



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Cirurgia

Paulo Cezar Vidal C. de Albuquerque

**ESTUDO COMPARATIVO DA ANÁLISE MACROSCÓPICA E
HISTOLÓGICA DOS DEFEITOS OSTEOCONDRAIS PRODUZIDOS
EM CÔNDILOS FEMORAIS DE COELHOS PREENCHIDOS COM GEL
DE BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR**

Tese submetida ao Colegiado de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Cirurgia

Orientador Interno

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Associado do Depto. de Cirurgia, CCS, UFPE

Orientador Externo

Prof. Saulo Monteiro dos Santos

Prof. Adjunto do Depto. De Cirurgia, CCS UFPE

Linha de Pesquisa

Biopolímero da cana-de-açúcar

RECIFE - PE
2011

Albuquerque, Paulo Cezar Vidal C. de

Estudo comparativo da análise macroscópica e histológica dos defeitos osteocondrais produzidos em côndilos femorais de coelhos preenchidos com gel de biopolímero da cana-de-açúcar / Paulo Cezar Vidal C. de Albuquerque. – Recife: O Autor, 2011.

72 folhas: il., fig. ; 30 cm

Orientador: José Lamartine de Andrade Aguiar

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Cirurgia, 2011.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Biopolímero de cana-de-açúcar. 2. Osteocondral - Defeitos. 3. Cartilagem articular - Terapia. 4. Trauma articular. I. Aguiar, José Lamartine de Andrade. II. Título.

617.3

CDD (20.ed.)

UFPE

CCS2011-78

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

Relatório da Defesa de Tese de PAULO CÉZAR VIDAL CARNERO DE ALBUQUERQUE, Aluno de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Cirurgia, Área de Concentração: Cirurgia Clínica e Experimental.

Às oito horas do dia trinta de março de dois mil e onze no Auditório Joana Araújo da Rocha Barros da Universidade Federal de Pernambuco, tiveram início os trabalhos de defesa de Tese de PAULO CÉZAR VIDAL CARNERO DE ALBUQUERQUE, para obtenção do grau de Doutor em Cirurgia. A comissão Julgadora – eleita pelo Colegiado do Programa e homologada pela Câmara de Pesquisa e Pós-graduação – foi integrada pelos professores: Dr. CARLOS TEIXEIRA BRANDT, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. SÍLVIO DA SILVA CALDAS NETO, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. JOSEMBERG MARINS CAMPOS, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELLO, Doutor do Departamento de Patologia do CCS/UFPE; Dr. MÁRIO RIBEIRO DE MELO JUNIOR, Doutor do Departamento de Patologia do CCS/UFPE; e, para suplentes: interno: FERNANDO RIBEIRO DE MORAES NETO, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; e, finalmente, externo, Dr. ANTONIO MARCELO GONÇALVES DE SOUZA, Doutor da Universidade Federal de Pernambuco; tendo, como orientador interno, o Dr. JOSÉ LAMARTINE DE ANDRADE AGUIAR, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE. A Tese apresentada por PAULO CÉZAR VIDAL CARNERO DE ALBUQUERQUE versou sobre "EFEITO BIODEGRADÁVEL NO PROCESSO DE REPARAÇÃO OSTEONCONDRAIS DO FÊMUR DISTAL DE COELHOS". Após, a explanação de 30(Trinta) minutos pelo candidato, justificando a escolha, o objetivo da pesquisa, a metodologia empregada e os resultados obtidos, baseados na análise estatística, ilustrados com data show, foram realizadas as arguições na seguinte ordem: Prof. Dr. CARLOS TEIXEIRA BRANDT (Presidente da Banca Examinadora), Prof. Dr. SÍLVIO DA SILVA CALDAS NETO, Prof. Dr. JOSEMBERG MARINS CAMPOS; Prof. Dr. ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELLO; Prof. Dr. MÁRIO RIBEIRO DE MELO JUNIOR; todas as arguições foram feitas no tempo regulamentar, e respondidas pelo candidato. Ao término das mesmas, a Comissão Julgadora proferiu o seguinte resultado: Prof. Dr. CARLOS TEIXEIRA BRANDT (Presidente da Banca Examinadora), menção "APROVADO", Prof. Dr. SÍLVIO DA SILVA CALDAS NETO, menção "APROVADO", Prof. Dr. JOSEMBERG MARINS CAMPOS, menção "APROVADO", Prof. Dr. ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELLO, menção "APROVADO", Prof. Dr. MÁRIO RIBEIRO DE MELO JUNIOR, menção "APROVADO". Nada mais havendo a registrar foram encerrados os trabalhos e, para constar, elaborei o presente relatório que vai por mim, Isabela Nogueira Pimentel, Técnica em assuntos Educacionais, assinado depois do Senhor Presidente, e demais integrantes da Comissão Examinadora, Recife, 30 de Março de 2011.

Prof. CARLOS TEIXEIRA BRANDT

Prof. SÍLVIO DA SILVA CALDAS NETO

Prof. JOSEMBERG MARINS CAMPOS

Prof. ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELLO

Prof. MÁRIO RIBEIRO DE MELO JUNIOR

Sra. ISABELA NOGUEIRA PIMENTEL (Técnica em assuntos educacionais)

Universidade Federal de Pernambuco

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. José Thadeu Pinheiro

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DIRETOR SUPERINTENDENTE

Prof. George da Silva Telles

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

CHEFE

Prof. Salvador Vilar Correia Lima

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA NÍVEL MESTRADO E DOUTORADO

COORDENADOR

Prof. Carlos Teixeira Brandt

VICE-COORDENADOR

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

CORPO DOCENTE

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

Prof. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Cláudio Moura Lacerda de Melo

Prof. Edmundo Machado Ferraz

Prof. Fernando Ribeiro de Moraes Neto

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Salvador Vilar Correia Lima

Prof. Sílvio Caldas Neto

Normatização Adotada

Esta Tese está de acordo com:

Referências: adaptado do *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver), disponível no endereço eletrônico <http://www.icmje.org>

Universidade Federal de Pernambuco – Serviço de Biblioteca e Documentação *Estrutura de apresentação de dissertação e tese sob forma de artigos científicos*, conforme proposta dos Programas de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal de Pernambuco – Recife: Serviço de Biblioteca e Documentação, 2004.

Dedicatória

Ao meu pai ***Humberto Paulo Carneiro de Albuquerque*** (*in memoriam*), principal responsável pela minha formação pessoal e profissional. Dele recebi a herança da força do trabalho, da perseverança, do desenvolvimento do senso crítico, do questionamento e da instigação para a ciência da vida.

À minha mãe ***Janyce Vidal Carneiro de Albuquerque***, que tanto se dedicou à minha formação pessoal e intelectual.

À minha esposa ***Maria Lúcia***, companheira que sempre me apoiou, valorizou o meu esforço e, mais uma vez, praticando todo seu amor e carinho, foi capaz de suportar as intermináveis horas de privação do convívio familiar durante a construção deste trabalho.

Às minhas filhas ***Clarissa*** e ***Paula Eduarda***, frutos de nosso amor e a continuação das nossas vidas

Agradecimentos

A **DEUS**, agradeço por todos os benefícios que me tem concedido.

Ao **Professor Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar**, Orientador e Coordenador do Grupo de Pesquisa com Biopolímero da Cana-de-Açúcar, pelo exemplo de uma vida dedicada à Ciência.

Ao Professor **Dr. Carlos Teixeira Brandt**, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, que acolheu o presente projeto de pesquisa, possibilitando o crescimento da Ortopedia nessa Escola.

Ao **Professor Dr. Saulo Monteiro dos Santos**, amigo e mestre, pela orientação, apoio e dedicação para realização desta tese.

Aos Professores de Patologia **Dr. Roberto José Vieira de Mello, Dr. Nicodemus Pontes Filho e Dra. Mariana Lúcia Gomes Costa**, por toda a experiência empregada em mais um trabalho em prol da Ciência Médica.

À **Márcia e Mércia**, pela dedicação e formatação deste trabalho.

Ao Professor da Universidade Federal de Sergipe, **Alessandro Henrique Santos**, pelas análises estatísticas.

Sumário

1. Apresentação da Pesquisa	14
1.0 GEL DE BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR	15
1.1 Considerações iniciais	15
1.2 Apresentação da Pesquisa	16
1.3 Referências	17
3. ARTIGO ORIGINAL 1	19
Estudo Comparativo Macroscópico dos Defeitos Osteocondrais Produzidos em Côndilos Femorais de Coelhos Preenchidos com Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar	20
Resumo	21
Abstract	22
Introdução	23
Métodos	24
<i>Técnica Cirúrgica</i>	24
<i>Avaliação Macroscópica</i>	26
<i>Métodos Estatísticos</i>	26
Resultados	27
Discussão	33
Conclusão	34
Referências	34
4. ARTIGO ORIGINAL 2	37
Estudo Comparativo da Análise da Mensuração da Área Cicatrizada dos Defeitos Osteocondrais Produzidos em Côndilos Femorais de Coelhos Preenchidos com Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar	38
Resumo	39
Abstract	40
Introdução	41

Métodos	42
Técnica cirúrgica	42
Resultados	44
Discussão	45
Conclusão	46
Referências	46
5. ARTIGO ORIGINAL 3	49
Estudo Comparativo da Análise Histológica dos Defeitos Osteocondrais Produzidos em Côndilos Femorais de Coelhos Preenchidos Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar	50
Resumo	51
Abstract	52
Introdução	53
Métodos	53
<i>Técnica Cirúrgica</i>	54
<i>Análise Histológica</i>	54
<i>Análise Morfométrica</i>	54
<i>Análise Estatística</i>	55
Resultados	55
Discussão	61
Conclusão	63
Referências	63
ANEXOS	66
Anexo A	
Tabela de dados colhida das 16 amostras. Análise Macroscópica dos defeitos produzidos avaliando a superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do defeito.	67
Anexo B	
Ofício de Aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal – CEEA	68

Anexo C

Resumo Intitulado “Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar no Processo de Reparação dos Defeitos Osteocondrais em Joelho de Coelhos”. Acta Cirúrgica Brasileira. Anais do Congresso Brasileiro de Cirurgiões – Rio de Janeiro, 05-09/Outubro/2009.	69
---	----

Anexo D

Certificados de Trabalhos Apresentados em Congressos	70
--	----

Lista de Siglas e Abreviaturas

BPCA	Biopolímero da Cana-de-Açúcar
CEEA	Comissão de Ética em Experimentação Animal
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
GBPCA	Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar
BPSCG	Biopolymer Sugar Cane Gel
NIH	Instituto Nacional de Saúde
PCL	Poli-3-Caprolactone
PDS	Polidioxonona
PGA	Ácido Poliglicólico
PHEMA	Poli-2-Hidroximetil-Metacrilato
PLA	Ácido Polilático
PLAG	Ácido Polilático-co-Glicólico
PMMA	Polimetilmetacrilato
PHB	Polihidroxibutirato
e-PTFE	Politetrafluoroetileno Expandido
PP	Polipropileno
OTAS	Transplante Osteocondral Outólogo
ACI	Implantação de Condrócitos Autólogos
MACI	Implantação de Matriz Autóloga de Condrócitos
JE	Joelho Esquerdo
JD	Joelho Direito
HE	Hidroxihapatita
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco

Lista de Tabelas

ARTIGO 1

Tabela 1	Distribuição da frequência das variáveis: superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do defeito nos animais sacrificados 90 dias após a cirurgia	27
Tabela 2	Distribuição da frequência das variáveis: superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do defeito nos animais sacrificados 120 dias após a cirurgia	28
Tabela 3	Distribuição da frequência das variáveis: superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do defeito nos animais sacrificados 180 dias após a cirurgia	29
Tabela 4	Distribuição da frequência das variáveis: superfície, coloração, consistência, continuidade, cicatrização do defeito em todos os animais sacrificados em todos os grupos.	30

ARTIGO 2

Tabela 1	Mensuração das áreas cicatrizadas dos defeitos osteocondrais nos côndilos medial e lateral, no período de 90 dias, nos 06 coelhos dos dois grupos	44
Tabela 2.	Mensuração das áreas cicatrizadas dos defeitos osteocondrais nos côndilos medial e lateral, no período de 120 dias, nos 05 coelhos dos dois grupos	45
Tabela 3.	Mensuração das áreas cicatrizadas dos defeitos osteocondrais nos côndilos medial e lateral, no período de 180 dias, nos 05 coelhos dos dois grupos	45

