

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR
UNIVERSIDADE REGIONAL DE BLUMENAU - FURB**

LUIZ ALBERTO SANTA ROSA CHANAMÉ

**ENXERTO AUTÓLOGO DE CARTILAGEM EM DEFEITOS
OSTEOCONDRAIS DO CÔNDILO FEMORAL:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Interinstitucional em Clínica Cirúrgica da UFPR e FURB como requisito parcial para obtenção do grau acadêmico de Mestre.

Orientador:
Prof. Dr. Osvaldo Malafaia

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR
UNIVERSIDADE REGIONAL DE BLUMENAU - FURB**

LUIZ ALBERTO SANTA ROSA CHANAMÉ

**ENXERTO AUTÓLOGO DE CARTILAGEM EM DEFEITOS
OSTEOCONDRAIS DO CÔNDILO FEMORAL:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Interinstitucional em Clínica Cirúrgica da UFPR e FURB como requisito parcial para obtenção do grau acadêmico de Mestre.

Orientador:
Prof. Dr. Osvaldo Malafaia

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais que, apesar de distantes, sempre souberam fazer-se presentes.

Ao Prof. Dr. **Oswaldo Malafaia**, orientador que sempre soube ensinar, compreender e confiar na minha pessoa. Obrigado pela amizade e por estimular o espírito de pesquisa, sempre valorizando o lado humano e ético, que serão sempre valores indispensáveis nesta jornada chamada Vida.

Ao Prof. Dr. **Luis Renato Mello**, coordenador do mestrado, pela oportunidade que me deu de fazer parte deste grupo e por estimular a produção científica na FURB.

Ao **Instituto de Ortopedia e Traumatologia de Joinville**, que há 8 anos aceitou investir na formação de um jovem médico e, alguns anos depois, devolveu à sociedade um profissional com formação técnica e humana em uma área da medicina extremamente gratificante, a Ortopedia.

À enfermeira **Clarice Elisa da Silva** pelas palavras de incentivo e apoio naquelas horas em que as coisas não parecem caminhar conforme o esperado.

À patologista **Karla Patrícia Casemiro**, do Laboratório de Patologia Vitale, pelo inestimável auxílio durante o estudo anatomopatológico.

Às senhoras **Amércia Izabel Buzzi e Genoveva Martins**, bibliotecárias da Universidade Regional de Blumenau, pelo auxílio na revisão bibliográfica.

Ao estatístico **Geraldo Cássio dos Reis** pelo auxílio na análise estatística deste trabalho.

Aos estudantes de Medicina **Gustavo L. Boos e Marcela de Moraes Barros** pela prestimosa ajuda na realização da parte experimental deste trabalho.

Ao Srs. **Arno Müller e Carlos Costiche**, do Biotério da Universidade Regional de Blumenau pelo auxílio na manipulação dos animais.

Aos colegas de turma do Mestrado em Clínica Cirúrgica que trilham juntos por esta longa estrada que leva ao conhecimento científico, mas sem esquecer de desfrutar a vida na sua maravilhosa banalidade.

SUMARIO

LISTA DE FIGURAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVOS	4
2 REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 ESTUDOS EXPERIMENTAIS QUE ANALISAM O ENXERTO OSTEOCONDRAIS NAS LESÕES CONDRAIS	6
2.2 OS ADESIVOS DE FIBRINA NO TRATAMENTO DE LESÕES CONDRAIS	8
3 MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO	13
3.2 MATERIAL UTILIZADO	13
3.3 PRÉ-OPERATÓRIO	14
3.4 TÉCNICA ANESTÉSICA	15
3.5 TÉCNICA CIRÚRGICA	15
3.6 PÓS-OPERATÓRIO	17
3.7 GRUPOS DE ANIMAIS	18
3.8 EUTANÁSIA	18
3.9 CRITÉRIOS FUNCIONAIS DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL	19
3.10 CRITÉRIOS MACROSCÓPICOS DE AVALIAÇÃO	19
3.11 CLASSIFICAÇÃO MICROSCÓPICA UTILIZADA	20
3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA	20
4 RESULTADOS	21
4.1 RESULTADOS FUNCIONAIS	22
4.2 RESULTADOS MACROSCÓPICOS	22
4.2.1 JOELHO COM ENXERTO (TRATADO)	22
4.2.2 JOELHO SEM ENXERTO (CONTROLE)	24
4.2.3 REGIÃO FEMOROPATELAR (ÁREA DOADORA)	25
4.3 RESULTADOS MICROSCÓPICOS	26
4.3.1 JOELHO COM ENXERTO	26
4.3.2 JOELHO SEM ENXERTO	27
4.3.3 REGIÃO FEMOROPATELAR (ÁREA DOADORA)	28
5 DISCUSSÃO	29
5.1 A RESPEITO DO MÉTODO	30
5.1.1 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO	30
5.1.2 TÉCNICA ANESTÉSICA	30
5.1.3 TÉCNICA CIRÚRGICA	31
5.1.4 A RESPEITO DO ADESIVO DE FIBRINA	32
5.2 A RESPEITO DOS RESULTADOS	33
5.2.1 RESULTADOS FUNCIONAIS	33
5.2.2 RESULTADOS MACROSCÓPICOS E MICROSCÓPICOS	33

6 CONCLUSÕES.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

LISTA DE FIGURAS

1	INSTRUMENTAL DE RETIRADA DO ENXERTO	14
2	ENXERTO OSTEOCONDRALE E REGIÃO DO EXPERIMENTO	16
3	ENXERTO EM POSIÇÃO	17
4	GRUPOS ESTUDADOS	18
5	JOELHO ENXERTADO COM 14 DIAS DE EVOLUÇÃO	23
6	JOELHO ENXERTADO APÓS 14 DIAS DE EVOLUÇÃO	23
7	JOELHO ENXERTADO COM 21 DIAS DE EVOLUÇÃO	24
8	JOELHO ENXERTADO COM 45 DIAS DE EVOLUÇÃO	24
9	JOELHO ENXERTADO COM 45 DIAS DE EVOLUÇÃO	25
10	JOELHO CONTROLE COM 45 DIAS DE EVOLUÇÃO	25
11	ASPECTO HISTOLÓGICO DA CARTILAGEM ENXERTADA AOS 21 DIAS	26
12	ASPECTO HISTOLÓGICO DA CARTILAGEM ENXERTADA AOS 45 DIAS	26
13	ASPECTO HISTOLÓGICO DA LESÃO NO GRUPO CONTROLE AOS 21 DIAS	27
14	ASPECTO HISTOLÓGICO DA LESÃO NO GRUPO CONTROLE AOS 45 DIAS	27

RESUMO

As lesões que comprometem a cartilagem articular representam situações de difícil solução na prática médica. A cartilagem hialina possui potencial limitado de regeneração e os métodos convencionais de tratamento levam à formação de tecido fibrocartilaginoso, que possui características biomecânicas inferiores à cartilagem hialina, não sendo portanto, o tecido ideal de reparação. A enxertia osteocondral autóloga é uma técnica que visa transplantar um fragmento único de osso e cartilagem hialina de uma zona articular que não suporta carga para a região do defeito cartilaginoso, reconstituindo a congruência articular. Este estudo experimental tem por objetivo avaliar a utilização de enxerto osteocondral autólogo para preenchimento de um defeito no côndilo femoral de cães e fixado à zona receptora com adesivo selante de fibrina (Beriplast® P, Centeon). O procedimento experimental consistiu na confecção de um defeito interessando osso e cartilagem no côndilo femoral medial dos joelhos direito e esquerdo em 18 cães. Para confecção do defeito utilizou-se uma trefina manual com mandril que era introduzida perpendicularmente à superfície articular do côndilo femoral criando um defeito de 5 mm de diâmetro por 5 mm de profundidade. No joelho esquerdo, o defeito criado foi preenchido com um enxerto osteocondral retirado da região femoropatelar ipsilateral com as mesmas dimensões do defeito e utilizando-se a mesma trefina, sendo o enxerto fixado à zona receptora com o adesivo selante de fibrina. O joelho direito foi usado como controle do estudo. Os animais foram divididos em 3 grupos, de acordo com a data da eutanásia em 14, 21 e 45 dias e os fêmures distais foram avaliados macroscópica e microscopicamente. Nos joelhos tratados observou-se incorporação do enxerto osteocondral na zona receptora com resultados considerados satisfatórios em 66.7% dos casos analisados após 45 dias de cirurgia. A análise histológica demonstrou a presença de condrócitos viáveis na zona enxertada em todos os grupos. A análise estatística mostrou que houve diferença estatisticamente significativa entre os joelhos controle e tratado nos 3 grupos. Os resultados obtidos permitem concluir que enxertos osteocondrais retirados de uma região que não suporta carga são uma alternativa satisfatória para tratamento de lesões osteocondrais, pois mantém condrócitos viáveis no seu interior e integram-se de maneira adequada ao osso subcondral; o adesivo selante de fibrina pode ser usado para a fixação de fragmentos osteocondrais de 5 mm de diâmetro por 5 mm de comprimento.

ABSTRACT

Lesions that endanger the articular cartilage are situations that are difficult to solve in medical practice. Hyaline articular cartilage has a limited regeneration potential and conventional treatment methods induce the formation of the fibrocartilaginous tissue, which has biomechanical characteristics inferior to the hyaline cartilage, therefore, it is not an ideal tissue for reparation. The autologous osteochondral graft is a treatment method aiming at transplanting a single bone fragment and hyaline cartilage from an articular zone which does not support load to the region of the cartilaginous defect, reconstructing the articular congruency. The purpose of this experimental study is to evaluate the application of autologous osteochondral graft for repairing a defect on the femoral condyle of dogs and which had been fixed to the receptor zone with fibrin adhesive (Beriplast®P, Centeon). The experimental procedure consisted of making a defect where the interest lay in the bone and cartilage of the medial femoral condyle of the right and left knees in 18 dogs. To create the defect, a manual trephine with mandrel was introduced perpendicularly to the articular surface of the femoral condyle, resulting in a defect measuring 5 mm in diameter by 5 mm in depth. In the left knee, the created defect was filled with an osteochondral graft removed from the ipsilateral femoral-patellar region with the same dimensions of the defect and using the same trephine. The graft was fixed to the receptor zone with fibrin adhesive. The right knee was used as control. The animals were divided into 3 groups, according to the date of euthanasia in 14, 21 and 45 days and the distal femurs were evaluated macro and microscopically. Incorporation of the osteochondral graft in the receptor zone has been observed in the treated knees, with results which were considered satisfactory in 66.7% of the cases analyzed 45 days after surgery. Histological analysis showed the presence of viable chondrocytes in the grafted zone in all groups. Statistical analysis showed that, among the 3 groups, there was a statistically significant difference between the right knees which had been controlled and the left knees, which were those that had been treated. The results obtained led to the conclusion that the osteochondral grafts removed from a region which does not support load are a satisfactory choice for treatment of osteochondral lesions since they maintain viable chondrocytes inside and get adequately integrated into the subchondral bone; fibrin adhesive can be used for fixation of osteochondral fragments with a diameter of 5 mm by a depth of 5 mm.

