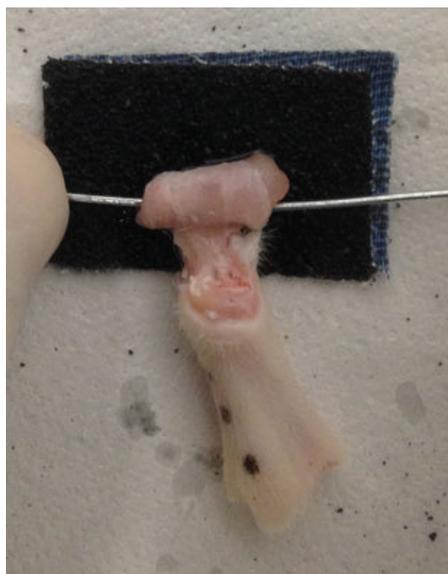
A seguir a massa formada (músculo e fio de aço) foi fixada com cola instantânea a peça de lixa previamente preparada, preservando área tendínea sem contato com lixa ou cola.

(Fig. 4. Conjunto tendão-fio, com superfície muscular enrolada sobre o fio até transição miotendínea e fixada com auxílio de cola instantânea (SuperBonder®))



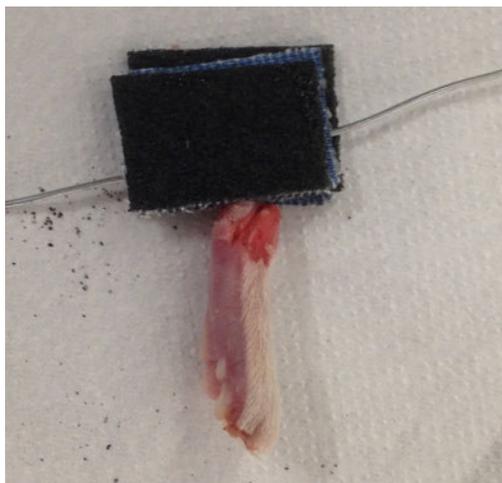
Fonte: Autor

(Fig. 5. Conjunto tendão-fio-lixas. Conjunto da fig. 4, fixado a lixa com auxílio de cola instantânea, preservando área tendínea sem contato com lixa ou cola.)



Fonte: Autor

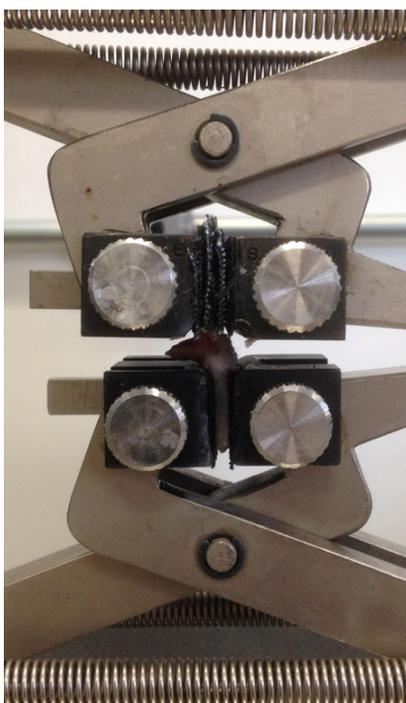
(Fig. 6. Conjunto lixa-tendão-fio-lixa, pronto para ser fixado ao aparelho)



Fonte: Autor

O conjunto então foi fixado às presilhas do aparelho.

(Fig. 7. Conjunto fixado à célula de carga.)



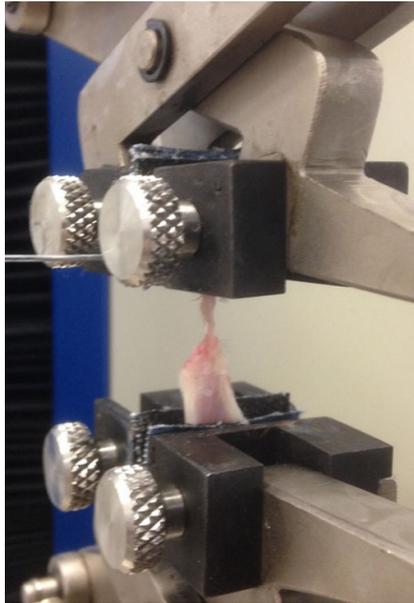
Fonte: Autor

Em sua extremidade óssea, foi preservado um baguete ósseo de 0,5x0,5 cm da pata traseira e fixado através do osso calcâneo nas presilhas, previamente preparadas com lixas de densidade P50 grãos fixadas através de cola instantânea.

Realizamos testes seqüenciais com tendões de ratos, os quais foram induzidos tendinopatia e serviram como grupo controle com uso de soro fisiológico.

Foram testados 8 tendões de ratos wistar oriundos de sua pata traseira direita.

(Fig. 8. Ruptura do tendão calcâneo sob tração controlada)



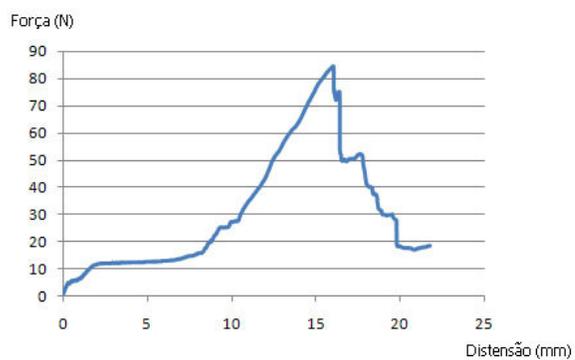
Fonte: Autor

3 RESULTADOS

Todos os 8 tendões ficaram bem adaptados ao sistema, sem haver nenhum deslizamento, que seria instantaneamente aferido pela célula de carga, devido a uma perda súbita de tração.