ARTIGO 3

Tabela 1. Resultados da contagem do número de células gigantes presentes nos grupos estudo e testes de comparação de média nos períodos de 90, 120 e 180 dias

55

Lista de Figuras

ARTIGO ORIGINAL 1

Estudo Comparativo Macroscópico dos Defeitos Osteocondrais Produzidos em Côndilos Femorais de Coelhos Preenchidos com Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar

Figura 1	Técnica Cirúrgica: Defeitos Osteocondrais Provocados nos Côndilos Femorais dos Coelhos	25
Figura 2	Fotografias dos Côndilos Femorais Medial e Lateral dos Coelhos nos Grupos Estudo e Controle, nos períodos de 90, 120 e 180 dias	32

ARTIGO ORIGINAL 2

Estudo Comparativo da Análise da Mensuração da Área Cicatrizada dos Defeitos Osteocondrais Produzidos Em Côndilos Femorais de Coelhos Preenchidos com Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar

Figura 1	Técnica digital para mensuração da área do tecido cicatricial encontrado após a produção dos defeitos	43
Figura 2	Lupa Estereoscópica Nikon SM2800®	43

ARTIGO ORIGINAL 3

Estudo Comparativo da Análise Histológica dos Defeitos Osteocondrais Produzidos em Côndilos Femorais de Coelhos Preenchidos com Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar

Figura 1	Fotomicrografia das lâminas obtidas dos animais do grupo estudo 90 dias após a produção dos defeitos	56
-----------------	--	----

Figura 2	Fotomicrografia das lâminas obtidas dos animais do grupo controle 90 dias após a produção dos defeitos	57
Figura 3	Fotomicrografia das lâminas obtidas dos animais do grupo estudo 120 dias após a produção dos defeitos	58
Figura 4	Fotomicrografia das lâminas obtidas dos animais do grupo controle 120 dias após a produção dos defeitos	59
Figura 5	Fotomicrografia das lâminas obtidas dos animais do grupo estudo 180 dias após a produção dos defeitos	60
Figura 6	Fotomicrografia das lâminas obtidas dos animais do grupo controle 180 dias após a produção dos defeitos	61



Apresentação da Pesquisa

1.0 Gel do biopolímero da cana-de-açúcar

1.1 Considerações Iniciais

Defeitos osteocondrais são doenças incapacitantes e afetam milhões de pessoas no mundo. Na verdade, elas respondem pela metade de todas as enfermidades crônicas em pessoas acima de 50 anos de idade nos países desenvolvidos. Em decorrência do aumento da população mundial, da expectativa de vida e dos traumas no aparelho músculo-esquelético, é previsto que a porcentagem das pessoas que irão sofrer doenças ósseas dobrará até o ano de 2020. Trata-se de um grande problema na saúde pública mundial, pois tais doenças provocam grande incapacidade em parte da população economicamente ativa^(1,2).

O tecido ósseo é continuamente reparado e remodelado de acordo com a função dos osteoblastos e osteoclastos, sendo capaz de se regenerar após sofrer danos. Porém, quando essas lesões causam grandes defeitos, o osso é incapaz de repará-los, havendo formação de tecido fibroso e perda da sua função mecânica⁽³⁾. Em algumas circunstâncias, quando o processo de reparação óssea não é suficiente para recompor a perda, o enxerto ósseo autólogo é a opção mais frequentemente empregada⁽³⁻⁶⁾. A cura de um defeito da cartilagem é um problema mais complexo devido à sua baixa atividade mitótica e ausência de vasos⁽¹⁻⁶⁾.

No início da década de 70 houve várias tentativas para reparação de grandes defeitos, principalmente quando o tecido ósseo disponível era insuficiente. Desenvolveram-se os primeiros compostos sintéticos substitutos do osso com a utilização do carbonato de cálcio e hidroxiapatita^(4,7).

A partir da década de 60 diversos polímeros foram desenvolvidos, com destaque para o ácido poliglicólico (PGA), ácido polilático (PLA) e poliparaioxanona (PDS), e passaram a ser aplicados na fixação de fraturas, reparação de defeitos osteocondrais, meniscos, discos intervertebrais. A seguir os biopolímeros passaram a ser empregados por serem mais compatíveis com os tecidos vivos⁽⁷⁻¹³⁾.

Recentemente foi desenvolvido um biopolímero derivado da cana-de-açúcar na estação experimental de Carpina, Divisão de Indústria da Universidade Federal de Pernambuco. Esse biopolímero é um heteropolissacarídeo extracelular obtido através da síntese bacteriana da *Zoogloea sp* a partir do melaço da cana-de-açúcar, que vem sendo aplicado experimentalmente na confecção de implantes biológicos em vários tecidos do corpo, como via urinária, membrana timpânica, globo ocular, aponeurose e dura-máter⁽¹⁴⁻²⁵⁾.

1.2 Apresentação da Pesquisa

A nossa pesquisa foi desenvolvida em três artigos originais:

Artigo Original – 1

“Estudo Comparativo Macroscópico dos Defeitos Osteocondrais Produzidos em Côndilos Femorais de Coelhos Preenchidos com Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar”.

Consiste em um estudo experimental e analítico do aspecto macroscópico da superfície, coloração, continuidade, consistência e cicatrização dos defeitos osteocondrais produzidos em côndilos femorais de coelhos preenchidos com o Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar (GBPCA), nos períodos de 90, 120 e 180 dias, comparados com o grupo controle.

Artigo Original – 2

“Estudo Comparativo da Análise da Mensuração da Área Cicatrizada dos Defeitos Osteocondrais Produzidos em Côndilos Femorais de Coelhos Preenchidos com Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar”.

Consiste em um estudo experimental e analítico, utilizando o programa de computação gráfica Image J, 1.3, para *Windows*, com fins de mensuração das áreas cicatrizadas da cartilagem articular dos defeitos osteocondrais produzidos em côndilos femorais de coelhos após preenchimento com o GBPCA, nos períodos de 90, 120 e 180 dias, comparados com o grupo controle.

Artigo Original – 3

“Estudo Comparativo da Análise Histológica dos Defeitos Osteocondrais Produzidos em Côndilos Femorais de Coelhos Preenchidos com Gel de Biopolímero da Cana-de-Açúcar”.

Consiste em um estudo experimental e analítico da histologia do tecido osteocondral após preenchimento com o GBPCA, nos períodos de 90, 120 e 180 dias, comparados com o grupo controle.

Os procedimentos foram efetuados sob supervisão veterinária e aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEa-UFPE) e seguiu o código de ética de experimentação para animais do Conselho Internacional da Organização da Ciência Médica e do Colégio Brasileiro de Experimentação em Animais.

REFERÊNCIAS

1. Jackson DW, Simon TM, Aberman HM. Symptomatic articular cartilage degeneration: the impact in the new millennium. Clin Orthop Relat Res. 2001; (391 Suppl.):S14-25.
2. Hjelle K, Solheim E, Strand T, Muri R, Brittberg M: Articular cartilage defects in 1,000 knee arthroscopies. Arthroscopy. 2002;18:730-734.
3. Lu L, Currier BL, Yaszemski MJ. Synthetic bone substitutes. Cur Op Orthop. 2000;11:383-90.
4. Sakata MM, Alberto-Rincon MC, Duek EAR. Estudo da interação polímero/cartilagem/osso utilizando poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) e poli (p-dioxanona) em condilo femural de coelhos. Polímeros. 2004; 14:176-80.
5. Zabeu JLA, Mercadante MT. Substitutos ósseos comparados ao enxerto ósseo autólogo em cirurgia ortopédica – Revisão sistemática da literatura. Rev. Bras. Ortop. 2008; 43:59-68.
6. Martin-Hernandez C, Cebamanos-Celma J, Molina-Ros A, Ballester-Jimenez JJ, Ballester-Soleda J. Regenerated cartilage produced by autogenous periosteal grafts: a histologic and mechanical study in rabbits under the influence of continuous passive motion. Arthroscopy. 2010; 26:76-83.
7. Navarro M, Michiardi A, Castanõ O, Planell JA. Biomaterials in orthopaedics. J R Soc Interface. 2008; 5:1137–58.
8. Potter H, Foo L. Magnetic Resonance Imaging of Articular Cartilage: Trauma, Degeneration and Repair. Am J Sports Med 2006; 34:661-77.
9. Spector M. Biomaterials-based tissue engineering and regenerative medicine solutions to musculoskeletal problems. Swiss Med Wkly. 2006; 136:293-301.
10. Johnson LL, Verioti C, Gelber J, Spector M, D'Lima D, Pittsley A. The pathology of the end-stage osteoarthritic lesion of the knee: Potential role in cartilage repair. Knee. 2010 Oct 7.
11. Navarro M, Michiardi A, Castanõ O, Planell JA. Biomaterials in orthopaedics. J R Soc Interface. 2008; 5:1137–58.
12. Spector M. Biomaterials-based tissue engineering and regenerative medicine solutions to musculoskeletal problems. Swiss Med Wkly. 2006; 136:293-301.
13. Brendamari R, Romero A, Soto O, Varona O. May 2004 Applications of Engineering Mechanics in Medicine, GED – University of Puerto Rico, Mayaguez. Beedle MP, Kennedy 14. JF, Melo FAD, LloydLL, Medeiros VA. Cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a Zoogloea sp, Carbohydrate Polymers. 2000; 42:375-83.
14. Coelho MCOC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota R, Tenório Filho F. Biopolímero Produzido a Partir de Cana de Açúcar para Cicatrização Cutânea. Acta Cirur Bras. 2002; 17:1-7.
15. Melo F. Contribuição ao estudo cinético da produção de polissacarídeos extracelulares por Zoogloea sp. em melão de cana-de-açúcar. [Mestrado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2003.
16. Castro C, Aguiar J, Melo F, Silva W, Marques E, Silva D. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. An Fac Med Univ Fed Pernamb. 2004; 49:119-23.
16. Lima F, Lima J, Hirakawa P, Medeiros Júnior D, Lima F, Aguiar J. Resposta inflamatória a membranas de biopolímero de cana-de-açúcar e telas de polipropileno re-implantadas no peritônio parietal de ratos. An Fac Med Univ Fed Pernamb. 2005; 50:37-40.
17. Silva D, Aguiar J, Marques A, Coelho A, Rolim Filho E. Miringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e fascia autóloga em Chinchilla laniger. An Fac Med Univ Fed Pernamb. 2006; 51:45-51.
18. Aguiar J, Lins E, Marques S, Coelho A, Rossiter R, Melo R. Sugarcane biopolymer patch in femoral artery angioplasty in dogs. Acta Cir Bras. 2007; 22:77-81.
19. Marques S. Um novo substituto vascular: estudo experimental com biopolímero de cana-de-açúcar. [Concurso para Professor Titular]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2006.
20. Lucena RG. Utilização do biopolímero de cana-de-açúcar como novo material para *sling* pubovaginal: análise estereológica. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2007.
21. Lima FMT. Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como substituto de dura-máter em ratos Wistar. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2008.

22. Villar FO. Utilização do biopolímero da cana-de-açúcar na túnica albunígea: estudo experimental em cães. In: 30º Congresso Brasileiro de Urologia, 2005, Brasília. Annals International Brazilian Journal Urology, v.30,p. 126-126,2005.
23. Silveira RK. Eficácia da membrana de celulose produzida pela Zoogloea SP na forma multiperfurada comparada a forma compacta e a membrana sintética de politetrafluoretileno expandido na correção cirúrgica de falha músculo-aponeurótica aguda induzida em ratos. Tese de Doutorado, Departamento de Cirurgia, UFPE, 2009.
24. Lima FMT. Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como substituto de dura-máter em ratos Wistar. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2008
25. Lucena RG. Utilização do biopolímero de cana-de-açúcar como novo material para *sling* pubo vaginal: análise estereológica. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2007.