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A cartilagem articular hialina é a estrutura que reveste a superfície das articulações, sendo um tecido conjuntivo que não possui inervação, vascularização e nem drenagem linfática. É constituída por matriz extracelular contendo células chamadas condrócitos. A nutrição e o transporte de metabólitos dos condrócitos ocorre por difusão através da matriz extracelular e dependem do líquido sinovial. Embora possua apenas poucos milímetros de espessura, a cartilagem articular tem surpreendente elasticidade e resistência às forças de compressão e também possui excepcional capacidade de distribuir cargas, reduzindo assim o impacto sobre o osso subcondral (BUCKWALTER; MANKIN, 1997).

Devido sua localização, a cartilagem é muito vulnerável a lesões traumáticas e degenerativas, que são situações freqüentes e de difícil solução na prática ortopédica. Estas lesões traumáticas da cartilagem podem causar dor, incapacidade, derrame articular, bloqueios e, eventualmente, evoluir para processos degenerativos da articulação, com perda da qualidade de vida nos indivíduos em idade produtiva. Por isso, torna-se necessário maior entendimento quanto a resposta da cartilagem articular às lesões.

O estudo das lesões cartilaginosas e de técnicas para tratá-las é assunto que tem recebido muita atenção da comunidade científica nos últimos anos. Idealizaram-se algumas técnicas cirúrgicas com objetivo de tratar as lesões cartilaginosas, porém a maioria mostrou-se pouco eficaz nos resultados a longo prazo. O objetivo do tratamento de lesões cartilaginosas é restaurar a integridade da superfície articular e proporcionar uma articulação indolor e com mobilidade, evitando que a cartilagem evolua para a degeneração (MINAS; NEHRER, 1997).

Em 1743, HUNTER, citado por WIRTH e RUDERT (1996, p. 302), já afirmava que a cartilagem articular lesada não possuía capacidade de regeneração. Atualmente sabe-se que a cartilagem articular hialina tem limitado potencial de regeneração e que o seu processo natural de cicatrização não é suficiente para restaurar a estrutura cartilaginosa normal e, conseqüentemente, a função articular.

O funcionamento normal de uma articulação depende de cartilagem hialina intacta que proporcione uma superfície articular lisa e regular, favorecendo o deslizamento com baixo atrito.

Os defeitos osteocondrais da superfície de carga requerem reconstrução cirúrgica, preservando a maior quantidade possível de cartilagem articular saudável. A restauração da anatomia cartilaginosa normal é

fundamental para se obter resultados satisfatórios com o tratamento, diminuindo os riscos de subsequente artrite degenerativa.

As técnicas de tratamento de lesões cartilaginosas que se utilizam da estimulação da medula óssea são técnicas que implicam penetração do osso subcondral para alcançar a zona de vascularização, estimulando a formação de coágulo de fibrina que contém células primitivas pluripotenciais. Este coágulo se diferencia e se remodela resultando em tecido de reparação fibrocartilaginoso (BUCKWALTER; MANKIN, 1997).

Dentre estas técnicas destacam-se as perfurações múltiplas do osso subcondral, a artroplastia por abrasão e as microfraturas, que originam como tecido de regeneração, a fibrocartilagem. Entretanto, a fibrocartilagem não tem as mesmas propriedades mecânicas e estruturais da cartilagem hialina normal, sofrendo degeneração com o decorrer do tempo (MINAS; NEHRER, 1997).

Uma forma de tratamento para lesões osteocondrais é a utilização da matriz óssea desmineralizada. SELLERS et al. (1997) e COSTA (1999) realizaram estudos experimentais em coelhos utilizando a matriz óssea desmineralizada e concluíram que ela induz a formação de tecido condrogênico e é útil na reparação de lesões osteocondrais.

As técnicas de enxertia que visam a regeneração da cartilagem articular apresentam como principal dificuldade técnica a fixação do enxerto à zona receptora. A fixação adequada é fundamental para a incorporação e sobrevivência do enxerto.

A utilização do enxerto de pericôndrio no tratamento de lesões cartilaginosas tem como inconveniente o fato de evoluir para ossificação endocondral do tecido enxertado, resultando em incongruência articular e degeneração do enxerto (THORNHILL, 1997).

A utilização de enxerto osteocondral autólogo é uma possibilidade para o tratamento de defeitos cartilaginosos. HANGODY et al. (1997) realizaram estudos experimentais em cães utilizando essa técnica de enxertia para preenchimento de defeitos no joelho de cães.

Este método consiste na retirada de cilindros constituídos de uma porção de cartilagem hialina juntamente com o osso subcondral de uma área que não suporta peso e transplantá-la para a zona lesada. O objetivo é colocar condrócitos viáveis na área lesada. Acredita-se que se o segmento transplantado for adequadamente fixado à zona receptora ele pode incorporar-se e preservar a cartilagem, mantendo os condrócitos viáveis.

1.1 OBJETIVOS

No intuito de avaliar a utilização de enxerto autólogo de cartilagem em lesões osteocondrais foi desenvolvido este trabalho experimental em cães que tem por objetivo :

1) Verificar se um enxerto osteocondral retirado da região femoropatelar e implantado em um defeito no côndilo femoral medial de cães é viável após 14, 21 e 45 dias.

2) Avaliar se o adesivo selante de fibrina (Beriplast® P, Centeon) pode ser usado na fixação de enxertos osteocondrais no tratamento de lesões cartilaginosas.

Revisão da Literatura

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ESTUDOS EXPERIMENTAIS QUE ANALISAM O ENXERTO OSTEOCONDRAIS NO TRATAMENTO DE LESÕES CONDRAIS.

A literatura mostra que diversos estudos experimentais têm sido desenvolvidos para avaliar a resposta da cartilagem articular à lesões osteocondrais. Os resultados desses estudos têm mostrado o limitado potencial de regeneração da cartilagem articular hialina.

MITCHELL e SHEPARD (1976) publicaram um estudo experimental em 25 coelhos nos quais removeram, com o auxílio de bisturi, a cartilagem hialina da superfície distal do fêmur. No joelho direito, após a retirada da cartilagem, faziam perfurações de um milímetro com uma broca atingindo o osso subcondral e no lado contralateral (controle) apenas removiam a cartilagem sem fazer perfurações. Concluíram que, após doze meses, havia regeneração com tecido fibroso denso nos locais onde foram feitas perfurações e no lado controle não houve regeneração nas áreas onde a cartilagem foi removida.

LINDHOLM; ÖSTERMAN; KINNUNEN et al. (1982) publicaram trabalho experimental em 20 coelhos nos quais removeram um fragmento osteocondral de 2 a 3 mm da superfície de carga do côndilo femoral medial. Este defeito era preenchido com outro fragmento osteocondral retirado da parte lateral do côndilo femoral com o mesmo tamanho porém de formato diferente quando comparado com o defeito criado. O tempo de observação variou de 6 a 200 dias e como resultado observaram achatamento e degeneração do enxerto. Concluíram então que o formato do enxerto deve ser o mais parecido possível com o defeito, propiciando assim uma reconstrução anatômica exata da superfície articular.

GOMAR-SANCHO e ORQUIN (1987) publicaram um estudo experimental utilizando 51 coelhos nos quais criaram, com o auxílio de uma broca, defeito de 3 mm de diâmetro por 2 mm de profundidade no côndilo femoral medial do joelho. No primeiro grupo, deixaram a lesão cicatrizar espontaneamente, no segundo preencheram o defeito com um enxerto osteocondral retirado da zona femoropatelar e no terceiro preencheram o defeito com um pedaço do menisco lateral. Os coelhos foram sacrificados em períodos que variaram de 1 a 12 semanas após a operação. Após estudo histológico, concluíram que enxertos osteocondrais autólogos e a fibrocartilagem meniscal podem ser usados para preenchimento de defeitos

osteocondrais, porém nas lesões não enxertadas há formação de fibrocartilagem que se degenera pela carga de peso e não se diferencia em cartilagem hialina.

KIM; MORAN e SALTER (1991) realizaram estudos experimentais em 80 coelhos para avaliar a regeneração da cartilagem articular e o efeito da movimentação pasiva contínua sobre ela. Em 40 coelhos criaram, com o auxílio de uma broca, um defeito de 3 mm de diâmetro na cartilagem patelar sem atingir o osso subcondral e, em outros 40, realizaram uma perfuração na cartilagem patelar com as mesmas dimensões e que atingia o limite além da junção cartilagem-osso, mas sem penetrar profundamente no osso esponjoso subcondral. A patela contralateral serviu de controle. Após a cirurgia, 20 animais de cada grupo eram liberados para movimentação ativa e os animais restantes eram submetidos à movimentação passiva contínua por 2 semanas em aparelho específico, seguido por movimentação ativa intermitente até a data do sacrifício. Metade dos animais de cada grupo foram sacrificados com 4 semanas e a outra metade com 12 semanas. Os resultados no grupo 1 mostraram que não havia evidências de cicatrização dos defeitos criados com 4 e 12 semanas, tendo ocorrido degeneração cartilaginosa. No grupo 2 observaram que, a maioria dos animais tratados com movimentação passiva contínua, evoluiu com formação de tecido de regeneração semelhante à cartilagem hialina após 12 semanas. Concluíram que os defeitos de espessura parcial que comprometem apenas a cartilagem articular não cicatrizam e levam à degeneração cartilaginosa, enquanto que os defeitos com espessura total que alcançam além da junção cartilagem-osso cicatrizam com formação de tecido de regeneração semelhante à cartilagem hialina, sendo esta favorecida pela movimentação passiva contínua por 2 semanas no pós-operatório.

PALETTA; ARNOCZKY; WARREN (1992) publicaram estudo experimental onde produziam defeitos de 4 mm de diâmetro nas zonas sem carga e com carga da tróclea femoral em 20 cães adultos. Os defeitos eram preenchidos com coágulo exógeno de fibrina e a regeneração era avaliada através de estudo histológico. O joelho contralateral serviu de controle. Após o sacrifício com 2, 4, 8, 12 e 24 semanas observaram que, tanto nos joelhos controle como nos tratados, os defeitos eram preenchidos com tecido conjuntivo fibroso que eventualmente se diferenciava em fibrocartilagem. Entretanto, nos joelhos tratados a cicatrização ocorria de maneira mais uniforme e com menor depressão na superfície do defeito que os controles e, em geral, as zonas sem carga regeneravam-se de maneira mais uniforme do que as zonas com carga. Concluíram que a utilização de coágulo exógeno de fibrina promove regeneração mais rápida e organizada de defeitos osteocondrais.

DEW e MARTIN (1992) publicaram um trabalho experimental utilizando 12 cães nos quais criaram defeito osteocondral circular de 5,5 mm de diâmetro

no talus. Em seis cães, o defeito era preenchido com um enxerto osteocondral retirado da primeira falange da pata ipsilateral do cão e nos outros seis cães (controle) o defeito não foi tratado. Após o sacrifício, em um período que variou de seis a vinte semanas, concluíram através de estudo histológico, que uma arquitetura articular e subcondral mais próxima do normal era conseguida com a utilização do enxerto osteocondral.