No momento da falha macroscópica notamos o estalido (“pop”) audível como descrito em trabalhos com metodologia semelhante. (SILVA 2013) ⁽¹¹⁾

Foram produzidas curvas de Força x Distensão (SILVA 2013) ⁽¹¹⁾ conforme fig. 10.



(Fig. 9 Gráfico Força em Newtons X Distensão em milímetros (ensaio 1) – A queda abrupta na curva demonstra o início da ruptura tendínea)

Com relação a força máxima obtivemos uma média de $70,91 \pm 9,36$ N, já com relação a distensão obtivemos uma média de $18,33 \pm 5,55$ mm.

4 DISCUSSÃO / CONCLUSÃO

A fixação do tendão calcâneo de ratos em equipamentos de tração exige um preparo especial devido à característica pequena e delicada do tecido, de forma que não altere os resultados obtidos.

Os métodos já descritos possuem um custo elevado dificultando e, por vezes, inviabilizando o projeto.

O método de fixação desenvolvido é eficaz, de baixo custo e facilmente reproduzível, possível de ser utilizado em diversos estudos de tração mecânica de tendões calcâneos de ratos.

REFERÊNCIAS

1. O'BRIEN, MOIRA. **Functional anatomy and physiology of tendons.** Clinical Sports Medicine 11: 505-20, 1992.
2. BAILEY AJ, LAPIERE CM. **Effect of an additional peptide extension of the N-terminus of collagen from dermosparactic calves on the cross-linking of the collagen fibres.** European J. Biochem., 34: 91-96, 1973.
3. COOMBS RRH, KLENERMAN L, NARCISI P, NICHOLS A, POPE FM. **Collagen typing in Achilles tendon rupture.** J. Bone and Joint Surg., 62-B(2): 258, 1980.
4. CUMMINS EJ, ANSON BJ, CARR BW, WRIGHT RR. **The structure of the calcaneal tendon (of Achilles) in relation to orthopaedic surgery.** Surg., Gynec. and Obstet., 83: 107-116, 1946.
5. LAGERGREN C, LINDHOLM A. **Vascular distribution in the Achilles tendon; an angiographic and microangiographic study.** Acta Chir Scand. 116 (5-6):491-495 1959
6. EDWARDS DAW. **The blood supply and lymphatic drainage of tendons.** J. Anat., 80: 147-152, 1946.
7. SCHMIDT-ROHLFING B, GRAF J, SCHNEIDER U, NIETHARD FU. **The blood supply of the Achilles tendon.** Internat. Orthop., 16: 29-31, 1992.
8. KOMI PV, FUKASHIRO S, JÄRVINEN M. **Biomechanical loading of Achilles tendon during normal locomotion.** Clin. Sports Med., 11: 521-531, 1992.
10. CLAIN MR, BAXTER DE. **Achilles tendinitis.** Foot Ankle. 13 (8): 482-487 1992
9. BARROS RM. **Avaliação biomecânica comparativa entre a re-inserção de tendões por meio de canaleta óssea e de âncora: estudo experimental em coelhos,** [tese]. São Paulo, 2007
11. SILVA FS, MARQUES MS, SILVA JB, ABREU BJ, NETO, OT, CORRÊA MA. **Desenvolvimento de sistema para reprodução e análise de curvas força-distensão em tendões calcâneos de ratos.** Rev. Ciênc. Méd. Biol., Salvador, v.12, n.1, p.15-21, jan./abr. 2013

DECLARAÇÃO

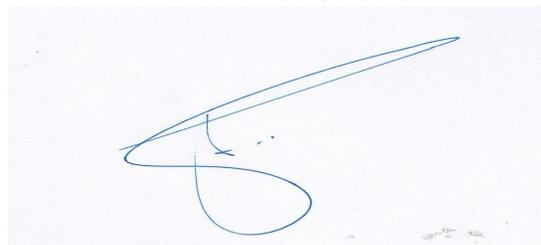
Declaro, que o **Dr. DANIELK YUBIN CHO**, completou os requisitos necessários para obtenção do **Título de Especialização** no Curso de Especialização em Cirurgia do Tornozelo e Pé , ofertado pela Universidade Federal do Paraná, CEPE 199/11.

Para obtê-los, concluiu os créditos didáticos previstos no Regimento do Programa e apresentou sua monografia sob o título **Desenvolvimento de Sistema para Fixar Tendões Calcâneos de Ratos a Dispositivos de Tração Controlada**, sob orientação do Dr. **JOAO LUIZ VIEIRA DA SILVA** em tempo hábil.

A Monografia foi defendida nesta data e aprovada pela Comissão Examinadora composta pelos **Professores Drs Luiz Antonio Munhoz da Cunha, Paulo Sergio dos Santos, Edilson Forlin, Xavier Soler, Paulo Alencar, João Luiz Vieira da Silva Mario Massatomo Namba e o Vice Coordenador do Curso EDMAR STIEVEN FILHO**

E, por ser verdade, firmo à presente.

Curitiba, 09 de março de 2015.



Prof. Dr. EDMAR STIEVEN FILHO
Professor ADJ. I - Departamento
de Cirurgia - Disciplina de
Ortopedia e Traumatologia.UFPR -
HC