Artigo Original 1



ESTUDO COMPARATIVO MACROSCÓPICO DOS DEFEITOS OSTEOCONDRAIS PRODUZIDOS EM FÊMURES DE COELHOS PREENCHIDOS COM GEL DE BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR

*COMPARATIVE STUDY OF MACROSCOPIC ANALYSIS OF THE OSTEOCONDRALE
DEFECTS PRODUCED IN FEMORAL CONDYLES FILLED
WITH BIOPOLYMER CANE-SUGAR GEL, IN RABBITS*

Paulo Cezar Vidal Carneiro de Albuquerque¹, Saulo Monteiro dos Santos¹, José Lamartine de Andrade Aguiar¹, Nicodemus Pontes Filho², José Roberto Vieira de Mello², Mariana Lúcia Correia Ramos Costa², Clarissa Miranda Carneiro de Albuquerque Olbertz³, Tarciana Mendonça de S. Almeida³, Alessandro Henrique da Silva Santos⁴, Joacil Carlos da Silva⁵

1 - Professor do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco

2 - Professor do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco

3 - Estudante de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco

4 - Professor do Departamento de Estatística e Ciências Atuariais da Universidade Federal de Sergipe

5 - Médico Neurocirurgião do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco

Trabalho realizado no Núcleo de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco

Correspondência: Av. Prof. Moraes Rêgo, s/nº, Cidade Universitária – CEP: 50670-420 Recife-PE. Tel: (81) 2126-8518 e-mail:paulovidal_@hotmail.com

Potencial Conflito de Interesses

Declaramos inexistência de conflito de interesses neste artigo.

RESUMO

Objetivo: Estudar a cicatrização, superfície, coloração, consistência e continuidade do tecido de reparação após produção de defeitos osteocondrais em côndilos femorais de coelhos preenchidos com o gel de biopolímero da cana-de-açúcar, nos períodos de 90, 120 e 180 dias, e comparar com o grupo controle, sem o gel de biopolímero. **Métodos:** Foram estudados 16 coelhos brancos da linhagem Nova Zelândia, adultos jovens com 6 e 7 meses de idade e peso entre 2 e 2,5 kg, sem alterações no aparelho locomotor. Após anestesia geral, foi produzido com trefina um defeito de 3,2mm de diâmetro por 4mm de profundidade em cada côndilo femoral. Os animais foram divididos em dois grupo – Estudo: joelho direito, côndilos medial e lateral, preenchimento com gel de biopolímero de cana-de-açúcar; Controle: joelho esquerdo, côndilos medial e lateral, submetidos à cicatrização natural e analisados nos períodos de 90, 120 e 180 dias da cirurgia. Após o sacrifício, procedeu-se à ressecção das peças anatômicas, seguindo-se a imersão em solução de Bouin e fotografia com câmara Nikon Coopix 5400®, acoplada à lupa estereoscópica Nikon SM2800®, para estudo da superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização. **Resultados:** Foram analisados pelo teste do qui-quadrado. Não houve diferenças significativas na avaliação dos parâmetros estudados entre os grupos estudo e controle. **Conclusão:** O aspecto macroscópico da superfície articular, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do tecido encontrado sobre os defeitos osteocondrais preenchidos com o gel de biopolímero da cana-de-açúcar no grupo estudo se mostrou semelhante ao tecido encontrado no processo de reparação natural ocorrido no grupo controle.

Descritores – Trauma Articular; Cartilagem/Terapia; Defeito Osteocondral; Biopolímero da Cana-de-Açúcar.

ABSTRACT

Objective: To study the healing surface, color, consistency and continuity of the repair tissue after production of osteochondral defects in rabbit femoral condyles filled with gel biopolymer of cane sugar, in periods of 90, 120 and 180 days compared with a control group without the gel biopolymer.

Methods: We studied 16 rabbits, young adult New Zealand white, 6 and 7 months old, weighing between 2 and 2.5 kg, without changes in the locomotor system. In all the animals a defect was made 3.2 mm in diameter and 4 mm deep in the femoral condyle of the right and left knees. The animals were divided into two groups – Study: right knee, medial and lateral condyles, implantation of BPSCG; Control: left knee, medial and lateral condyles, submitted to natural healing – analyzed 90, 120 and 180 days after surgery. At these times, after sacrifice, the anatomical parts were resected and placed in Bouin's solution for macroscopic analysis. The gross appearance of the defects was evaluated using a Nikon CS 2800® stereomicroscope and photographed with a Nikon Coopix 5400®, camera according to the surface, color, consistency, continuity and healing. **Results:** The results were evaluated by the chi-square test. There were no significant difference in macroscopic assessment of wound healing between the study and control groups. **Conclusion:** With regard to the surface, color, consistency, continuity and healing of defects, the macroscopic tissue repaired with BPSCG was equivalent to that of the control group.

Keywords – Articular Trauma; Chondral; Cartilage; Biopolymer Sugar Cane Gel

INTRODUÇÃO

Os defeitos osteocondrais frequentemente evoluem para doença articular degenerativa, caracterizada por dor, rigidez e perda da mobilidade articular. Essa enfermidade está entre as causas mais comuns de incapacidade entre a população de meia idade e idosos. A cartilagem articular, por ser desprovida de vascularização e limitado potencial de cicatrização, faz do seu tratamento um verdadeiro desafio para os ortopedistas⁽¹⁻⁴⁾.

O processo de cicatrização da cartilagem não obedece à fase natural de necrose, inflamação e reparação. O tecido condral, quando lesionado, não forma hematoma nem coágulo e não produz fibrina, que servem de arcabouço ao novo tecido de reparação. A ausência da fase de vascularização limita o aporte de células para resposta inflamatória ao trauma^(1,3-8).

Considerando a reparação dos defeitos osteocondrais, destacam-se como tratamentos o desbridamento da cartilagem lesada, as perfurações da placa óssea subcondral, as microfraturas, o transplante de tecido condral ou osteocondral. Utiliza-se como método biológico o implante de células cultivadas potencialmente condrogênicas: células mesenquimais e condrócitos autólogos cultivados e transplante alógeno osteocondral, este último retirado de cadáver^(3,6,9-17), técnicas complexas e de alto custo, dificuldades que levam à procura de alternativas⁽¹³⁻¹⁷⁾.

O biopolímero da cana-de-açúcar (BPCA) tem sido empregado por um grupo de pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco em diversos sistemas corporais de modelos animais, com baixa toxicidade e excelente biocompatibilidade, além do baixo custo de produção, características que indicam grande competitividade do produto em relação aos similares sintéticos importados⁽¹⁷⁻²³⁾.

O objetivo desta pesquisa foi estudar a cicatrização, superfície, coloração, continuidade e consistência do tecido de reparação após produção de defeitos osteocondrais em côndilos femorais de coelhos preenchidos com o gel de biopolímero da cana-de-açúcar (GBPCA), nos períodos de 90, 120 e 180 dias, comparando com o grupo controle, sem o GBPCA.

MÉTODOS

Para o estudo proposto foram utilizados 16 coelhos brancos da linhagem Nova Zelândia, adultos jovens com 6 e 7 meses de idade e peso entre 2 e 2,5 kg, sem alterações no aparelho locomotor. Os coelhos foram procedentes do criatório da Associação dos Cunicultores de Pernambuco, mantidos em gaiolas metálicas específicas (um animal por gaiola), à temperatura ambiente, no Biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram alimentados com ração padrão peletizada e água *ad libitum* sob supervisão veterinária e de acordo com a Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEa-UFPE) e o código de ética de experimentação para animais do Conselho Internacional da Organização da Ciência Médica e do Colégio Brasileiro de Experimentação em Animais.

Técnica cirúrgica

Os coelhos foram submetidos à anestesia geral com cloridrato de ketamina a 5% na dose de 50 mg/kg de peso, associada ao hidrato de cloral a 10% na dose de 0,5 ml/kg de peso, complementada com anestesia local, xilocaína 5 ml a 2% diluída em 9 ml de água destilada. Após tricotomia da área cirúrgica, anti-sepsia com solução iodada, aposição de campo operatório fenestrado, incisão para-patelar medial, artrotomia para melhor visualização, foi provocada luxação lateral da patela. Com o joelho fletido, foram produzidos com trefina metálica defeitos osteocondrais de 3,2mm de diâmetro e 4,0mm de profundidade em cada côndilo femoral.

Os animais foram divididos em dois grupos: grupo estudo, *joelho direito*, côndilos medial e lateral, os defeitos produzidos foram preenchidos com GBPCA; e grupo controle, *joelho esquerdo*, côndilos medial e lateral, os defeitos produzidos foram deixados sem preenchimento. Os animais foram seguidos com observação clínica e sem restrições de mobilização. Não foi diagnosticado nenhum quadro de infecção.

Os coelhos foram sacrificados após o ato cirúrgico nos períodos de 90 dias (seis coelhos), 120 dias (cinco coelhos) e 180 dias (cinco coelhos), seguindo-se a ressecção das peças anatômicas, imersão em solução de Bouin para posterior análise macroscópica (Figura 1).



Figura 1 — A) Incisão operatória; B) Luxação da patela; C, D e E) Produção de defeitos com trefina; F) Preenchimento dos defeitos com GBPCA; G e H) Aproximação do tecido celular subcutâneo, sutura da pele e curativo

Avaliação macroscópica

A inspeção macroscópica proposta por Ribeiro *et al*⁽⁷⁾ foi o critério de avaliação empregado para o estudo comparativo dos defeitos osteocondrais produzidos nos joelhos dos coelhos, observando-se como parâmetros a *superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização* do defeito.

- ❖ Superfície da articulação – classificada como plana, desnivelada e irregular.
- ❖ Coloração – classificada como translúcida, quando existia a cor natural da cartilagem; opaca, quando a cor era natural, porém sem brilho; e descolorada, quando a cor não era natural.
- ❖ Consistência do reparo – classificada como firme ou amolecida.
- ❖ Continuidade – considerada nivelção e integração do reparo com a cartilagem adjacente. Classificada como menor de 50%, nenhuma integração; entre 50 e 75%, integração parcial do defeito; e acima de 75%, integração total do defeito com a superfície da cartilagem.
- ❖ Cicatrização do defeito – diz respeito ao preenchimento de toda a lesão por tecido cicatricial, podendo ser classificada em total, quando o defeito estava completamente cicatrizado, e parcial, divididos em quatro categorias: maior ou igual a 75%; menor de 75% e maior ou igual a 50%; menor de 50% e maior ou igual a 25%; menor de 25% até 0%.

Para inspeção e classificação dos defeitos osteocondrais utilizou-se lupa estereoscópica Nikon SM2800[®], acoplada à máquina fotográfica Nikon Coolpix 5400[®], disponibilizada pelo Departamento de Morfologia do Laboratório Ageu Magalhães – Recife – PE.

Métodos estatísticos

Na análise estatística foram obtidas as frequências absolutas e relativas das categorias analisadas e empregado o teste do qui-quadrado para verificação da homogeneidade das distribuições entre os dois grupos. Os dados encontrados foram agrupados na planilha Excel e analisados no programa estatístico Graph Pad Prism na versão 4.0, sendo considerado o nível de significância de 5%, $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os resultados das variáveis dependentes encontradas nos diferentes grupos de animais estão nas tabelas 1, 2, 3 e 4.