HANGODY; KISH; KÁRPÁTI et al. (1997) realizaram um estudo experimental em 18 cães nos quais retiraram enxertos cilíndricos osteocondrais da zona femoropatelar para preenchimento de defeitos cartilagosos criados no femur distal dos cães. Os enxertos eram retirados através de instrumental especial desenvolvido pelos autores e encaixados sob pressão na zona receptora, sendo a técnica denominada "mosaicoplastia". Após o sacrifício dos cães, em um período que variou de 4 a 52 semanas, concluíram que os enxertos osteocondrais constituem tratamento satisfatório para lesões cartilagosas no joelho.

VAN DYK; DEJARDIN; FLO et al. (1998) publicaram um trabalho experimental em 20 cães nos quais criaram, com o auxílio de uma broca, um defeito circular de 10 mm de diâmetro por 10 mm de profundidade na tróclea femoral dos membros pélvicos de cães. Utilizando-se de enxerto ósseo esponjoso retirado de ambas as tibias, preencheram o defeito criado na tróclea femoral e não colocaram nada no lado controle contralateral. Após o sacrifício (entre 2 e 24 semanas) concluíram, através de estudo histológico, que o uso de enxerto ósseo esponjoso acelera a regeneração e produz preenchimento mais uniforme de defeitos osteocondrais em relação ao grupo controle não enxertado.

2.2 OS ADESIVOS DE FIBRINA NO TRATAMENTO DE LESÕES CONDRAIS

O adesivo selante de fibrina tem sido indicado para adesão de tecidos, hemostasia, suporte de sutura e selagem de cavidades corporais. Alguns estudos experimentais foram desenvolvidos para avaliar a utilização desse adesivo em fixação de fragmentos condrais e osteocondrais.

ALBRECHT; ROESSNER e ZIMMERMANN (1983) realizaram estudo experimental em 46 coelhos adultos criando um defeito osteocondral de 4 mm de diâmetro com o auxílio de uma broca, operando ao todo 75 articulações do joelho. Em 23 defeitos, alguns foram deixados sem tratamento, outros foram preenchidos com espuma de colágeno ou adesivo de fibrina, ou ainda uma combinação de ambos. Os 52 defeitos restantes foram preenchidos com pequenos fragmentos autólogos de cartilagem misturados com adesivo de fibrina. No primeiro grupo de 23 articulações observaram que, mesmo após

40 semanas, nenhum sinal histológico de cartilagem hialina foi encontrado em quaisquer dos defeitos. No segundo grupo com 52 articulações observaram rápida proliferação de condrócitos junto com o aparecimento de cartilagem hialina no estudo histológico. Concluíram que a cartilagem adulta tem algum potencial de regeneração, quando os vasos subcondrais propiciam um adequado suprimento nutricional e de oxigênio à cartilagem, fazendo com que a utilização de adesivo de fibrina com fragmentos autólogos de cartilagem permitisse um fechamento total dos defeitos em um nível próximo da cartilagem articular adjacente.

MEYERS E HERON (1984) realizaram estudo experimental em 4 cães nos quais operavam joelhos e cotovelos totalizando 16 articulações. Nos joelhos realizavam uma fratura osteocondral nos côndilos femorais. A fratura condilar esquerda era fixada com adesivo de fibrina e a direita fixada com dois fios de Kirschner. Nos cotovelos realizavam uma fratura oblíqua na porção lateral da cabeça do rádio. No rádio esquerdo, a fratura era fixada com adesivo e no direito com dois fios de Kirschner. Os animais foram sacrificados com 2, 4 e 8 semanas e a regeneração óssea foi avaliada através de estudo histológico com coloração pela hematoxilina eosina e estudo radiológico. Os resultados obtidos sugeriram que com 2 e 4 semanas a união óssea parecia ser mais acelerada nas fraturas fixadas com adesivo e após 8 semanas a consolidação era completa em todos os sítios de fratura. Concluíram que a regeneração óssea parece ser estimulada pelo adesivo selante de fibrina e a consolidação ocorre mais rapidamente do que nas fraturas fixadas com pinos, porém sugerem estudos experimentais com maior número de animais para verificar se o adesivo de fibrina acelera a união óssea.

KELLER; ANDREASSEN; JOYCE et al. (1985) publicaram um trabalho realizado em 19 cães nos quais realizavam estudo comparativo entre o adesivo de fibrina e os fios de Kirschner para fixação de fraturas osteocondrais nos côndilos femorais. Com uma serra circunferencial retiravam um cilindro osteocondral de 7 mm de diâmetro por 4 mm de profundidade da superfície articular dos côndilos femorais. Esses fragmentos eram então fixados com fios Kirschner de 1 mm ou com adesivo de fibrina. A pata esquerda era imobilizada com o joelho em extensão completa através de uma órtese que permitia a marcha. Os cães foram sacrificados com 4, 7, 8 e 14 dias e a porção distal do fêmur foi montada em uma máquina de testes para avaliar a resistência da fixação utilizada. Concluíram que o adesivo selante de fibrina pode ser usado para fixação de pequenos fragmentos osteocondrais, desde que imobilização adequada do membro seja obtida.

KAPLONYI; ZIMMERMAN; FRENYO et al. (1988) realizaram estudos experimentais em 35 coelhos adultos nos quais realizaram cortes na cartilagem hialina a nível do côndilo femoral lateral e estes cortes eram preenchidos com adesivo de fibrina. Os mesmos cortes eram realizados no côndilo femoral

medial e deixados sem tratamento. O processo de cicatrização foi avaliado por 16 semanas através de estudo histológico. Os coelhos foram sacrificados em grupos de cinco após 1, 2, 3, 4, 8, 12 e 16 semanas. No grupo que usou adesivo de fibrina houve regeneração da lesão após 12 semanas enquanto que no grupo não tratado um espaço bem definido era ainda visível no sítio de lesão após o período de observação. Concluíram que o adesivo de fibrina é um produto eficaz no tratamento operatório de lesões condrais pois reduz a retração das bordas da lesão e esta era preenchida mais rapidamente com matriz cartilaginosa produzida pelos condrócitos, com fibras de colágeno.

PLAGA; ROYSTER; DONIGIAN et al. (1992) realizaram estudo experimental em 56 coelhos adultos comparando diferentes métodos de fixação para fraturas osteocondrais no côndilo femoral. Realizavam fraturas osteocondrais oblíquas com o auxílio de osteótomo no côndilo femoral medial e utilizavam para fixação o adesivo selante de fibrina, fio de Kirschner de 0,71 mm e pinos reabsorvíveis de polidioxanone (PDS) com 1.3 mm de diâmetro. Utilizaram 4 grupos de 14 animais sendo que, no grupo controle, não realizavam fixação da fratura; no grupo fixado com fios de Kirschner inseriam dois fios divergentes para fixação da fratura; no grupo do adesivo de fibrina, a fratura era reduzida anatomicamente e fixada fazendo-se pressão digital no fragmento por 2 a 3 minutos e no grupo fixado com fios reabsorvíveis (PDS) inseriam dois fios divergentes para estabilizar a fratura. Não utilizavam imobilização externa no pós-operatório e um animal de cada grupo foi sacrificado com 2, 3 e 4 semanas. Os coelhos restantes foram sacrificados com 6 semanas. Obtiveram como resultados a consolidação da fratura em 29% do grupo controle, em 100% do grupo fixado com fio de Kirschner, em 50% do grupo com adesivo de fibrina e em 86% do grupo fixado com pinos reabsorvíveis. Concluíram que a fixação com pinos reabsorvíveis é uma alternativa viável à fixação com pinos metálicos de fraturas osteocondrais instáveis e que a estabilização apenas com o adesivo selante de fibrina produz resultados inferiores e não deve ser usado como método único de fixação.

BRITTBURG; SJÖGREN-JANSSON; LINDAHL et al. (1996) realizaram estudo experimental em 14 coelhos divididos em 2 grupos para avaliar se o adesivo selante de fibrina com e sem utilização do hormônio do crescimento poderia auxiliar na regeneração natural de uma lesão na superfície articular. No grupo 1 formado por 8 coelhos criaram um defeito osteocondral retangular de 9 x 4 mm² no sulco femoral dos joelhos foi preenchido com adesivo de fibrina (Tissel®) enquanto que o defeito no outro joelho foi deixado sem tratamento para servir de controle. Um coelho foi sacrificado após 8 dias e o outro após 4 meses. No grupo 2 formado por seis coelhos foi criado um defeito com as mesmas dimensões em ambos os joelhos e os defeitos foram preenchidos com o adesivo de fibrina sendo que no joelho direito também foi injetado 200 microgramas de hormônio do crescimento por 1 semana. No joelho controle contralateral foi injetado solução salina estéril na mesma

Material e Métodos

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo experimental foi realizado no Laboratório de Técnica Cirúrgica da Universidade Regional de Blumenau (FURB) e o estudo anatomopatológico no Laboratório de Patologia Vitale em Brusque-SC. As normas adotadas para a realização deste estudo foram as seguintes:

a) Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 10520 e NBR 6023 (1989) para as citações e referências bibliográficas.

b) Normas para Apresentação de Trabalhos da UFPR (6ª Ed.-1996).

c) Normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) que regulamenta trabalhos experimentais em animais, de acordo com a Lei nº. 6638, de 08/05/1979.

d) Nomina Anatomica (5ª Ed.- 1987) e Nomenclatura Anatômica Veterinária Ilustrada (1ª Ed. Brasileira, 1999) para os termos anatômicos utilizados.

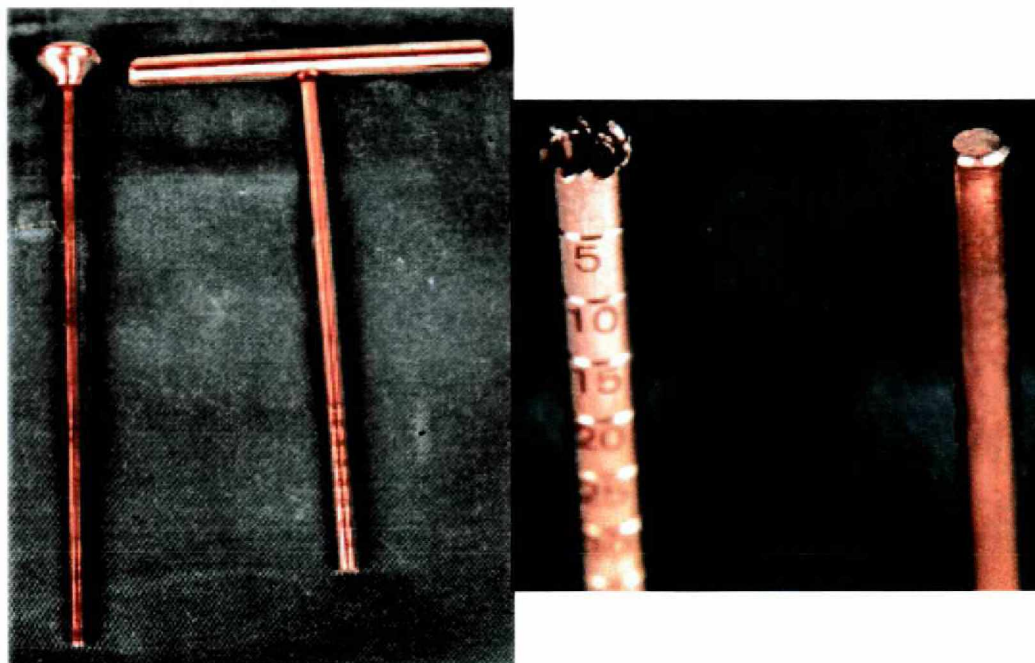
3.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Foram utilizados 18 cães machos, adultos, de raça mestiça, com peso corpóreo variando entre 6 e 11 kilogramas, provenientes do biotério da FURB. Previamente à cirurgia todos os animais foram examinados com o objetivo de avaliar o estado geral e as condições de pele, principalmente dos membros a serem operados, sendo excluído qualquer animal em mau estado geral ou com lesões cutâneas.