Para os coelhos sacrificados no período de 90 dias, a aplicação do teste do qui-quadrado para verificação da homogeneidade de distribuição das frequências dos grupos estudo e controle, segundo a avaliação qualitativa dos côndilos lateral e medial com relação às variáveis de superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do defeito, produziu os seguintes resultados: côndilo lateral – $p=0,1767$ $p=0,2636$, $p=1,000^*$, $p=0,2899$ $p=0,1342^*$, respectivamente, e côndilo medial – $p=0,3998$, $p=0,7881$, $p=1,000^*$, $p=0,3012$, $p=1,000^*$, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 – Distribuição da frequência das variáveis: superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do defeito nos animais sacrificados 90 dias após a cirurgia

Coelhos: 6/7/8/13/19/22								
Parâmetros	Grupos							
	Estudo				Controle			
	Côndilos (<i>joelho direito</i>)				Côndilos (<i>joelho esquerdo</i>)			
	lateral		medial		lateral		Medial	
	n	%	N	%	n	%	n	%
Superfície								
Plana	4	66,7	5	83,3	1	16,7	3	50,0
Desnivelada	2	33,3	1	16,7	4	66,6	2	33,3
Irregular	0	0,0	0	0,0	1	16,7	1	16,7
Coloração								
Translúcida	0	0,0	1	16,7	2	33,3	2	33,3
Opaca	2	33,3	1	16,7	2	33,3	1	16,7
Descolorada	4	66,7	4	66,6	2	33,3	3	50,0
Consistência								
Firme	6	100,0	6	100,0	6	100,0	6	100,0
Não firme	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Continuidade								
Nenhuma (<50%)	2	33,3	3	50,0	1	16,7	2	33,3
Parcial ($\leq 50 \geq 75\%$)	4	66,7	3	50,0	3	50,0	2	33,3
Total (<75%)	0	0,0	0	0,0	2	33,3	2	33,3
Cicatrização do defeito								
Total	3	50,0	2	33,3	1	16,7	3	50,0
Parcial	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<100% $\geq 75\%$	1	16,7	2	33,3	1	16,7	1	16,7
<75% $\geq 50\%$	0	0,0	1	16,7	3	49,9	2	33,3
<50% $\geq 25\%$	0	0,0	0	0,0	1	16,7	0	0,0
<25% a 0%	2	33,3	1	16,7	0	0,0	0	0,0

Para os coelhos sacrificados no período de 120 dias, a aplicação do teste do qui-quadrado para verificar a homogeneidade de distribuição das frequências dos grupos estudo e controle, segundo a avaliação qualitativa dos côndilos lateral e medial com relação às variáveis de superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do defeito, produziu os seguintes resultados: côndilo lateral – $p=1,000^*$, $p=1,000^*$, $p=1,000^*$, $p=0,5238$, $p=0,1429^*$, respectivamente, e côndilo medial – $p=1,000^*$, $p=1,000^*$, $p=1,000^*$, $p=0,4444$, $p=1,000^*$, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2 – Distribuição da frequência das variáveis: superfície, coloração, consistência, continuidade, cicatrização do defeito nos animais sacrificados 120 dias após a cirurgia

Coelhos: 1/2/3/4/5								
	Grupos							
	Estudo				Controle			
	Côndilos (<i>joelho direito</i>)				Côndilos (<i>joelho esquerdo</i>)			
Parâmetros	lateral		medial		lateral		Medial	
	n	%	N	%	n	%	n	%
Superfície								
Plana	3	60,0	3	60,0	3	60,0	3	60,0
Desnivelada	2	40,0	2	40,0	2	40,0	2	40,0
Irregular	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Coloração								
Translúcida	2	40,0	2	40,0	2	40,0	2	40,0
Opaca	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Descoloração	3	60,0	3	60,0	3	60,0	3	60,0
Consistência								
Firme	5	100,0	5	100,0	5	100,0	5	100,0
Não firme	0	0,0	0	0	0	0,0	0	0,0
Continuidade								
Nenhuma (<50%)	3	60,0	0	0,0	1	20,0	2	40,0
Parcial ($\leq 50 \geq 75\%$)	2	40,0	5	100,0	4	80,0	3	60,0
Total (<75%)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Cicatrização do defeito								
Total	3	60,0	1	20,0	1	20,0	2	40,0
Parcial	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<100% $\geq 75\%$	0	0,0	2	40,0	2	40,0	1	20,0
<75% $\geq 50\%$	0	0,0	1	20,0	2	40,0	1	20,0
<50% $\geq 25\%$	0	0,0	1	20,0	0	0,0	1	20,0
<25% a 0%	2	40,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0

Para os coelhos sacrificados no período de 180 dias, a aplicação do teste do qui-quadrado para verificar a homogeneidade de distribuição das frequências dos grupos estudo e controle, segundo avaliação qualitativa dos côndilos lateral e medial com relação às variáveis de superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do defeito, produziu os seguintes resultados: côndilo lateral – $p=1,000^*$, $p=0,3678$, $p=1,000^*$, $p=0,3678$, $p=1,000^*$, respectivamente, e côndilo medial – $p=0,2635$, $p=0,4444^*$, $p=1,000^*$, $p=0,2635$, $p=0,1667^*$, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3 – Distribuição da frequência das variáveis: superfície, coloração, consistência, continuidade, cicatrização do defeito nos animais sacrificados 180 dias após a cirurgia

Coelhos: 23/26/27/30/32								
	Grupos							
	Estudo				Controle			
	Côndilos (<i>joelho direito</i>)				Côndilos (<i>joelho esquerdo</i>)			
Parâmetros	Lateral		medial		lateral		Medial	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Superfície								
Plana	3	60,0	2	40,0	4	80,0	4	80,0
Desnivelada	2	40,0	1	20,0	1	20,0	1	20,0
Irregular	0	0,0	2	40,0	0	0,0	0	0,0
Coloração								
Translúcida	0	0,0	0	0,0	1	20,0	0	0,0
Opaca	1	20,0	2	40,0	0	0,0	0	0,0
Descoloração	4	80,0	3	60,0	4	80,0	5	100,0
Consistência								
Firme	5	100,0	4	80,0	5	100,0	5	100,0
Não firme	0	0,0	1	20,0	0	0,0	0	0,0
Continuidade								
Nenhuma (<50%)	2	40,0	2	40,0	4	80,0	4	80,0
Parcial ($\leq 50 \geq 75\%$)	2	40,0	2	40,0	1	20,0	0	0,0
Total (<75%)	1	20,0	1	20,0	0	0,0	1	20,0
Cicatrização do defeito								
Total	3	60,0	2	40,0	4	80,0	4	80,0
Parcial	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<100% $\geq 75\%$	1	20,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<75% $\geq 50\%$	1	20,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<50% $\geq 25\%$	0	0,0	0	0,0	1	20,0	1	20,0
<25% a 0%	0	0,0	3	60,0	0	0,0	0	0,0

Para todos os três grupos analisados, a aplicação do teste do qui-quadrado para verificar a homogeneidade da distribuição das frequências dos grupos estudo e controle, segundo avaliação qualitativa dos côndilos lateral e medial com relação às variáveis de superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do defeito, produziu os seguintes resultados: côndilo lateral – $p=0,722$, $p=0,430$, $p=1,000^*$, $p=1,000^*$, $p=0,0518^*$, respectivamente, e côndilo medial – $p=1,000^*$, $p=0,551$, $p=1,000^*$, $p=0,279^*$, $p=0,190$, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição da frequência das variáveis: superfície, coloração, consistência, continuidade, cicatrização do defeito em todos os animais sacrificados em todos os grupos

Total de 16 amostras: 90/120/180 dias								
	Grupos							
	Estudo				Controle			
	Côndilos (<i>joelho direito</i>)				Côndilos (<i>joelho esquerdo</i>)			
Parâmetros	Lateral		medial		lateral		Medial	
	n	%	n	%	N	%	n	%
Superfície								
Plana	10	62,5	10	62,5	8	50,0	10	62,5
Desnivelada	6	37,5	4	25,0	7	43,8	5	31,3
Irregular	0	0,0	2	12,5	1	6,2	1	6,2
Coloração								
Translúcida	2	12,5	3	18,8	5	31,3	4	25,0
Opaca	3	18,8	3	18,8	2	12,5	1	6,2
Descoloração	11	68,8	10	62,4	9	56,3	11	68,8
Consistência								
Firme	16	100,0	15	93,8	16	100,0	16	100
Não firme	0	0,0	1	6,2	0	0,0	0	0,0
Continuidade								
Nenhuma (<50%)	7	43,8	5	31,3	6	37,5	8	50,0
Parcial ($\leq 50 \geq 75\%$)	8	50,0	10	62,3	8	50,0	5	31,3
Total (<75%)	1	6,2	1	6,2	2	12,5	3	18,8
Cicatrização do defeito								
Total	9	56,3	5	31,3	6	37,5	9	56,3
Parcial	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<100% $\geq 75\%$	2	12,5	4	25,0	3	18,8	2	12,5
<75% $\geq 50\%$	1	6,2	2	12,5	5	31,3	3	18,8
<50% $\geq 25\%$	0	0,0	1	6,3	2	12,5	2	12,5
<25% a 0%	4	25,0	4	25,0	0	0,0	0	0,0

O resultado do teste estatístico empregado para verificar a diferença entre as frequências encontradas nos diferentes grupos não rejeitou a hipótese de nulidade entre as variáveis.

Joelhos direito (Grupo Estudo) e joelho esquerdo (Grupo Controle) em um coelho de cada período (figura 2).

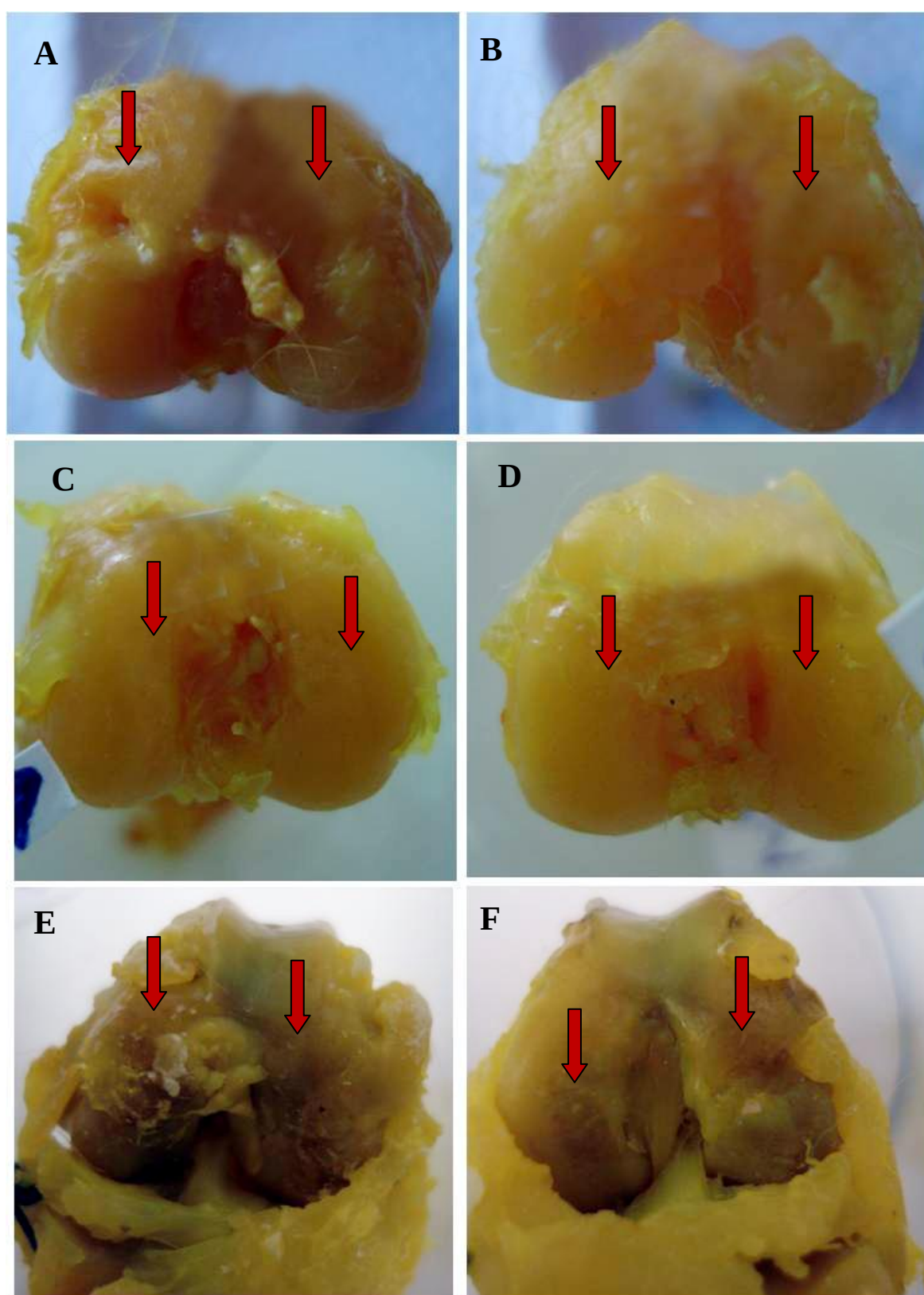


Figura 2 – Fotografia dos joelhos direito, grupo estudo (A,C,E) e esquerdo, grupo controle (B,D e F):A e B) após 90 dias; C e D) após 120 dias; E e F) após 180 dias de cirurgia

DISCUSSÃO

No modelo empregado, o coelho foi escolhido como animal de experimentação por ser a espécie mais comumente utilizada para reparação dos defeitos osteocondrais^(1,7).

A utilização de trefina para produção dos defeitos foi escolhida por não provocar lesões nos condrócitos, frequentemente observadas com o uso de brocas de perfuração⁽¹³⁻¹⁷⁾. Quanto à dimensão do defeito produzido, optamos pelo diâmetro 3.2 x 4.0mm em animais de 2 a 3 kg por ser compatível com o tamanho dos joelhos dos coelhos⁽¹³⁻¹⁷⁾.

Entre as técnicas cirúrgicas até então empregadas na reparação dos defeitos osteocondrais, ainda não foi encontrada uma comprovadamente eficiente^(6,13,16,24-26). Isto se deve, principalmente, às dificuldades encontradas para substituição da cartilagem hialina, que ainda não é reproduzida artificialmente.

As técnicas de estimulação do tecido osteocondral, tais como perfurações, abrasões, desbridamentos e micro-fraturas, promovem uma proliferação excessiva de fibroblastos, que resulta na formação de um tecido denominado de fibrocartilagem, com menor resistência que a cartilagem hialina original⁽¹⁰⁻¹⁵⁾.

O transplante de tecidos para a cobertura de defeitos osteocondrais, como periósteo e pericôndrio, ricos em células mesenquimais, também não induz a diferenciação dessas células em condrócitos^(1,7,16,24,26). O transplante de células cartilaginosas e mesenquimais nos diferentes estágios de diferenciação foi estudado em vários modelos, porém na análise histológica não foi constatada a presença de cartilagem hialina. Embora os resultados iniciais tenham sido animadores, outros estudos são necessários para confirmação da presença ou não da cartilagem^(1,7,9,12,16,24-33).

As técnicas de transplante osteocondral realizadas através da retirada de blocos osteocondrais de áreas doadoras, autóloga ou heteróloga, não regeneram a cartilagem^(12,16,24,27-33) e são utilizadas principalmente em lesões traumáticas com resultados satisfatórios⁽²⁸⁻³³⁾.

Já foi descrita a utilização de materiais artificiais para preenchimento dos defeitos osteocondrais, como o ácido poliglicólico, cola de fibrina, gel de colágeno e blocos de carbono, entretanto constatou-se grande reação inflamatória. O uso desse tipo de material, quando associado ao cultivo de células mesenquimais para aumentar o seu potencial de crescimento, parece ser o futuro de novos avanços^(1,7,8,12,24,32-35). O Biopolímero da cana-de-açúcar já foi utilizado experimentalmente como substituto de outros tecidos, como dispositivo de suporte para incontinência urinária⁽³⁶⁾, substituto de próteses vasculares^(23,37), coadjuvante

na cicatrização das feridas⁽²⁰⁾, substituto de membrana timpânica⁽²²⁾, na reparação da dura-máter⁽³⁸⁾ e no tecido vesical⁽³⁹⁾. Com base nos resultados desses estudos, aplicou-se o BPCA na forma de gel no preenchimento de defeitos osteocondrais produzidos em côndilos femorais de coelhos.

O teste do qui-quadrado foi utilizado por se tratar de variáveis qualitativas para comparação entre os grupos⁽⁴⁰⁾. Constatou-se que os resultados da pesquisa, quando comparados os grupos estudo e controle, apresentaram uma distribuição homogênea entre as variáveis superfície, coloração, consistência e cicatrização do defeito, não rejeitando-se a hipótese inicial de nulidade. O mesmo foi observado por Ribeiro *et al*⁽⁷⁾, que empregaram o mesmo modelo experimental, reparando os defeitos produzidos com enxertos retirados do outro joelho, e também não observaram diferenças na qualidade macroscópica entre os grupos.

Apesar dos resultados quanto ao uso do GBPCA para o preenchimento dos defeitos osteocondrais não demonstrarem diferenças significativas entre as variáveis estudadas, observou-se uma maior distribuição da frequência da superfície plana nos animais do grupo estudo que, segundo Amiel *et al*⁽¹⁾, é uma característica importante para que o reparo osteocondral seja considerado biologicamente aceitável. Tal fato não ficou totalmente comprovado em decorrência do baixo número de coelhos estudados.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o aspecto macroscópico da superfície articular, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do tecido encontrado sobre os defeitos osteocondrais preenchidos com o gel de biopolímero da cana-de-açúcar no grupo estudo mostrou-se semelhante ao tecido encontrado no processo de reparação natural ocorrido no grupo controle.

REFERÊNCIAS

1. Amiel D, Coutts RD, Abel M, Stewart W, Harwood F, Akeson WH, et al. Rib perichondrial grafts for the repair of full-thickness articular-cartilage defects. *J Bone Joint Surg Am*. 1985;67(6):911-20.
2. Butinariu-Ephrat M, Robinson D, Mendes DG, Halpern N, Nevo Z. Resurfacing of goat articular cartilage by chondrocytes derived from bone marrow. *Clin Orthop*. 1996;(330): 234-43.
3. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage Part I: tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *J Bone Joint Surg*. 1997;79:600-11.
4. Costa AJF, Oliveira CRGCM, Leopizzi N, Amatuzzi MM. O uso da matriz óssea desmineralizada na reparação de lesões osteocondrais. Estudo experimental em coelhos. *Acta Ortop Bras*. 2001;9(4):27-38.

5. Inouye CM, Fagundes DJ, Faloppa F, Novo NF, Juliano Y, Figueiredo AS. et al. Estudo morfológico da articulação do joelho de coelhos após a reparação de um efeito osteocondral. *Acta Cir Bras.* 2002;17(suppl.1):403-9.
6. Steadman JR, Rodkey WG, Briggs KK. Microfraure to treat full-thickness chondral defects: surgical technique, rehabilitation, and outcomes. *J Knee Surg.* 2002;15(3):170-6.
7. Ribeiro JL, Camanho GL, Takita LC. Estudo macroscópico e histológico de reparos osteocondrais biologicamente aceitáveis. *Acta Ortop Bras.* 2004;12(1):16-21.
8. Sassioto MCP, Cardoso Filho N, Facco GG, Sodrés ST, Neves N, Purisco SU. Efeito da *Casearia sylvestris* no reparo ósseo com matriz óssea bovina desvitalizada em ratos. *Acta Cir Bras.* 2004;19(6):637-41.
9. Peterson L. Autologous chondrocyte transplantation: 2-10 year follow-up in 219 patients. Proceedings of the 65th Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons. New Orleans: Am Acad Orthop Surg; 1998.
10. O' Driscoll SW. The healing and regenerating of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am.* 1998;80(12):1795-812.
11. Moseley JB, Felson DT, Buckwalte J. Debridement and lavage for osteoarthritis of knee. *N Eng J Med.* 2002;347(11):81-8.
12. Cherubino P, Grassi FA, Bulgheroni, P, Ronga M. Autologous chondrocyte implantation using a bilayer collagen membrane: preliminary report. *J Orthop Surg.* 2003; 11(1):10-5.
13. Hangody L. The mosaicplasty technique for osteochondral lesions of the talus. *Foot Ankle Clin.* 2003;85(1):259-73.
14. Salvi AE, Metelli GP, Ascari R, Vitis R, De Chessa M, Corona M. Arthroscopy second look after mosaicplasty. *Artroscopia.* 2005;6:33-40.
15. Bartha L, Vajda A, Duska Z, Rahmeh H, Hangody L. Autologous osteochondral mosaicplasty grafting. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2006;36(10):739-50.
16. Wahegaonkar AL, Doi K, Hattori Y, Addosooki A. Technique of osteochondral autograft transplantation mosaicplasty for capitellar osteochondritis dissecans. *J Hand Surg.* 2007; 32(9):1454-61.
17. Haasper C, Zelle BA, Knobloch K. No mid-term difference in mosaicplasty in previously treated versus previously untreated patients with osteochondral lesions of the talus. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2008;128(5):499-504.
18. Beedle MP, Kennedy JF, Melo FAD, LloydLL, Medeiros VA. Cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zooglea sp*, Carbohydrate Polymers. 2000;42:375-83.
19. Coelho MCOC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota R, Tenório Filho F. Biopolímero produzido a partir de cana de açúcar para cicatrização cutânea. *Acta Cirur Bras.* 2002;17(suppl.1):1-7.
20. Castro C, Aguiar J, Melo F, Silva W, Marques E, Silva D. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. *An Fac Med Univ Fed Pernamb.* 2004;49(2):119-23.
21. Lima F, Lima J, Hirakawa P, Medeiros Júnior D, Lima F, Aguiar J. Resposta inflamatória a membranas de biopolímero de cana-de-açúcar e telas de polipropileno re-implantadas no peritônio parietal de ratos. *An Fac Med Univ Fed Pernamb.* 2005;50(1):37-40.
22. Silva D, Aguiar J, Marques A, Coelho A, Rolim Filho E. Miringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e fascia autóloga em Chinchilla laniger. *An Fac Med Univ Fed Pernamb.* 2006;51(1):45-51.
23. Aguiar J, Lins E, Marques S, Coelho A, Rossiter R, Melo R. Sugarcane biopolymer patch in femoral artery angioplasty in dogs. *Acta Cir Bras.* 2007;22(suppl.1):77-81.
24. BlueCross BlueShield Association (BCBSA), Technology Evaluation Center (TEC). Autologous chondrocyte transplantation of the knee. TEC Assessment Program. Chicago IL: BCBSA; June 2003; 18. Available at: http://www.bcbs.com/tec/vol18/18_02.html. Accessed September 15, 2004.
25. Karataglis D, Learmonth DJ. Management of big osteochondral defects of the knee using osteochondral allografts with the MEGA-OATS technique. *Knee.* 2005;12(5):389-93.
26. Hangody L, Vászárheli G, Hangody LR, Sukosd Z, Tibav G, Bartha L. Autologous osteochondral grafting- technique and long-term results. *Injury.* 2008;39(suppl.1):S32-S39.

27. Horas U, Pelinkovic D, Herr G, Aignet T, Schnettler R. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2003; 85-A(2):185-192.
28. Dozin B, Malpeli M, Cancedda R, et al. Comparative evaluation of autologous chondrocyte implantation and mosaicplasty: A multicentered randomized clinical trial. *Clin J Sport Med*. 2005;15(4):220-6.
29. Goomer RS, Amiel D. Repair of articular cartilage defects by ex-vivo gene therapy. *Curr Opin Orthop*. 2000;11(5):378-82.
30. Cain EL, Clancy WG. Treatment algorithm for osteochondral injuries of the knee. *Clin Sports Med*. 2001;20(2):321-42.
31. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am*. 2002; 84-A(6):1032-44.
32. Melo F. Contribuição ao estudo cinético da produção de polissacarídeos extracelulares por *Zoogloea sp.* em melaço de cana-de-açúcar. [Mestrado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2003.
33. Hayashi K, Kubo T, Doi K, Tabata Y, Akagawa Y. Development of new drug delivery system for implant bone augmentation using a basic fibroblast growth factor–gelatin hydrogel complex. *Dent Mater J*. 2007;(2692):170-7.
34. Iamaguti LS, Brandão CVS, Minto BW, Mamprim MJ, Ranzani JJT, Gomes DC. Utilização de membrana biossintética de celulose na trocleoplastia experimental em cães. Avaliação clínica, radiográfica e macroscópica. *Vet Zootec*. 2008;15(1):160-8.
35. Akagawa Y, Kubo T, Koretake K, Hayashi K, Doi K, Matura A, et al. Initial bone regeneration around fenestrated implants in Beagle dogs using basic fibroblast growth factor–gelatin hydrogel complex with varying biodegradation rates. *J Prosthodont Res* 2009;53(1):41-7.
36. Lucena RG. Utilização do biopolímero de cana-de-açúcar como novo material para *sling* pubo vaginal: análise estereológica. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2007.
37. Marques S. Um novo substituto vascular: estudo experimental com biopolímero de cana-de-açúcar. [Concurso para Professor Titular]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2006.
38. Lima FMT. Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como substituto de dura-máter em ratos Wistar. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2008.
39. Lima SVC, Aguiar JLA, Castro CMMB, Vilar FO, Carvalho B, Souza Jr E, et al. Reepithelialized bowel segment for bladder augmentation: a pilot study in an animal model. In: XXVIII Congresso de la Confederacion Americana de Urologia - CAU 2006, 2006, Recife. *Inter Braz J Urol*. 2006;32(suppl.1):89.
40. Arango HG. Bioestatística: teórica e computacional. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.