3.2 MATERIAL UTILIZADO

Para a confecção do defeito no côndilo femoral e para a retirada do enxerto, utilizou-se uma trefina cirúrgica manual de 5 mm de diâmetro. A trefina era graduada a intervalos de 5 mm e possuía um mandril para facilitar a retirada do enxerto osteocondral (Figura 1).

FIGURA 1 - INSTRUMENTAL DE RETIRADA DO ENXERTO.



Esquerda: trefina cirúrgica manual com mandril.

Direita: detalhe da extremidade distal graduada da trefina.

Utilizou-se também um martelo de baixo impacto que possuía a porção proximal (impactador) em material plástico para diminuir o impacto sobre a fresa e reduzir os riscos de fratura do enxerto.

Para a fixação do enxerto na zona receptora utilizou-se o adesivo selante de fibrina (Beriplast® P, Centeon). Este adesivo constitui-se em um sistema de fibrina adesiva que simula a fase final do processo de coagulação do sangue resultando, após a reconstituição, em soluções de trombina e fibrinogênio humanos. O fibrinogênio é convertido em fibrina pela ação da trombina. A fibrina formada é ligada, de forma cruzada pelo fator XIII da coagulação, originando uma rede fina e mecanicamente estável, que possui boas propriedades adesivas.

3.3 PRÉ-OPERATÓRIO

Os animais iniciaram restrição alimentar e hídrica nas doze horas que antecederam o procedimento cirúrgico. Todos os animais foram submetidos à pesagem para cálculo da quantidade de anestésico a ser utilizada. Após a pesagem, os animais foram conduzidos a sala de cirurgia, posicionados na mesa de cirurgia em decúbito dorsal com os quatro membros amarrados e iniciava-se a indução anestésica por via endovenosa. Após a anestesia, os membros pélvicos eram deixados livres para permitir a mobilização dos joelhos durante o ato cirúrgico.

3.4 TÉCNICA ANESTÉSICA

A anestesia foi executada e controlada pela monitora da disciplina de Técnica Cirúrgica da FURB. Realizava-se punção percutânea de veia periférica em membro torácico esquerdo e hidratação através de infusão endovenosa de solução salina isotônica, na dose de 8ml/kg/hora.

Utilizava-se o diazepam (Diazepam®, União Química) como medicação pré-anestésica na dose de 10 mg e manutenção da anestesia com cloridrato de cetamina (Ketamin®, Cristália) 3 mg/kg em média a cada 30 minutos por via endovenosa. Pequenas doses adicionais eram injetadas quando necessário para manutenção do plano anestésico adequado. Não houve necessidade de intubação orotraqueal.

A antibioticoprofilaxia era feita através de injeção intramuscular de penicilina procaina, na dose de 400.000 U.I administrada durante a indução anestésica. Esta dose era repetida 12 horas após a primeira dose.

3.5 TÉCNICA CIRÚRGICA

Após a anestesia, os membros pélvicos posteriores eram desamarrados, lavados com água e sabão e deixados livres para mobilização durante o ato cirúrgico. Realizava-se tricotomia bilateral em joelhos e a antisepsia da pele era feita com solução de polivinil pirrolidona-iodo (Povidine®, Darrow). A região a ser operada era isolada com campo cirúrgico estéril de orifício central.

As articulações dos joelhos eram expostas através de uma abordagem parapatelar medial de aproximadamente cinco centímetros. Realizava-se a abertura da porção medial da cápsula articular com luxação manual lateral da patela para exposição dos côndilos femorais.

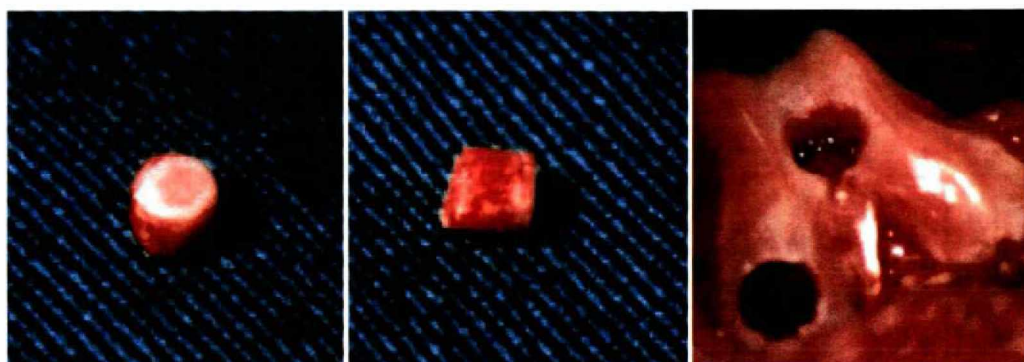
No membro pélvico direito (lado controle) realizava-se uma perfuração circular no côndilo femoral medial na zona de carga com o auxílio de uma trefina manual graduada a intervalos de 5 mm. A trefina era posicionada perpendicularmente à superfície cartilaginosa e era introduzida através de marteladas em sua porção proximal até a marca de 5 mm. O defeito criado era de 5 mm de diâmetro por 5 mm de profundidade e atingia até o osso subcondral.

Após a confecção do defeito, a cápsula articular era fechada com pontos de sutura separados utilizando-se fio de catgut cromado 2-0 (Catgut cromado® 2-0, Ethicon) e a pele suturada com fio de mononáilon 3-0 (Mononylon® 3-0, Ethicon) com pontos separados.

No membro pélvico esquerdo (lado tratado), criava-se o defeito no côndilo femoral medial (zona receptora) com as mesmas dimensões do lado controle. Realizava-se então, com o auxílio da trefina manual e martelo, a retirada de um enxerto cilíndrico de cartilagem e osso subcondral da região femoropatelar (zona doadora) do joelho esquerdo. A trefina manual possuía um mandril que facilitava a retirada do enxerto sem o risco de quebrá-lo.

Este enxerto osteocondral retirado da região femoropatelar tinha as mesmas dimensões do defeito criado e era utilizado para preencher o defeito do côndilo femoral medial (Figura 2). Após hemostasia por compressão da zona receptora, o enxerto era fixado em posição com o auxílio do adesivo selante de fibrina (Beriplast® P, Centeon).

FIGURA 2 - ENXERTO OSTEOCONDAL E REGIÃO DO EXPERIMENTO.

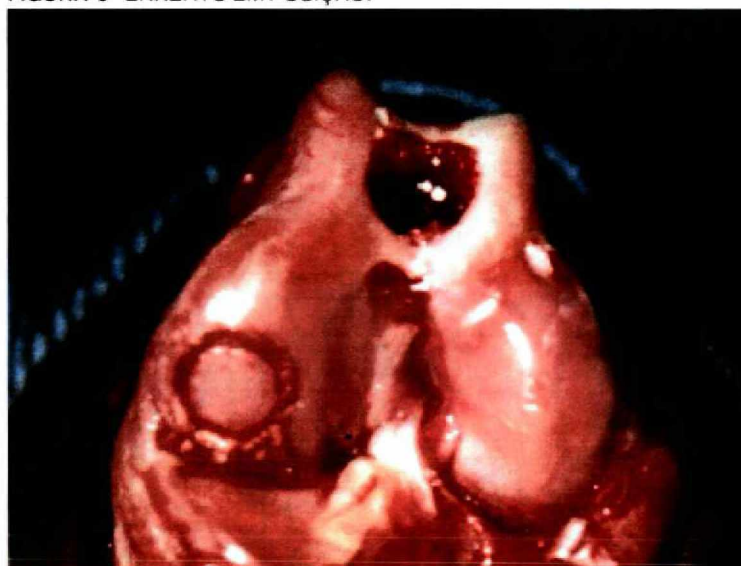


Esquerda : vista anteroposterior mostrando a superfície cartilaginosa do enxerto osteocondral.
Centro : vista em perfil mostrando a porção óssea do enxerto osteocondral **Direita** : Vista da região doadora femoropatelar e do defeito no côndilo femoral medial.

Com o auxílio de gotejador específico, colocava-se 2 gotas do adesivo de fibrina na zona receptora e posicionava-se o enxerto osteocondral no defeito fazendo-se compressão manual do enxerto por 3 minutos.

Confirmava-se visualmente o posicionamento congruente do enxerto com a superfície cartilaginosa do enxerto posicionada a nível da cartilagem adjacente (Figura 3). O fechamento da articulação era feito da mesma maneira descrita anteriormente, seguida de limpeza da ferida cirúrgica com solução salina isotônica e oclusão com curativo compressivo de gaze, algodão ortopédico e atadura de crepom, mantido por 24 horas. O tempo médio de cirurgia era de 35 minutos.

FIGURA 3 - ENXERTO EM POSIÇÃO.



Enxerto fixado com adesivo de fibrina no leito receptor.

3.6 PÓS-OPERATÓRIO

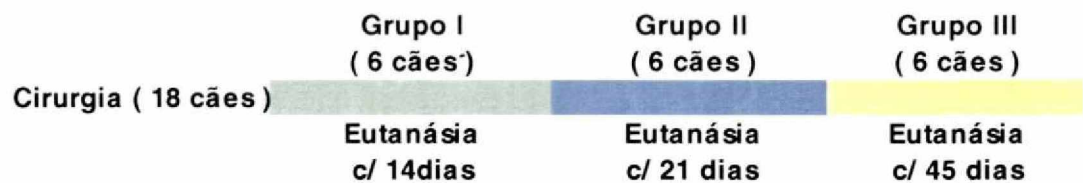
Para analgesia pós-operatória administrava-se dipirona (Dipirona®, Ariston), 500 mg em dose única, por via intramuscular ao final do procedimento cirúrgico. Os curativos eram trocados diariamente, de maneira asséptica, utilizando-se solução fisiológica a 0,9% ,colocação de antisséptico a base de bacitracina e neomicina (NEOTOPIC SM®, Quimica Santa Marina) e proteção com gaze. Os pontos de sutura eram retirados após dez dias.

Os cães eram mantidos sem qualquer tipo de imobilização que restringisse a marcha, sendo identificados por números tatuados na orelha esquerda. Nos primeiros cinco dias permaneceram alojados em gaiolas individuais e alimentados com ração padrão do biotério e água sem restrição. Após esse período ficavam alojados no canil coletivo até a data da eutanásia.