Artigo Original 2



ESTUDO COMPARATIVO DA ANÁLISE DA MENSURAÇÃO DA ÁREA CICATRIZADA DOS DEFEITOS OSTEOCONDRAIS PRODUZIDOS EM CÔNDILOS FEMORAIS DE COELHOS PREENCHIDOS COM GEL DE BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR

*COMPARATIVE STUDY OF ANALYSIS OF MEASUREMENT OF THE AREA HEALED OF
THE OSTEOCHONDRAL DEFECTS PRODUCED IN FEMORAL CONDYLES, FILLED
BIOPOLYMER OF SUGAR-CANE GEL, IN RABBITS*

Paulo Cezar Vidal Carneiro de Albuquerque¹, Saulo Monteiro dos Santos¹, José Lamartine de Andrade Aguiar¹, Nicodemus Pontes Filho², José Roberto Vieira de Mello², Mariana Lúcia Correia Ramos Costa², Clarissa Miranda Carneiro de Albuquerque Olbertz³, Tarciana Mendonça de S. Almeida³, Alessandro Henrique da Silva Santos⁴, Joacil Carlos da Silva⁵

1 - Professor do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco

2 - Professor do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco

3 - Estudante de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco

4 - Professor do Departamento de Estatística e Ciências Atuariais da Universidade Federal de Sergipe

5 - Médico Neurocirurgião do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco

Trabalho realizado no Núcleo de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco

Correspondência: Av. Prof. Moraes Rêgo, s/nº, Cidade Universitária – CEP : 50670-420 Recife-PE. Tel: (81) 2126-8518 e-mail:paulovidal_@hotmail.com

Potencial Conflito de Interesses

Declaramos inexistência de conflito de interesses neste artigo.

RESUMO

Objetivo: Estudar a mensuração da área dos defeitos osteocondrais cicatrizados produzidos em côndilos femorais de coelhos, nos períodos de 90, 120 e 180 dias, após preenchimento com gel de biopolímero da cana-de-açúcar, comparando com o grupo controle. **Métodos:** Foram estudados 16 coelhos brancos da linhagem Nova Zelândia, adultos jovens com 6 e 7 meses de idade e peso entre 2 e 2,5 kg, sem alterações no aparelho locomotor. Após anestesia geral, foi produzido com trefina um defeito de 3,2mm de diâmetro por 4mm de profundidade em cada côndilo femoral. Os animais foram divididos em dois grupo – Estudo: joelho direito, côndilos medial e lateral, preenchimento com gel de biopolímero de cana-de-açúcar; Controle: joelho esquerdo, côndilos medial e lateral, submetidos à cicatrização natural e analisados nos períodos de 90, 120 e 180 dias da cirurgia. Após o sacrifício, procedeu-se a ressecção das peças anatômicas, seguindo-se a imersão em solução de Bouin e fotografia com câmara Nikon Coopix 5400[®]. Nos defeitos produzidos foi identificada e mensurada a área cicatrizada nos dois côndilos femorais nos grupos estudo e controle através do programa Image-J[®], versão 1.3 para *Windows*. **Resultados:** Os dados foram submetidos à análise estatística aplicando-se o teste não paramétrico Mann-Whitney. Não foram verificadas diferenças significantes entre as médias nos grupos estudo e controle. **Conclusão:** As dimensões das áreas cicatrizadas dos defeitos do grupo estudo foram semelhantes as do grupo controle, cicatrizadas naturalmente.

Descritores: Cartilagem, Defeito Osteocondral, Biopolímero da Cana-de-Açúcar.

ABSTRACT

Objective: The purpose of the study was to measure, in comparison with the control group, the size of healed osteocartilaginous tissue, after filling the osteochondral defects in the knees of the rabbits with biopolymer sugar cane gel (BPSCG) at 90, 120 and 180 days. **Methods:** Sixteen (16), young adult New Zealand rabbits, 6 and 7 months old, weighing between 2 and 2.5 kg, without changes in the locomotor system were studied. In all the animals a defect 3.2 mm in diameter and 4 mm in depth was made in the femoral condyle of the right and left knees. The animals were divided into two groups - the treated: right knee, medial and lateral condyles, implantation of BPSCG, and untreated: left knee, medial and lateral condyles, submitted to natural healing – with follow-up at 90, 120 and 180 days. At these times, after sacrifice, the anatomical specimens were resected and placed in Bouin's solution for digital photographic documentation using a Nikon Coopix® 5400 camera. In the lesions produced the lesion that was completely or partially healed was identified. The area of defects that was considered healed was measured in both knees in the two groups using the Image-J® program, version 1.3 for Windows. **Results:** The results were submitted to the nonparametric Mann Whitney test. There were no significant differences between the means of the groups treated with BPSCG and the control group. **Conclusion:** The dimensions of the scarred areas of the defects of the study group were similar to those in the control group healed naturally.

Keywords: Cartilage, Osteochondral, Biopolymer Sugar Cane Gel.

INTRODUÇÃO

O emprego de diferentes polímeros para o preenchimento de defeitos osteocondrais na ortopedia tem histórico recente. Esta nova área da pesquisa de biomateriais tem por finalidade o desenvolvimento de implantes dotados de propriedades biocompatíveis com o tecido ósseo⁽¹⁻⁷⁾.

A reparação do tecido ósseo é complexa e ainda não foi totalmente elucidada⁽⁸⁻¹¹⁾. Independentemente da causa, a cicatrização desses defeitos segue uma sequência de eventos, que pode ser dividida em três fases, de acordo com as mudanças morfológicas: fase inflamatória, fase de reparação e fase de remodelação⁽⁸⁻¹⁶⁾. Na fase inflamatória há formação e reorganização do hematoma, liberação de fatores de crescimento plaquetário e células progenitoras, provenientes do próprio tecido ósseo e sangue periférico. Essas células, na fase de reparação, vão formar o tecido ósseo primário por um processo semelhante à ossificação endocondral ou intramembranosa^(14, 15). Posteriormente esse tecido imaturo sofre remodelação auxiliada pelos osteoclastos até formar o osso maduro ou lamelar. Esta fase pode durar meses ou anos, até que o osso neoformado através de forças mecânicas adquira as características estruturais e fisiológicas anteriores ao defeito^(8,13,16).

A cicatrização osteocondral guiada por biopolímeros promove proteção contra a invasão de tecidos não osteogênicos competidores. É com essa finalidade que os defeitos são preenchidos por matrizes orgânicas ou inorgânicas, que serão lentamente reabsorvidas e substituídas por tecido neoformado^(8,9,13,17-20).

O objetivo do estudo foi mensurar as áreas dos defeitos cicatrizados produzidos em côndilos femorais de coelhos após preenchimento com o gel de biopolímero da cana-de-açúcar (GBPCA), nos períodos de 90, 120 e 180 dias, comparando com o grupo controle.

MÉTODOS

Para o estudo proposto foram utilizados 16 coelhos brancos da linhagem Nova Zelândia, adultos jovens com 6 e 7 meses de idade e peso entre 2 e 2,5 kg, sem alterações no aparelho locomotor. Os coelhos foram procedentes do criatório da Associação dos Cunicultores de Pernambuco, mantidos em gaiolas metálicas específicas (um animal por gaiola), à temperatura ambiente, no Biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram alimentados com ração padrão peletizada e água *ad libitum* sob supervisão veterinária e de acordo com a Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEa-UFPE) e o código de ética de experimentação para animais do Conselho Internacional da Organização da Ciência Médica e do Colégio Brasileiro de Experimentação em Animais.

Técnica cirúrgica

Os coelhos foram submetidos à anestesia geral com cloridrato de ketamina a 5% na dose de 50 mg/kg de peso, associada ao hidrato de cloral a 10% na dose de 0,5 ml/kg de peso, complementada com anestesia local, xilocaína 5 ml a 2% diluída em 9 ml de água destilada. Após tricotomia da área cirúrgica, anti-sepsia com solução iodada, aposição de campo operatório fenestrado, incisão para-patelar medial, artrotomia para melhor visualização, foi provocada luxação lateral da patela. Com o joelho fletido, foram produzidos com trefina metálica defeitos osteocondrais de 3,2mm de diâmetro e 4,0mm de profundidade em cada côndilo femoral.

Os animais foram divididos em dois grupos: grupo estudo, *joelho direito*, côndilos medial e lateral, os defeitos produzidos foram preenchidos com GBPCA; e grupo controle, *joelho esquerdo*, côndilos medial e lateral, os defeitos produzidos foram deixados sem preenchimento. Os animais foram seguidos com observação clínica e sem restrições de mobilização. Não foi diagnosticado nenhum quadro de infecção.

Os coelhos foram sacrificados após o ato cirúrgico nos períodos de 90 dias (seis coelhos), 120 dias (cinco coelhos) e 180 dias (cinco coelhos). A seguir, procedeu-se à ressecção das peças anatômicas, seguindo-se a imersão em solução de Bouin para posterior documentação fotográfica.

Foi utilizado o programa de computação gráfica Image-J®, versão 1.3 para *Windows*, para mensurar a área cicatrizada, sendo as imagens fotografadas com máquina digital Nikon Coolpix® 5400 acoplada à lupa estereoscópica Nikon® SM2800 (Figura 1 e 2).

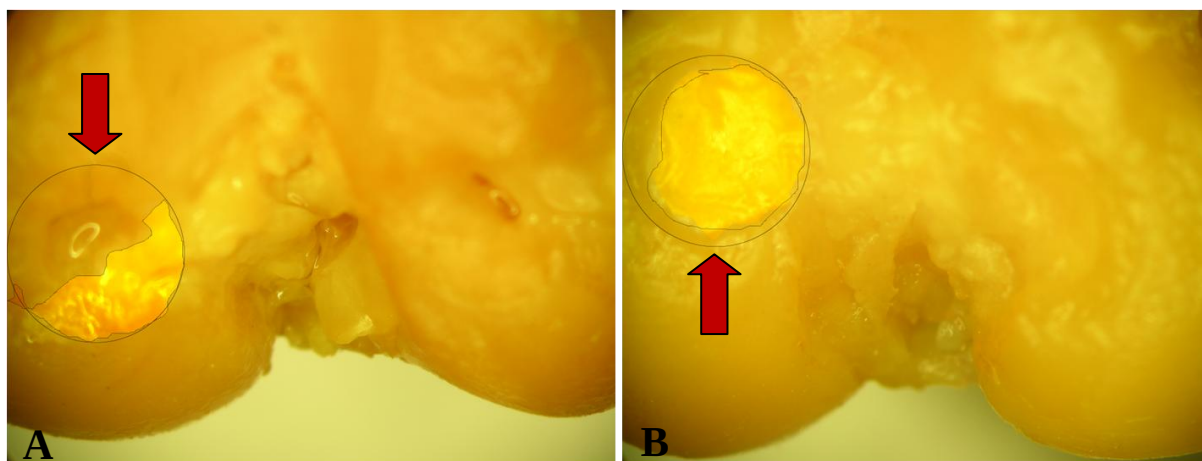


Figura 1 – A, B) Mensuração da área pelo Programa Image J em documentação fotográfica dos côndilos femorais. C) Lupa Nikon SM 2800



Figura 2 – Lupa estereoscópica Nikon® SM2800

Para calibração dos dados da computação gráfica foi usado o programa Image-J[®] versão 1.3 para *Windows*, adotando-se como parâmetro a distância intercondilar mensurada em centímetros. O tamanho da área cicatrizada foi mensurado e comparado com o grupo controle. Considerou-se o defeito totalmente reparado quando as características macroscópicas eram uniformes.

A análise estatística dos resultados constitui na utilização do teste não paramétrico de Mann-Whitney. Foi aceito o nível de significância $p < 0,05\%$ para rejeição da hipótese de nulidade.

RESULTADOS

A mensuração em centímetros, quando comparada às áreas cicatrizadas dos côndilos femorais, tanto no grupo estudo quanto no grupo controle, não mostrou diferenças significativas (Tabelas 1,2,3).