3.7 GRUPOS DE ANIMAIS

Os 18 cães foram divididos em 3 grupos de seis animais, de acordo com o período da eutanásia (Figura 4).

FIGURA 4 - GRUPOS ESTUDADOS.



Divisão dos grupos conforme o período de eutanásia.

Ao final dos respectivos períodos de observação, os cães foram submetidos a eutanásia conforme descrito anteriormente e a região distal do fêmur foi cuidadosamente dissecada, sendo retiradas as partes moles que envolviam a articulação do joelho.

O terço distal do fêmur foi seccionado com uma serra manual e as peças foram avaliadas macroscopicamente e fotografadas. A peça era fixada em formol a 10 % por 24 horas, sendo então encaminhada para processamento histológico e coloração com hematoxilina-eosina (H.E).

3.8 EUTANÁSIA

Os cães eram sacrificados com infusão endovenosa de cloridrato de petidina (Dolosal®, Cristália) até adormecerem, seguida por infusão endovenosa de cloreto de potássio 19,1% (Cloreto de Potássio®, Ariston) até a parada cardiorespiratória.

3.9 CRITÉRIOS FUNCIONAIS DE AVALIAÇÃO

Os aspectos funcionais analisados foram:

- a) Aspecto da ferida operatória
- b) Mobilidade articular passiva do joelho
- c) Presença de derrame articular
- d) Início de carga nos membros operados

3.10 CRITÉRIOS MACROSCÓPICOS DE AVALIAÇÃO

Em todos os animais a articulação do joelho era dissecada e inspecionada para avaliar :

- a) Aspecto do tecido sinovial
- b) Estabilidade do enxerto
- c) Congruência entre o enxerto e a cartilagem adjacente
- d) Sinais de degeneração da cartilagem enxertada

Os resultados macroscópicos foram classificados como:

a) **SATISFATÓRIOS**

quando o enxerto encontrava-se estável no leito receptor

sem alterações degenerativas na cartilagem enxertada

havia congruência entre o enxerto e a cartilagem adjacente.

b) **INSATISFATÓRIOS**

quando o enxerto apresentava-se instável no leito receptor ou solto no interior da articulação

alterações degenerativas na superfície articular da tibia

alterações degenerativas na cartilagem enxertada ou adjacente

incongruência entre o enxerto e a cartilagem adjacente

3.11 CLASSIFICAÇÃO MICROSCÓPICA UTILIZADA

As peças permaneceram por um período de 10 a 12 horas, passando por diferentes concentrações de álcool e xilol, além de parafina.

Terminado o processo, no dia seguinte o material era incluído em blocos de parafina os quais, após estarem gelados, eram cortados no micrótomo a uma espessura que variou entre 3 e 5 micra.

Após processos de desparafinação, as lâminas já contendo os cortes do material eram coradas com hematoxilina-eosina (H.E) e laminadas estando prontas para análise microscópica.

Para análise do tecido de reparação observado microscopicamente utilizou-se a classificação proposta por KIM et al. (1991), em:

- a) Tecido fibroso – definido como tecido constituído por fibroblastos e por tecido conjuntivo
- b) Tecido mesenquimal indiferenciado – definido como tecido formado por células fibroblásticas, em fase inicial de diferenciação em condrócitos
- c) Cartilagem hialina imatura – definida como tecido formado por células com características morfológicas de condrócitos, entretanto, sem a distribuição colunar vertical das células na camada intermediária
- d) Cartilagem hialina madura: definida como tecido formado por células com características morfológicas de condrócitos, apresentando uma distribuição colunar vertical na camada intermediária.

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Considerou-se que o teste estatístico mais adequado a ser aplicado no conjunto de dados era o não-paramétrico de Fisher para tabelas de contingência 2 x 2.

O teste verificava se havia ou não diferença significativa entre as porcentagens de satisfatório ou não satisfatório entre os joelhos direito (controle) e esquerdo (tratado). Considerou-se um nível de 5% de significância.

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 RESULTADOS FUNCIONAIS

Com relação ao aspecto da ferida operatória houve cicatrização satisfatória em todos os animais, sem sinais de infecção ou deiscência de sutura.

Quanto à mobilidade articular passiva dos joelhos observou-se perda dos últimos graus de flexão em 1 joelho com enxerto do grupo I, no qual havia incongruência articular entre o enxerto e a cartilagem adjacente, observada por ocasião da eutanásia. Nos demais cães a amplitude de movimentos permaneceu inalterada.

O derrame articular persistiu em média por 5 dias em ambos os joelhos, porém nos joelhos com enxerto havia derrame articular em maior quantidade do que no lado contralateral. Após o período de 5 dias quando havia regressão do derrame articular, os cães espontaneamente iniciavam carga parcial e passavam a apoiar-se gradativamente nos membros operados.

O início de carga total sobre os membros operados foi observado, em média, 7 dias após o procedimento cirúrgico.

4.2 RESULTADOS MACROSCÓPICOS

4.2.1 JOELHO COM ENXERTO (TRATADO)

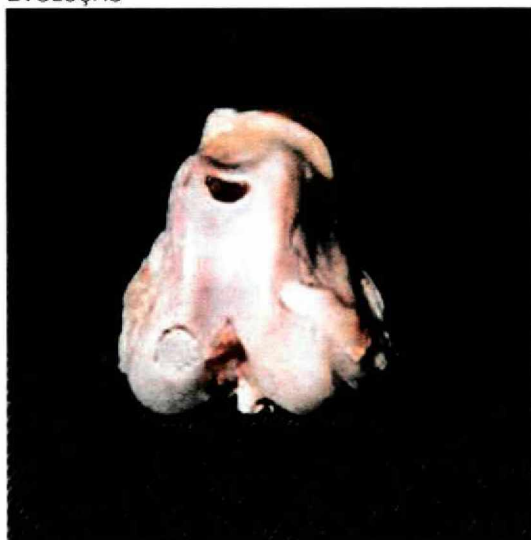
Nos animais analisados 14 dias após a cirurgia (Grupo I) observou-se que a cartilagem enxertada apresentava-se intacta, fixa ao leito receptor, com aspecto semelhante a cartilagem adjacente, sem sinais de degeneração e havia uma zona bem delimitada de separação entre a cartilagem enxertada e a cartilagem nativa (Figura 5). Entretanto havia incongruência entre o enxerto e a cartilagem adjacente em 1 joelho, com protusão do enxerto em direção a cartilagem da tibia, sem sinais de degeneração cartilaginosa. O enxerto

apresentava-se fixo ao leito, porém em posição diferente daquela deixada no ato cirúrgico (Figura 6). A membrana sinovial apresentava-se com aspecto normal, sem sinais de aderência ou infiltração.

Nos animais analisados com 21 dias de evolução (Grupo II), o enxerto permanecia fixo ao leito receptor (Figura 7), porém em 2 joelhos havia incongruência do enxerto com sua protusão em direção à cartilagem tibial, sem sinais de desgaste cartilaginoso. O aspecto da membrana sinovial era normal.

Nos animais analisados com 45 dias de evolução (Grupo III), o enxerto apresentava-se congruente, bem adaptado e com sinais de consolidação no leito receptor (Figura 8), exceto em dois joelhos. Nestes, havia sinais de degeneração da cartilagem articular no enxerto e na cartilagem da tibia, embora o enxerto permanecesse nivelado com a cartilagem adjacente. A cartilagem enxertada apresentava-se fibrilada, com fissuras e zonas de erosão, de aparência opaca não apresentando o brilho característico da cartilagem hialina (Figura 9). A membrana sinovial encontrava-se com aparência normal.

FIGURA 5 - JOELHO ENXERTADO COM 14 DIAS DE EVOLUÇÃO



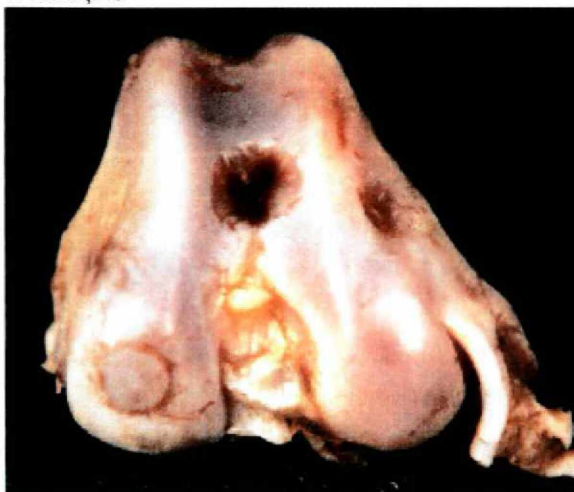
Nota-se a congruência entre as cartilagens enxertada e adjacente (resultado satisfatório).

FIGURA 6 - JOELHO ENXERTADO APÓS 14 DIAS DE EVOLUÇÃO



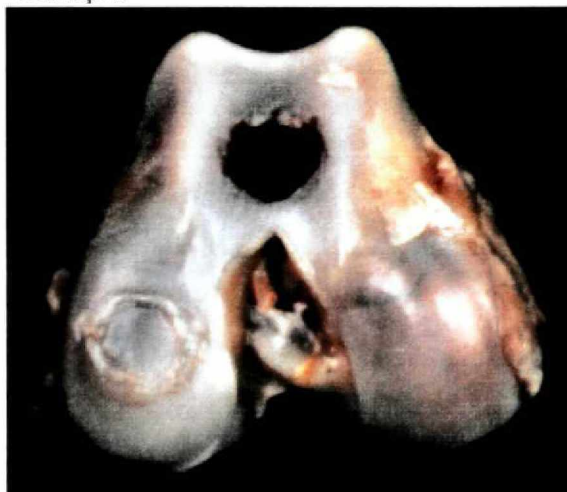
Nota-se incongruência entre as cartilagens enxertada e adjacente com protusão do enxerto (resultado insatisfatório)

FIGURA 7 - JOELHO ENXERTADO COM 21 DIAS DE EVOLUÇÃO



Nota-se a congruência entre as cartilagens enxertada e adjacente (resultado satisfatório).

FIGURA 8 - JOELHO ENXERTADO COM 45 DIAS DE EVOLUÇÃO



Nota-se a congruência das cartilagens enxertada e adjacente (resultado satisfatório)

4.2.2 JOELHO SEM ENXERTO (CONTROLE)

Nos animais analisados com 14 dias de evolução havia preenchimento parcial da lesão osteocondral com tecido irregular de reparação que originava-se da medular do osso subcondral exposto. Havia aderências entre o tecido sinovial e o defeito osteocondral em 3 joelhos.

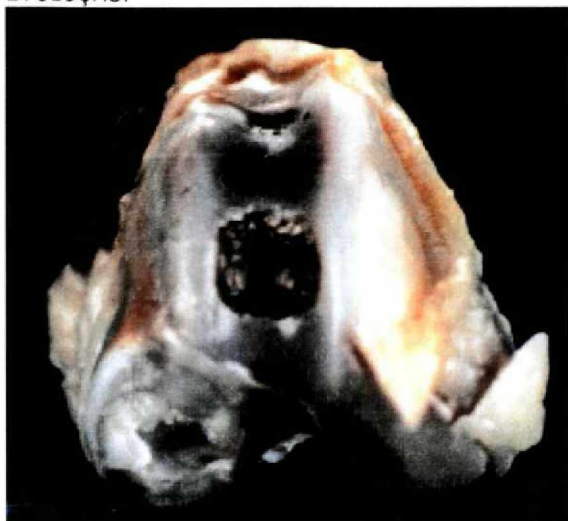
Com 21 dias de evolução esse tecido de reparação apresentava-se em maior quantidade preenchendo uma parte maior do defeito no côndilo femoral. O tecido sinovial encontrava-se aderido em 1 joelho.