Tabela 1 – Mensuração das áreas cicatrizadas dos defeitos osteocondrais nos côndilos medial e lateral, no período de 90 dias, nos 06 coelhos dos dois grupos

		Áreas cicatrizadas			
Período	Animal	Grupo Estudo		Grupo Controle	
		Medial	Lateral	Medial	Lateral
90	6	0,0820	0,0290	0,0800	0,0480
	7	0,0560	0,0600	0,0630	0,0630
	8	0,0560	0,0410	0,0590	0,0390
	13	0,0710	0,0790	0,0500	0,0800
	19	0,0140	0,0580	0,0460	0,0160
	22	0,0670	0,0670	0,0560	0,0820
Média		0,05767	0,0557	0,05900	0,0547
Desvio padrão		0,0235	0,0180	0,0120	0,0255
p – valor medial			0,699		
p – valor lateral			0,937		
Mann-Whitney					

Tabela 2 – Mensuração das áreas cicatrizadas dos defeitos osteocondrais nos côndilos medial e lateral, no período de 120 dias, nos 05 coelhos dos dois grupos

		Áreas cicatrizadas			
Período	Animal	Grupo Estudo		Grupo Controle	
		Medial	Lateral	Medial	Lateral
120	1	0,0790	0,0790	0,0790	0,0790
	2	0,0800	0,0790	0,0790	0,0810
	3	0,0360	0,0490	0,0800	0,0800
	4	0,0800	0,0620	0,0450	0,0350
	5	0,0490	0,0510	0,0250	0,0390
Média		0,0648	0,0640	0,0616	0,0628
Desvio padrão		0,0209	0,0146	0,0253	0,0236
p– valor medial			0,690		
p – valor lateral			0,841		
Mann-Whitney					

Tabela 3 – Mensuração das áreas cicatrizadas dos defeitos osteocondrais nos côndilos medial e lateral, no período de 180 dias, nos 05 coelhos dos dois grupos

Período	Animal	Áreas cicatrizadas			
		Grupo Estudo		Grupo Controle	
		Medial	Lateral	Medial	Lateral
180	30	0,0580	0,0670	0,0680	0,0640
	32	0,0720	0,0520	0,0450	0,0560
	27	0,0620	0,0650	0,0800	0,0530
	26	0,0570	0,0380	0,0740	0,0700
	23	0,0560	0,0740	0,0670	0,0480
Média		0,0610	0,0592	0,0668	0,0582
Desvio padrão		0,0065	0,0143	0,0132	0,0088
p – valor medial			0,310		
p – valor lateral			0,841		
Mann-Whitney					

DISCUSSÃO

Os biomateriais têm sua aplicação na ortopedia há mais de 60 anos e foram classificados em três distintas gerações: a primeira, materiais bioinertes; a segunda, materiais bioativos e biodegradáveis; e a terceira, estimuladores específicos da resposta celular^(6,16,17).

Os materiais de segunda geração, como os polímeros PLA e PGA, foram utilizados *in vivo* para reparação de defeitos osteocondrais como suportes de sustentação de células matrizes, e mostraram aumento da velocidade de preenchimento dos defeitos com tecido de melhor qualidade^(7,21-23,25,27).

Na presente pesquisa, o GBPCA foi utilizado na reparação dos defeitos osteocondrais com a finalidade de preenchimento e fornecimento de substrato para a

cicatrização superficial da cartilagem articular. Observou-se a área de crescimento de tecido neoformado sobre o GBPCA com dimensões semelhantes em ambos os grupos, estudo e controle.

A mensuração de pequenas áreas de tecidos utilizando estereomicroscópio, fotografias e o programa *Image J*[®] foi realizada por Pereira et al⁽²⁸⁾ em estudos com fêmures de ratos, demonstrando resultados em variáveis quantitativas comparando objetivamente os dois grupos estudados, o que motivou o emprego deste método em nossa pesquisa, pelo fato de possibilitar comparação objetiva entre as áreas cicatrizadas dos defeitos osteocondrais.

O emprego de métodos fotogramétricos com uso de câmeras digitais na mensuração de áreas foi utilizado por outros autores⁽²⁹⁾.

Os resultados encontrados utilizando o GBPCA no preenchimento dos defeitos osteocondrais demonstraram que o tamanho da área cicatrizada é semelhante nos dois grupos, o que também foi comprovado nas características macroscópicas qualitativas observadas por Ribeiro et al⁽⁸⁾ quando utilizaram enxertos osteocondrais para reparação de defeitos produzidos em côndilos femorais de coelhos.

O GBPCA utilizado foi de baixa densidade, fato esse que provavelmente permitiu a sua não incorporação total dentro dos defeitos osteocondrais. Essa linha de pensamento deve-se aos resultados obtidos noutros trabalhos, em que este material foi utilizado na forma densa para reparação de defeitos em vasos arteriais, membranas, bexiga urinária e dura mater⁽³⁰⁻³³⁾.

Na análise estatística dos resultados utilizou-se o teste estatístico Mann-Whitney por ser adequado para o tamanho de nossa amostra e a distribuição dos dados obtidos.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que as dimensões das áreas cicatrizadas dos defeitos osteocondrais produzidos em côndilos femorais de coelhos preenchidos com gel de biopolímero da cana-de-açúcar foram semelhantes as do grupo controle, cicatrizadas naturalmente.

REFERÊNCIAS

1. Inouye CM, Fagundes DJ, Faloppa F, Novo NF, Juliano Y, Figueiredo AS. et al. Estudo morfológico da articulação do joelho de coelhos após a reparação de um defeito osteocondral. *Acta Cir. Bras*; 2002; 17:403-9.
2. Hjelle K, Solheim E, Strand T, Muri R, Brittberg M: Articular cartilage defects in 1,000 knee arthroscopies. *Arthroscopy* 2002; 18:730-4.

3. Kim TK, Sharma B, Williams CG, Ruffner MA, Malik A, Mcfarland EG, Elisseeff JH. Experimental model for cartilage tissue engineering to regenerate the zonal organization of articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2003; 11: 653-64.
4. Ossendorf C, Kaps C, Kreuz PC, Burmester GR, Sittlinger M, Erggelet C. Treatment of posttraumatic and focal osteoarthritic cartilage defects of the knee with autologous polymer-based three-dimensional chondrocyte grafts: two year clinical results. *Arthritis Res Ther* 2007; 9:R41.
5. Rasse M. Resorbable poly(D, L)lactide plates and screws for osteosynthesis of condylar neck fractures in sheep. *Brit J Oral Max Surg.* 2007; 45:35-40.
6. Navarro M, Michiardi A, Castanõ O, Planell JA. Biomaterials in orthopaedics. *J R Soc Interface.* 2008; 5:1137-58.
7. Kreuz PC, Müller S, Ossendorf C, Kaps C, Erggelet C. Treatment of focal degenerative cartilage defects with polymer-based autologous chondrocyte grafts: four-year clinical results. *Arthritis Res Ther.* 2009; 11:R33.
8. Ribeiro JL, Camanho GL, Takita LC. Estudo macroscópico e histológico de reparos osteocondrais biologicamente aceitáveis. *Acta Ortop Bras.* 2004; 12:16-21.
9. Langer R, Tirrell DA. Designing materials for biology and medicine. *Nature* 2004; 428:487-492.
10. Johnson LL, Verioti C, Gelber J, Spector M, D'Lima D, Pittsley A. The pathology of the end-stage osteoarthritic lesion of the knee: Potential role in cartilage repair. *Knee.* 2010 Oct 7. [Epub ahead of print].
11. Flanigan DC, Harris JD, Brockmeier PM, Siston RA. The effects of lesion size and location on subchondral bone contact in experimental knee articular cartilage defects in a bovine model. *Arthroscopy.* 2010 Oct 8. [Epub ahead of print].
12. Amiel D, Coutts RD, Abel M, Stewart W, Harwood F, Akeson WH, et al. Rib perichondrial grafts for the repair of full-thickness articular-cartilage defects. *J Bone Joint Surg Am.* 1985; 67:911-20.
13. Costa AJF, Oliveira CRGCM, Leopizzi N, Amatuzzi MM. O uso da matriz óssea desmineralizada na reparação de lesões osteocondrais. Estudo experimental em coelhos. *Acta Ortop Bras.* 2001; 9:27-38.
14. Karsenty G. The complexities of skeletal biology. *Nature.* 2003; 423:316-8.
15. Goessler UR, Hormann K, Riedel F. Tissue engineering with chondrocytes and function of the extracellular matrix. *Intern J Mol Med.* 2004; 13:505-13.
16. Hing KA. Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering? *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.* 2004; 362:2821-50.
17. Spector M. Biomaterials-based tissue engineering and regenerative medicine solutions to musculoskeletal problems. *Swiss Med Wkly.* 2006; 136:293-301.
18. van den Bos T, Speijer D, Bank RA, Brömme D, Everts V. Differences in matrix composition between calvaria and long bone in mice suggest differences in biomechanical properties and resorption: Special emphasis on collagen. *Bone.* 2008; 43:459-68.
19. Brittberg M. Autologous chondrocyte implantation - Technique and long-term follow-up. *Injury.* 2008; 39:40-49
20. Martin-Hernandez C, Cebamanos-Celma J, Molina-Ros A, Ballester-Jimenez JJ, Ballester-Soleda J. Regenerated cartilage produced by autogenous periosteal grafts: a histologic and mechanical study in rabbits under the influence of continuous passive motion. *Arthroscopy.* 2010; 26:76-83.
21. Lu L, Currier BL, Yaszemski MJ. Synthetic bone substitutes. *Cur Op Orthop.* 2000; 11:383-90.
22. Chen Y, Webster TJ. Increased osteoblast functions in the presence of BMP-7 short peptides for nanostructured biomaterial applications. *J Biomed Mater Res A.* 2009; 91:296-304.
23. Necas A, Plánka L, Srnc R, Crha M, Hlucilová J, Klíma J, Starý D, Kren L, Amler E, Vojtová L, Jancár J, Gál P. Quality of newly formed cartilaginous tissue in defects of articular surface after transplantation of mesenchymal stem cells in a composite scaffold based on collagen I with chitosan micro- and nanofibres. *Physiol Res.* 2010; 59:605-14.
24. Kawamura, S., Wakitani, S., Kimura, T., Maeda, A., Caplan, A.I., Shino, K., and Ochi, T. Articular cartilage repair. Rabbit experiments with a collagen gel-biomatrix and chondrocytes cultured in it. *Acta Orthop Scand.* 1998;69:56-8.

25. Sakata MM, Alberto-Rincon MC, Duek EAR. Estudo da interação polímero/cartilagem/osso utilizando poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) e poli (p-dioxanona) em côndilo femural de coelhos. *Polímeros*. 2004;14:176-80.
26. Erggelet C, Sittinger M, Lahm A. The arthroscopic implantation of autologous chondrocytes for the treatment of full-thickness cartilage defects of the knee joint. *Arthroscopy*. 2003; 19:108–10.
27. Lind M, Larsen A, Clausen C, Osther K, Everland H. Cartilage repair with chondrocytes in fibrin hydrogel and MPEG polylactide scaffold: an in vivo study in goats. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008; 16:690-4.
28. Pereira AC, Amadei SU, Silveira VA, Balducci I, Faig-Leite H. Estudo comparativo da porcentagem das áreas cortical, trabecular e do canal medular do fêmur de ratos hipertensos(SRH) e normotensos, *Ciência Odontol Bras*. 2007; 10: 64-9.
29. Andrade RR, Kirchner FF. Mensurações com câmeras digitais. *Anais XI SBSR, Belo Horizonte, Brasil, 05 - 10 abril 2003, INPE*, p. 313-5.
30. Beedle MP, Kennedy JF, Melo FAD, LloydLL, Medeiros VA. Cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zooglea* sp, *Carbohydrate Polymers*. 2000; 42:375-83.
31. Coelho MCOC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota R, Tenório Filho F. Biopolímero produzido a partir de cana de açúcar para cicatrização cutânea. *Acta Cirur Bras*. 2002; 17:1-7.
32. Castro C, Aguiar J, Melo F, Silva W, Marques E, Silva D. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. *An Fac Med Univ Fed Pernamb*. 2004; 49:119-23.
33. Lima F, Lima J, Hirakawa P, Medeiros Júnior D, Lima F, Aguiar J. Resposta inflamatória a membranas de biopolímero de cana-de-açúcar e telas de polipropileno re-implantadas no peritônio parietal de ratos. *An Fac Med Univ Fed Pernamb*. 2005; 50:37-40.
34. Silva D, Aguiar J, Marques A, Coelho A, Rolim Filho E. Miringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e fascia autóloga em Chinchilla laniger. *An Fac Med Univ Fed Pernamb*. 2006; 51:45-51.
35. Aguiar J, Lins E, Marques S, Coelho A, Rossiter R, Melo R. Sugarcane biopolymer patch in femoral artery angioplasty in dogs. *Acta Cir Bras*. 2007; 22:77-81.
36. Lucena RG. Utilização do biopolímero de cana-de-açúcar como novo material para *sling* pubo vaginal: análise estereológica. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2007.
32. Marques S. Um novo substituto vascular: estudo experimental com biopolímero de cana-de-açúcar. [Concurso para Professor Titular]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2006.
33. Lima FMT. Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como substituto de dura-máter em ratos Wistar. [Tese Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2008.
34. Arango HG. Bioestatística: teórica e computacional. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.