Mesmo após 45 dias de evolução havia apenas preenchimento parcial da lesão osteocondral com esse tecido de reparação e em nenhum dos casos havia preenchimento completo da lesão (Figura 10). Havia aderência entre o tecido sinovial e o defeito osteocondral em 1 joelho.

Observou-se que, após 45 dias, o defeito osteocondral no côndilo femoral tinha aparência menor do que o defeito original criado, em função da invaginação da cartilagem adjacente para dentro da lesão.

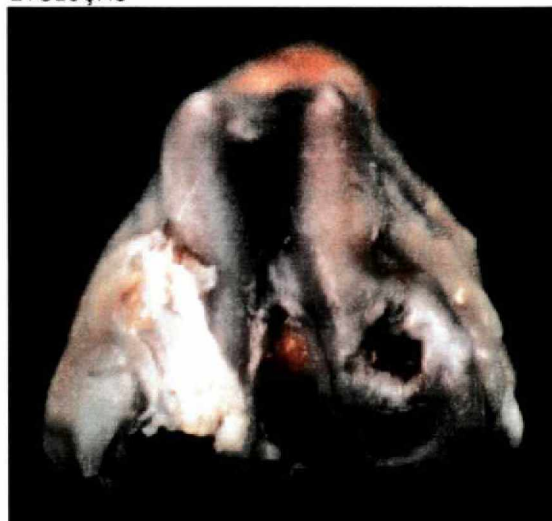
Em todos os casos onde havia aderências, a membrana sinovial invaginava-se para dentro do defeito criado no côndilo femoral medial encontrando-se aderida ao fundo da lesão.

FIGURA 9 - JOELHO ENXERTADO COM 45 DIAS DE EVOLUÇÃO.



Nota-se alterações degenerativas na cartilagem enxertada (resultado insatisfatório)

FIGURA 10 - JOELHO CONTROLE COM 45 DIAS DE EVOLUÇÃO



Nota-se preenchimento parcial da lesão e invaginação da cartilagem adjacente (resultado insatisfatório).

4.2.3 REGIÃO FEMOROPATELAR (ÁREA DOADORA)

Nesta região observou-se preenchimento com tecido de aparência fibrosa que progressivamente preenchia esta área, porém sem haver regeneração total da lesão após 45 dias.

De acordo com os critérios macroscópicos adotados, os resultados foram classificados como satisfatórios e insatisfatórios, conforme demonstrado na Tabela 1.

TABELA 1 - RESULTADOS ABSOLUTOS E RELATIVOS(%) ENCONTRADOS NOS GRUPOS ESTUDADOS

	GRUPO I (14 dias)		GRUPO II (21 dias)		GRUPO III (45 dias)	
	CONTROLE	TRATADO	CONTROLE	TRATADO	CONTROLE	TRATADO
RESULTADOS SATISFATÓRIO	0	5 (83,3%)	0	4 (66,7%)	0	4 (66,7%)
INSATISFATÓRIO	6 (100%)	1 (16,7%)	6 (100%)	2 (33,3%)	6 (100%)	2 (33,3%)
TOTAL	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)
	p= 0,008		p= 0,03		p= 0,03	

p= teste de Fisher

A análise estatística do grupo I ($p= 0.008$) mostra que há uma diferença estatisticamente significativa entre 0.0% e 83.3% (por simetria também entre 100.0% e 16.7%).

A análise estatística do grupo II ($p= 0.03$) mostra que há uma diferença estatisticamente significativa entre 0.0% e 66.7% (por simetria também entre 100.0% e 33.3%).

A análise do grupo III ($p = 0.03$) é semelhante a do grupo II.

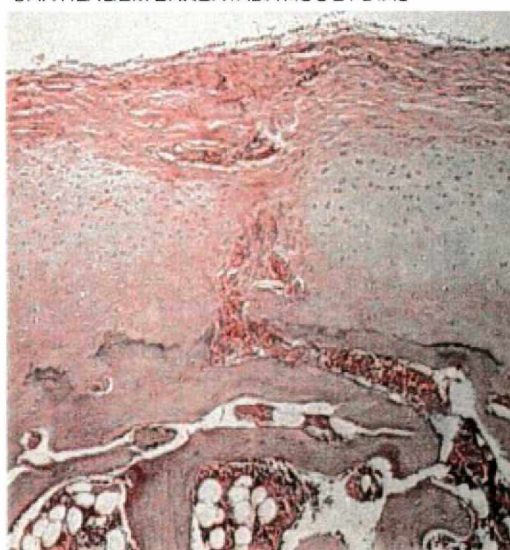
4.3 RESULTADOS MICROSCÓPICOS

4.3.1 JOELHO COM ENXERTO

Nos animais avaliados com 14 e 21 dias, a análise histológica mostrou presença de condrócitos viáveis na área do enxerto sem sinais de degeneração, sendo que as peças apresentavam-se muitas vezes com a mesma espessura da cartilagem nativa. Na região subcondral, as trabéculas ósseas apresentavam-se espessadas e mostraram proliferação mais regular associadas a proliferação vascular e fibrosa, raramente de intensidade vista no lado controle (Figura 11). O osso esponjoso do enxerto apresentava sinais de remodelação com deposição e reabsorção óssea.

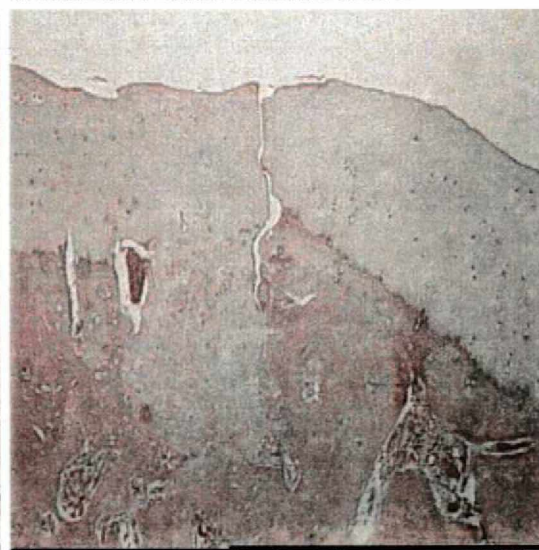
Nos animais avaliados com 45 dias observou-se presença de condrócitos viáveis na zona enxertada e a porção óssea do enxerto apresentava-se bem incorporada com sinais de consolidação entre esta e o osso subcondral do leito receptor (Figura 12). A união entre a cartilagem enxertada e a cartilagem adjacente ocorria por meio de fibrocartilagem que se originava do leito ósseo subcondral.

FIGURA 11 - ASPECTO HISTOLÓGICO DA CARTILAGEM ENXERTADA AOS 21 DIAS



Observa-se preservação da cartilagem e condrócitos viáveis. Coloração H.E. – aumento 40X.

FIGURA 12 - ASPECTO HISTOLÓGICO DA CARTILAGEM ENXERTADA AOS 45 DIAS



Observa-se preservação da cartilagem e condrócitos viáveis. Coloração H.E. – aumento 40X.

Nos casos que apresentavam degeneração cartilaginosa (resultados insatisfatórios) observou-se alterações degenerativas com morte dos condrócitos, particularmente nas camadas superficiais da cartilagem.

4.3.2 JOELHO SEM ENXERTO

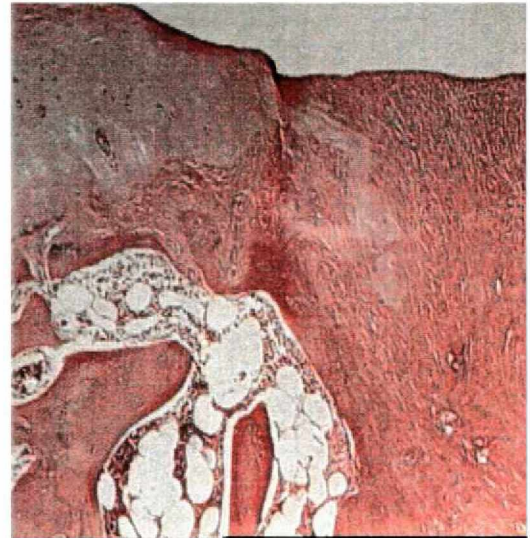
A análise histológica do lado controle mostrou haver proliferação vascular e intensa proliferação fibroblástica, muitas vezes com formação de ilhas irregulares de tecido cartilaginoso de permeio, porém com predomínio absoluto de tecido fibroso. Esta proliferação progredia inferiormente fazendo transição com as traves ósseas (Figura 13).

FIGURA 13 - ASPECTO HISTOLÓGICO DA LESÃO NO GRUPO CONTROLE AOS 21 DIAS.



Observa-se invaginação da cartilagem adjacente e tecido fibroso preenchendo o fundo da lesão. Coloração com H.E. aumento 40x.

FIGURA 14 - ASPECTO HISTOLÓGICO DA LESÃO NO GRUPO CONTROLE AOS 45 DIAS.



Observa-se preenchimento da lesão com tecido fibroso. Coloração com H.E. – aumento de 40x.

4.3.3 REGIÃO FEMOROPATELAR (ÁREA DOADORA)

A análise histológica desta região mostrou formação de tecido irregular com características de fibrocartilagem na zona doadora que aumentava de quantidade com o decorrer do tempo.

Discussão

5 DISCUSSÃO

5.1 A RESPEITO DO MÉTODO

5.1.1 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

A utilização do cão como animal de experimentação levou em consideração que a anatomia da articulação femorotibial deste animal é semelhante a do homem. Além de ser um animal resistente, a facilidade de obtenção no biotério da Universidade, a existência de condições ambientais próprias e confortáveis no canil e a presença de pessoal qualificado no manejo dos animais de experimentação foram fatores que também contribuíram para essa escolha.

CALANDRUCCIO e GILMER (1962), CAMPBELL et al. (1963), RODRIGO et al. (1978) e HANGODY et al. (1997) também usaram o cão para estudos experimentais com enxertos osteocondrais e tiveram a mesma opinião.

A escolha da articulação femorotibial como local do experimento deveu-se ao fato de ser uma articulação que suporta carga e onde ocorrem a maioria das lesões condrais em humanos, além da simplicidade da abordagem cirúrgica a essa região.

5.1.2 TÉCNICA ANESTÉSICA

A utilização do cloridato de cetamina para manutenção do plano anestésico mostrou-se adequada para um tempo cirúrgico médio de 35 minutos. É importante a pesagem prévia do animal para o cálculo da quantidade de anestésico a ser utilizada. A dose de 3 mg/kg possibilita um período de anestesia de 30 minutos e a recuperação pós-operatória ocorreu sem intercorrências não registrando-se óbitos durante o experimento.

5.1.3 TÉCNICA CIRÚRGICA

A via de abordagem parapatelar medial mostrou-se de execução simples, com pouco sangramento e de fácil reconstituição após a operação. CALANDRUCCIO e GILMER (1962) e VAN DYK et al. (1998) também utilizaram esta via de acesso considerando-a bastante satisfatória. A luxação manual lateral da patela associada à flexão máxima do joelho proporcionou excelente visualização dos côndilos femorais e da região femoropatelar. Isto permitiu que a confecção do defeito e a retirada do enxerto osteocondral fosse feita perpendicularmente à superfície cartilaginosa para que houvesse um perfeito assentamento do enxerto no leito receptor e adequado nivelamento entre a cartilagem enxertada e a cartilagem nativa. HANGODY et al. (1997) consideram que a inserção perpendicular do enxerto é o aspecto mais importante para a manutenção da congruência no sítio receptor. Não foi observado nenhum caso de luxação lateral espontânea da patela no pós-operatório. MEYERS e HERRON (1984) e VAN DYK et al. (1988) também utilizaram essa abordagem em seus experimentos e não observaram complicações no pós-operatório.

A trefina manual graduada permitiu a retirada de um enxerto com as mesmas dimensões do defeito criado, favorecendo ótimo assentamento do enxerto no leito receptor nivelando a cartilagem enxertada com a cartilagem adjacente e restaurando o contorno da superfície articular. Estudos realizados por AICHROTH (1972) e YAMASHITA et al. (1985) ressaltam que uma adequada restauração da morfologia cartilaginosa na zona de lesão tem influência positiva nos resultados, pois o mau posicionamento do enxerto pode levar à sua protusão ou afundamento produzindo resultados insatisfatórios.

A utilização do martelo com impactador de plástico e a trefina manual para a confecção do defeito e para retirada do enxerto, serviu para diminuir a possibilidade de fratura do enxerto e reduzir a energia dissipada durante o impacto da fresa na superfície cartilaginosa. A retirada do enxerto dessa forma mostrou-se adequada pois manteve a integridade e viabilidade das células cartilaginosas, conforme demonstrado pela análise histológica. Estudos realizados por MINIACCI (1988) mostraram que a utilização de brocas ou trefinas acopladas à perfuratriz elétrica para a confecção do defeito ou para a retirada de enxerto, liberam calor pelo atrito entre a broca e a cartilagem, causando sua necrose térmica e dano aos condrócitos comprometendo os resultados do enxerto de cartilagem. AMIEL et al. (1985) também relatam complicações, como fratura do côndilo femoral e lesão da cartilagem articular adjacente, quando da utilização de brocas em estudos experimentais para reparo de lesões cartilaginosas. Portanto a retirada do enxerto com trefinas manuais é menos traumática e tem menor possibilidade de complicações.

PACCOLA (1978) afirma que, embora a cartilagem articular autóloga tenha excelentes possibilidades de integração, a obtenção de enxerto a partir de outra articulação implica em grave dano ou perda dessa articulação.

A escolha da superfície articular femoropatelar como área doadora do enxerto levou em consideração que a morfologia desta região assemelha-se à curvatura da região articular do côndilo femoral no cão favorecendo adequada coaptação do enxerto na lesão. Além disso, a região femoropatelar não suporta carga, é de fácil acesso durante a artrotomia e possui cartilagem hialina que pode ser retirada sem prejuízo funcional para a articulação. Estudos clínicos realizados por HANGODY et al. (1998) sobre o tratamento de lesões osteocondrais em humanos mostraram que a retirada de enxerto de cartilagem da porção lateral do côndilo femoral não causa danos à articulação do joelho.

A escolha do tamanho do enxerto baseou-se nos estudos experimentais de PAP e KROMPECHER (1961) que concluíram que a espessura do enxerto não deveria ultrapassar 5 mm visto que, enxertos com uma porção de osso esponjoso com 5 mm ou menos incorporavam-se mais rapidamente ao leito receptor que enxertos com maior espessura.

5.1.4 A RESPEITO DO ADESIVO DE FIBRINA

JOHNSON e MCLEOD (1977); AMIEL et al. (1985) e LINDHOLM et al. (1982) utilizaram métodos diversos para fixação de enxertos de cartilagem. DEW e MARTIN (1992) sugerem que o enxerto osteocondral seja modelado em formato semelhante ao defeito criado, de tal maneira que o enxerto seja mantido sob pressão na zona receptora. O autor deste trabalho acha tecnicamente difícil modelar o enxerto para que seja encaixado sob pressão na zona do defeito. Em contrapartida, a retirada do enxerto com trefina, conforme já relatado, é um método confiável e de fácil execução podendo servir para outros estudos.

WEBER e CHAPMAN (1984) afirmaram que a utilização de adesivos oferece vantagens sobre a utilização convencional de material metálico de osteossíntese no tratamento de fraturas, tais como rapidez e facilidade de aplicação do adesivo, possibilidade de coaptar anatomicamente pequenos fragmentos cartilagosos e a remoção posterior do material de síntese não é necessária. Porém ressaltaram que a utilização apenas do adesivo de fibrina era insuficiente para manter a união óssea, exceto quando houvesse estabilidade inerente à configuração da fratura.

Baseado nas observações desses autores, optou-se neste estudo por realizar a retirada do enxerto com as mesmas dimensões do defeito criado, inclusive utilizando-se a mesma trefina manual, para tentar preservar alguma

estabilidade do enxerto no leito receptor. Além disso, utilizou-se o adesivo de fibrina para a fixação de fragmentos osteocondrais. Observou-se que, por ser baseado em princípios biológicos de fixação, o adesivo não causa danos adicionais à cartilagem articular e permite a revascularização e incorporação do fragmento osteocondral com consolidação óssea em 45 dias. Associado a isso, o adesivo tem propriedades hemostáticas, sua técnica de utilização é relativamente simples e ele é constituído por substâncias que são totalmente reabsorvidas favorecendo a fixação atraumática e sem toxicidade.

SILVER et al. (1995) afirmaram que o adesivo selante de fibrina deve ser capaz de manter a união entre dois tecidos e prover resistência suficiente para que essa união não falhe precocemente. Estes requisitos foram preenchidos neste estudo com o adesivo de fibrina (Beriplast® P, Centeon) que proporcionou adequada estabilização inicial ao enxerto, exceto em 3 casos, e não interferiu com sua incorporação ao leito receptor.

Não houve evidências de que a utilização do adesivo acelerasse a consolidação óssea e este fato também foi observado por WEBER e CHAPMAN (1984). Os trabalhos realizados por MEYERS e HERRON (1984), KELLER et al. (1985) e KAPLONYI et al. (1988) comprovaram que a fixação de pequenos fragmentos osteocondrais pode ser feita com o adesivo selante de fibrina.

5.2 A RESPEITO DOS RESULTADOS

5.2.1 RESULTADOS FUNCIONAIS

A estabilidade dos joelhos não foi comprometida pela retirada do enxerto ou pela abordagem cirúrgica que não comprometeu estruturas ligamentares.

O derrame articular em maior quantidade nos joelhos enxertados pode ser atribuído a maior agressão cirúrgica nestes joelhos, pela retirada do enxerto da região femoropatelar. Isto também foi observado no trabalho de SALTER et al. (1980).

5.2.2 RESULTADOS MACROSCÓPICOS E MICROSCÓPICOS

Nos resultados observou-se que houve mudança de posição do enxerto em relação à posição inicial em 3 casos. Acredita-se que a proposta

de autores, como ZILCH (1980) e DEW e MARTIN (1993), de imobilizar o membro durante os primeiros dias a fim de diminuir o estresse sobre o enxerto posicionado na zona de carga poderia evitar esse processo. Além disso, os sinais degenerativos do enxerto em 2 cães sacrificados com 45 dias podem ter como gênese a carga precoce. Assim, sugere-se que em outros estudos utilize-se imobilização externa no membro operado para evitar sobrecarga no enxerto.

O fato de optar-se pela não imobilização do membro operado neste estudo baseou-se em observações nos animais operados no projeto piloto quando a imobilidade deles durava em média 7 dias. Acreditávamos que, pelo fato do animal só sustentar carga total após esse período não haveria pressão na área enxertada, diminuindo as chances de mudança de sua posição. Entretanto autores como HANGODY et al. (1998) e SALTER et al. (1980) afirmam que a utilização de imobilização no membro operado ou o uso da movimentação passiva contínua pode levar a melhores resultados na regeneração de lesões cartilaginosas.

Talvez a imobilização no pós-operatório imediato com gesso ou fixador externo evitasse os resultados insatisfatórios. Nos cães que iniciaram carga precoce observaram-se resultados que foram classificados como insatisfatórios.

A incongruência entre o enxerto e a zona receptora pode levar a perda de flexão do joelho em cães, conforme observado em 1 animal do grupo I e em 2 animais do grupo II, visto que nos últimos graus de flexão há contato máximo entre a zona de carga do côndilo femoral e a superfície articular tibial fazendo com que a protusão do enxerto osteocondral leve à limitação do movimento de flexão do joelho.

Autores como HERNDON e CHASE (1952) e CHESTERMAN e SMITH (1968) sugerem a utilização de enxertos homólogos para o tratamento de lesões condrais. Porém o enxerto homólogo possui baixa viabilidade dos condrocitos, risco de rejeição imunológica do enxerto e transmissão de doenças virais (STEVENSON et al., 1989 e HANGODY et al., 1997).

A técnica de enxertia autóloga oferece a vantagem de conseguir reparo biológico da lesão condral, sem os riscos inerentes aos enxertos homólogos.

Autores como PAP e KROMPECHER (1961) e CAMPBELL et al. (1963) realizaram o reparo de superfícies articulares com enxerto homólogo de cartilagem. PAP e KROMPECHER (1962) observaram que o osso subcondral contido no enxerto sofre processo de necrose e é substituído por tecido fibroso. Este autor também observou que enxertos que contêm osso

subcondral para fixação no leito receptor podem sofrer fratura por fadiga com desabamento do enxerto se a espessura do osso for menor que 5 mm . Não observou-se neste estudo casos de fratura por fadiga do enxerto, porém concorda-se que a porção esponjosa do enxerto não pode ser muito delgada, pois a quebra do enxerto faz com que a cartilagem hialina perca o suporte e sofra sobrecarga com posterior degeneração.

A presença de tecido fibroso e fibrocartilaginoso que preencha os defeitos do grupo controle e a zona doadora femoropatelar é um achado que encontra-se de acordo com a literatura (GOMAR-SANCHO e ORQUIN, 1987), enquanto que a manutenção de condrócitos viáveis na zona exertada esta de acordo com os achados de HANGODY et al. (1997).

A técnica de enxerto osteocondral autólogo oferece resultados satisfatórios quando utilizada para tratamento de defeitos cartilagosos de pequenas dimensões. O sucesso desta técnica depende de cuidadosa retirada do enxerto, posicionamento e fixação adequada do mesmo no leito receptor. É necessário rigor quanto a técnica de retirada e assentamento do enxerto no local do defeito no sentido de minimizar o dano aos condrócitos e permitir perfeita congruência entre o enxerto e a zona receptora. A fixação do enxerto com o adesivo selante de fibrina também mostrou-se eficaz pois consegue dar estabilidade inicial a ele, permitindo a sua integração e revascularização em 45 dias.

Estudos experimentais com maior tempo de seguimento tornam-se necessários para verificar se a cartilagem enxertada mantém as suas características bioquímicas e histológicas com o decorrer do tempo impedindo o desgaste articular.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos neste estudo experimental permite concluir que:

1) O enxerto osteocondral autólogo retirado da região femoropatelar e implantado no côndilo femoral medial é viável e incorpora-se à zona receptora, mantendo condrócitos no seu interior após 45 dias do procedimento cirúrgico.

2) O adesivo selante de fibrina (Beriplast® P, Centeon) é capaz de promover a fixação adequada de fragmento osteocondral com as dimensões citadas neste estudo à zona de defeito articular no côndilo femoral.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AICHROTH, P.M.; BURWELL, R.G.; LAURENCE, M. Transplantation of sinovial joint surfaces : an experimental study. **J. Bone Joint Surg.** v. 54-B, n. 4, p. 747, Nov., 1972.
- ALBRECHT, F.; ROESSNER, A.; ZIMMERMANN, E. Closure of osteochondral using chondral fragments and fibrin adhesive. **Arch. Orthop. Trauma Surg.**, v. 101, n. 3, p. 213-217, 1983.
- AMIEL, D.; COUTTS, R.D.; ABEL, M.; STEWART, W.; HARDWOOD, F.; AKESON, W.H. Rib perichondrial grafts for the repair of full-thickness articular-cartilage defects. **J. Bone Joint Surg.** v. 67-A, n. 6, p. 911-920, Jul., 1985.
- BRITTBERG, M.; SJÖGREN-JANSSON, E.; LINDAHL, A.; PETERSON, L. Influence of fibrin selant (Tissel) on osteochondral defect repair in the rabbit knee. **Biomaterials**, v. 18, n. 3, p. 235-242, Feb., 1997.
- BUCKWALTER, J.A.; MANKIN, H.J. Articular cartilage. Part I: tissue design and chondrocyte-matrix interactions. **J. Bone Joint Surg.**, v. 79-A, n. 4, p. 600-611, Apr., 1997.
- CALANDRUCCIO, R.A.; GILOMER, W.S. Proliferation, regeneration and repair of articular cartilage of imature animals. **J. Bone Joint Surg.**, v. 44-A, n. 3, p. 431-455, Apr., 1962.
- CAMPBELL, C.J.; ISHIDA, H.; TAKAHASHI, H. The transplantation of articular cartilage. An experimental study in dogs. **J. Bone Joint Surg.**, v. 45-A, p. 1579, 1963.
- CHESTERMAN, P.J.; SMITH, A.U. Homotransplantation of articular cartilage and isolated chondrocytes. An experimental study in rabbits. **J. Bone Joint Surg.**, v. 50-B, n. 1, p. 184-197, Feb., 1968.
- COSTA, Aldo José Fernando da. **O uso da matriz óssea desmineralizada na reparação de lesões osteocondrais : estudo experimental em coelhos.** Dissertação (Mestrado em Medicina) – Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1999.
- DEW, T. L.; MARTIN, R. A. Funcional, radiografic and histologic assessment of healing of autogenous osteochondral grafts and full thickness cartilage defects in the talus of dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v. 53, n. 11, p. 2141-2152, Nov., 1992.
-

- GOMAR-SANCHO, F.; ORQUIN, E. G. Repair of osteochondral defects in articular weightbearing areas in the rabbit's knee. **Int. Orthop.** v. 11, p. 65-69, 1987.
- HANGODY, L.; KISH, G.; KÁRPÁTI, Z.; UDVARHELYI, I. Mosaicplasty for the treatment of articular cartilage defects: Application in clinical practice. **Orthopedics.**, v. 21, n. 7, p. 751-756, Jul., 1998.
- HANGODY, L.; KISH, G.; KÁRPÁTI, Z.; SZERB, I.; UDVARHELYI, I.; TÓTH, J.; DIÓSZEGI, Z.; KENDIK, Z. Autogenous osteochondral graft technique for replacing knee cartilage defects in dogs. **Orthop. Int. Ed.** v. 5, n. 3, p. 175-181, May./Jun., 1997.
- HERNDON, C.H.; CHASE, S.W. The fate of massive autogenous and homogenous bone grafts including articular surfaces. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v. 98, p. 273-291, 1954.
- JOHNSON, E.; McLEOD, T.L. Osteochondral fragments of the distal end of the femur fixed with bone pegs. **J Bone Joint Surg.** v. 59-A, n. 5, p. 677-679, Jul., 1977.
- KAPLONYI, G.; ZIMMERMAN, I.; FRENYO, A.D.; FARKAS, T.; NEMES, G. The use of fibrin adhesive in the repair of chondral and osteochondral injuries. **Injury**, v. 19, n. 4, p. 267-272, 1988.
- KIM, H.K.W.; MORAN, M.E.; SALTER, R.B. The potential for regeneration of articular cartilage in defects created by chondral shaving and subcondral abrasion. An experimental investigation in rabbits. **J. Bone Joint Surg.**, v. 73-A, n. 9, p. 1301-1315, Oct., 1991.
- KELLER, J.; ANDREASSEN, T.; JOYCE, F.; KNUDSEN, V.; JORGENSEN, P.; LUCHT, U. Fixation of osteochondral fractures. Fibrin selant tested in dogs. **Acta Orthop Scand** v. 56, p. 323-326, 1985.
- LANE, J.M.; BRIGHTON, C.T.; OTTENS, H.R.; LIPTON, M. Joint resurfacing in the rabbit using an autologous osteochondral graft: a biochemical and metabolic study of cartilage viability. **J. Bone Joint Surg.** v. 59-A, n. 2, p. 218-222, Mar., 1977.
- LINDHOLM, T.S.; ÖSTERMAN, K.; KINNUNEN, P.; LINDHOLM, T.C.; ÖSTERMAN, H.K. Reconstruction of the joint surface using osteochondral fragments. An experimental and clinical study. **Scan. J. Rheumatol.**, p. 4-46, Suppl. 44, 1982.
- MANKIN, H.J. The response of articular cartilage to mechanical injury. **J Bone Joint Surg.** v. 64-A, n. 3, p. 460-466, Mar., 1982.
-

- MARCACCI, M. K.; ZAFFAGNINI, E.; VISANI, A. Use of autologous grafts for reconstruction of osteochondral defects of the knee. **Orthopedics**, v. 22, n. 6, p. 595-600, Jun., 1998.
- MEYERS, M.H.; HERRON, M. A fibrin adhesive seal for the repair of osteochondral fracture fragments. **Clin. Orthop.** n.182, p. 258-263, Jan./Feb., 1984.
- MINAS, T.; NEHRER, S. Current Concepts in the Treatment of Articular Cartilage Defects. **Orthopedics**, v. 20, n. 6, p. 525-538, Jun., 1997.
- MINIACI, A.; EVANS, P.; HURTIG, M. **Harvesting techniques for osteochondral transplantation.** Paper presented at the 17th Annual Meeting of the Arthroscopy Association of North America, Florida, Apr., 30, 1998.
- MITCHELL, N.; SHEPARD, N. The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiples perforations through the subcondral bone. **J. Bone Joint Surg.**, v. 58-A, n. 2, p. 230-233, Mar., 1976.
- PACCOLA, Cléber Antônio Jansen, **Artrite experimental pela papaina em coelhos. Tratamento por enxerto homólogo de cartilagem articular.** Tese (Doutoramento em Ortopedia e Traumatologia) – Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1978.
- PALETTA, G.A.; ARNOCKY, S.P.; WARREN, R.F. The repair of osteochondral defects using an exogenous fibrin clot. An experimental study in dogs. **Am. Journal Sports Medicine**, v. 20, n. 6, p. 725-731, 1992.
- PAP, K.; KROMPECHER, S. Arthroplasty of the Knee. Experimental and clinic experiences. **J. Bone Joint Surg.** v. 43-A n.4, p. 523-536, Jun., 1961.
- PLAGA, B.R.; ROYSTER, R.M.; DONIGIAN, A.M.; WRIGHT, G.B.; CASKEY, P.M. Fixation of osteochondral fractures in rabbit knees. A comparison of Kirschner wires, fibrin sealant and polydioxanone pins. **J. Bone Joint Surg.**, v. 74, n. 2, p. 292-296, Mar., 1992.
- RODRIGO, J.J.; SAKOVICH, L.; TRAVIS, C.; SMITH, G. Osteochondral allografts as compared with autografts in the treatment of knee joint osteochondral defects in dogs. **Clin. Orthop.**, n. 134, p. 342-349, Jul./Aug., 1978.
- SALTER, R.B.; SIMMONDS, D.F.; MALCOLM, B.W.; RUMBLE, E.J.; MACMICHAEL, D.; CLEMENTS, N.D. The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. **J. Bone Joint Surg.**, v. 62-A, n. 8, p. 1232-1251, Dec., 1980.
-

- SELLERS, R.S.; PELUSO, D.; MORRIS, E.A. The effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP_2) of the healing of full-thickness defects of articular cartilage. **J. Bone Joint Surg.**, v.79-A, p. 1452-1463, 1997.
- SILVER, F.H.; WANG, M.C.; PINS, G.D. Preparation and use of fibrin glue in surgery. **Biomaterials**, v. 16, n. 12, p. 891-903, 1995.
- SILVERMAN, R.P.; BONASSER, L.; PASSARETTI, D.; RANDOLPH, M.A.; YAREMCHUK, M.J. Adhesion of tissue-engineered cartilage to native cartilage. **Plast. Reconstr. Surg.**, v.105, n. 4, p.1393-1398. Apr., 2000.
- THORNHILL, T.S. Evolving Technologies: New Answers or New Problems? Cartilage Resurfacing: Facts, Fictions and Facets. **Orthopedics**, v. 20, n. 9, p. 819-820, Sep., 1997.
- VAN DYK, G.; DEJARDIN, L.; FLO, G.; JOHNSON, L. Cancellous bone grafting of large osteochondral defects: An experimental study in dogs. **Arthroscopy**, v.14, n. 3, p. 311-320, Apr., 1998.
- WEBER, S.C.; CHAPMAN, M.W. Adhesives in orthopaedicsurgery. **Clin. Orthop.**, n.191, p. 257-259, Dec., 1984.
- WIRTH, C.J.; RUDERT, M. Techniques of cartilage growth enhancement: a review of the literature. **The Journal of Arthroscopic and Related Surgery** v.12, n. 3, p. 300-308, Jun., 1996.
- YAMASHITA, F.; SAKAKIDA, K.; SUZU, F.; TAKAI, S. The transplantation of an autogeneic osteochondral fragment for osteochondritis dissecans of the knee. **Clin. Orthop.** n. 201, p. 43 -50, Dec., 1985.
- ZILCH, H. Animal experiments on cementing small osteochondral fragments with fibrin glue. **Handchirurgie**, v. 12, n. 1, p. 71-75, 1980.
-