Artigo Original 3

ESTUDO COMPARATIVO DA ANÁLISE HISTOLÓGICA DOS DEFEITOS OSTEOCONDRAIS PRODUZIDOS EM CÔNDILOS FEMORAIS DE COELHOS PREENCHIDOS COM GEL DE BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR

COMPARATIVE STUDY OF HISTOLOGICAL ANALYSIS OF THE OSTEOCHONDRAL DEFECTS PRODUCED IN FEMORAL CONDYLES, FILLED BIOPOLYMER OF SUGAR - CANE GEL, IN RABBITS

Paulo Cezar Vidal Carneiro de Albuquerque¹, Saulo Monteiro dos Santos¹, José Lamartine de Andrade Aguiar¹, Nicodemus Pontes Filho², José Roberto Vieira de Mello², Mariana Lúcia Correia Ramos Costa², Clarissa Miranda Carneiro de Albuquerque Olbertz³, Tarciana Mendonça de S. Almeida³, Alessandro Henrique da Silva Santos⁴, Joacil Carlos da Silva⁵

1 - Professor do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco

2 - Professor do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco

3 - Estudante de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco

4 - Professor do Departamento de Estatística e Ciências Atuariais da Universidade Federal de Sergipe

5 - Médico Neurocirurgião do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco

Trabalho realizado no Núcleo de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco

Correspondência: Av. Prof. Moraes Rêgo, s/nº – Cidade Universitária. CEP : 50670-420 - Recife-PE - Tel: (81) 2126-8518 e-mail : paulovidal_@hotmail.com

Potencial Conflito de Interesses

Declaramos inexistência de conflito de interesses neste artigo.

RESUMO

Objetivos: Estudar a resposta histológica dos defeitos osteocondrais produzidos em cêndilos femorais de coelhos, nos períodos de 90, 120 e 180 dias, após preenchimento com o gel de biopolímero da cana-de-açúcar, comparando com o grupo controle. **Métodos:** Foram estudados 16 coelhos brancos da linhagem Nova Zelândia, adultos jovens com 6 e 7 meses de idade e peso entre 2 e 2,5 kg, sem alterações no aparelho locomotor. Após anestesia geral, foi produzido com trefina um defeito de 3,2 mm de diâmetro por 4mm de profundidade em cada cêndilo femoral. Os animais foram divididos em dois grupos – Estudo: joelho direito, cêndilos medial e lateral, preenchimento com gel; Controle: joelho esquerdo, os cêndilos medial e lateral, submetidos à cicatrização natural e analisados nos períodos de 90, 120 e 180 dias da cirurgia. Após o sacrifício, procedeu-se à ressecção das peças anatômicas, seguindo-se a imersão em solução de Bouin e de cortes histológicos, corados com hematoxilina-eosina e tricrômio de Masson, e a análise com microscópio óptico, 100x e 400x. **Resultados:** Em todos os períodos do grupo estudo foi encontrada uma reação inflamatória granulomatosa mediada por células gigantes, enquanto no grupo controle houve uma cicatrização precoce produzida por fibroblastos. A análise morfométrica para a contagem das células gigantes, aplicando-se o teste de Kruskal-Wallis para a comparação das médias obtidas, não demonstrou resultados estatisticamente significantes. **Conclusão:** O gel de biopolímero da cana-de-açúcar utilizado para preenchimento dos defeitos osteocondrais produzidos nos cêndilos femorais de coelhos provocou no grupo estudo uma reação inflamatória mediada por células gigantes, enquanto no grupo controle foi encontrada uma reação cicatricial mediada por fibroblastos.

ABSTRACT

Objective: To assess the histological response of the osteochondral tissue, compared with a control group at 90, 120 and 180 days, after repair of wounds produced in the knees of rabbits, filled with biopolymer sugar cane gel (BPSCG). **Methods:** We studied 16 New Zealand rabbits, young adults, healthy, between and 7 months old, weighing between 2 and 2.5 kg. In all the animals a lesion 3.2 mm in diameter and 4 mm was induced in each femoral condyle of the right and left knees. The animals were divided into two groups: Study: right knee, medial and lateral condyles, implantation of BPSCG; Control: left knee, medial and lateral condyles, submitted to natural healing – and analyzed 90, 120 and 180 days after surgery. On these times, after sacrifice, the anatomical specimens were resected, placed in Bouin's solution, stained with hematoxylin-eosin and Masson trichrome and analysed in optical microscope with a magnification of 100x to 400x. **Results:** The overall result shows an inflammatory reaction of phagocytosis mediated by giant cells in both groups. The morphometric analysis was used for counting the number of the giant cells in the different groups. The Kruskal-Wallis test was used to compare the means of all groups treated, with no statistically differences in the control groups and healing mediated by collagen and fibroblasts was observed. **Conclusion:** Biopolymer gel of cane sugar used to fill osteochondral defects produced in the femoral condyles of rabbits caused an inflammatory reaction mediated by giant cells, whereas in the control group, found a healing reaction mediated by fibroblasts.

INTRODUÇÃO

Dentre os diversos biomateriais, uma grande importância tem sido dada aos biopolímeros que, de acordo com a Associação Nacional de Biossegurança, são considerados materiais poliméricos classificados estruturalmente como polissacarídeos, poliésteres ou poliamidas. A matéria-prima principal para a sua manufatura é uma fonte de carbono renovável, geralmente um carboidrato derivado da cana-de-açúcar, milho, batata, trigo ou beterraba⁽¹⁻¹³⁾.

Foi obtido um polissacarídeo extracelular pela fermentação do melaço da cana-de-açúcar por meio do microorganismo *Zoogloea sp* na Estação Experimental de Carpina da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Esse microorganismo foi identificado no Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). O biopolímero sintetizado por esta bactéria apresenta características físicas como pureza, elasticidade e flexibilidade⁽¹⁴⁻²¹⁾.

O biopolímero da cana-de-açúcar na forma gel é hidrofílico, com boa biocompatibilidade, o que viabiliza sua aplicação para preenchimento de defeitos osteocondrais^(4,14-21).

Esse GBPCA está sendo estudado e aplicado pelo Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE em vários ensaios, como Urologia, Neurologia, Cirurgia Vascular e Oftalmologia⁽¹⁸⁻²¹⁾.

O objetivo do presente estudo foi analisar a histologia dos defeitos osteocondrais produzidos em côndilos femorais de coelhos, preenchidos com gel de biopolímero de cana-de-açúcar (GBPCA), em períodos de 90, 120 e 180 dias, comparando com o grupo controle.

MÉTODOS

Para o estudo proposto foram utilizados 16 coelhos brancos da linhagem Nova Zelândia, adultos jovens com 6 e 7 meses de idade e peso entre 2 e 2,5 kg, sem alterações no aparelho locomotor. Os coelhos foram procedentes do criatório da Associação dos Cunicultores de Pernambuco, mantidos em gaiolas metálicas específicas (um animal por gaiola), à temperatura ambiente, no Biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram alimentados com ração padrão peletizada e água *ad libitum* sob supervisão veterinária e de acordo com a Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de

Pernambuco (CEEAA-UFPE) e o código de ética de experimentação para animais do Conselho Internacional da Organização da Ciência Médica e do Colégio Brasileiro de Experimentação em Animais.

Técnica cirúrgica

Os coelhos foram submetidos à anestesia geral com cloridrato de ketamina a 5% na dose de 50 mg/kg de peso, associada ao hidrato de cloral a 10% na dose de 0,5 ml/kg de peso, complementada com anestesia local, xilocaína 5 ml a 2% diluída em 9 ml de água destilada. Após tricotomia da área cirúrgica, anti-sepsia com solução iodada, aposição de campo operatório fenestrado, incisão para-patelar medial, artrotomia para melhor visualização, foi provocada luxação lateral da patela. Com o joelho fletido, foram produzidos com trefina metálica defeitos osteocondrais de 3,2mm de diâmetro e 4,0mm de profundidade em cada côndilo femoral.

Os animais foram divididos em dois grupos: grupo estudo, *joelho direito*, côndilos medial e lateral, os defeitos produzidos foram preenchidos com GBPCA; e grupo controle, *joelho esquerdo*, côndilos medial e lateral, os defeitos produzidos foram deixados sem preenchimento. Os animais foram seguidos com observação clínica e sem restrições de mobilização. Não foi diagnosticado nenhum quadro de infecção.

Os coelhos foram sacrificados após o ato cirúrgico nos períodos de 90 dias (seis coelhos), 120 dias (cinco coelhos) e 180 dias (cinco coelhos), seguindo-se a ressecção das peças anatômicas e imersão em solução de Bouin para posterior processamento histológico.

Análise Histológica

Foram feitos cortes com micrótomo ao longo do eixo sagital do fêmur distal de 4 a 7 μ m, sendo corados com hematoxilina-eosina e tricrômio de Masson e utilizado o microscópio óptico Opton[®] com aumento de 100x e 400x para análise qualitativa e quantitativa da celularidade nos cortes histológicos correspondentes a cada animal de ambos os grupos, estudo e controle.

Análise Morfométrica

Para cada lâmina analisada foram estudados 5 campos aleatórios, com aumento de 400x, no total de 20 campos por grupo estudado. As fotografias foram obtidas através de uma

câmera fotográfica Moticam 1000[®] acoplada ao microscópio óptico Opton[®] e armazenadas no *software* analisador de imagens - Motic Images Plus[®].

Após a obtenção das fotografias foi realizado o estudo morfométrico, avaliando-se a densidade de células gigantes em cada campo, seguido da contagem automática através do aplicativo Mesurin_Pro[®]. A densidade foi definida como o número de células por área em μm^2 . As médias das densidades de cada corte histológico foram tomadas para estudo estatístico, tipo comparativo.

Análise Estatística

Para a análise estatística foi quantificado o número de células gigantes presentes em cada campo microscópico dos cortes histológicos obtidos nos períodos de 90, 120 e 180 dias dos animais do grupo estudo. Calculou-se a média, mediana e desvio padrão e aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre as médias encontradas nos períodos referidos. A análise estatística do material foi realizada considerando o nível de significância de 5%, $p < 0,05$.

RESULTADOS

O resultado da contagem do número de células gigantes em cada campo microscópico dos cortes histológicos obtidos nos períodos de 90, 120 e 180 dias dos animais dos grupos estudo encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados da contagem do número de células gigantes presentes nos grupos estudo e testes de comparação de média nos períodos de 90, 120 e 180 dias

Períodos (dias)	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	Desvio Padrão	IC (95%)	valor de p
90	2	10	5,65	6,00	2,13	4,65 – 6,65	0,771
120	1	10	5,75	6,50	2,79	4,44 – 7,06	
180	0	10	5,05	4,50	2,68	3,79 – 6,31	
Total	0	10	5,48	5,50	2,53	4,83 – 6,14	-

Valor de p do Teste de Kruskal-Wallis

A análise histológica foi realizada por método qualitativo, sendo avaliadas as variáveis relacionadas à natureza do tecido de reparação.

Resultados das análises histológicas do grupo estudo após 90 dias.

Na Figura 1, encontra-se reação inflamatória crônica tipo corpo estranho contornando o GBPCA. Os elementos celulares predominantes foram monócitos/macrófagos, linfócitos, células gigantes inflamatórias e, em menor proporção, neutrófilos. Além desta composição celular, observou-se células gigantes, reação tipo corpo estranho, vistas em contato com o GBPCA implantado.

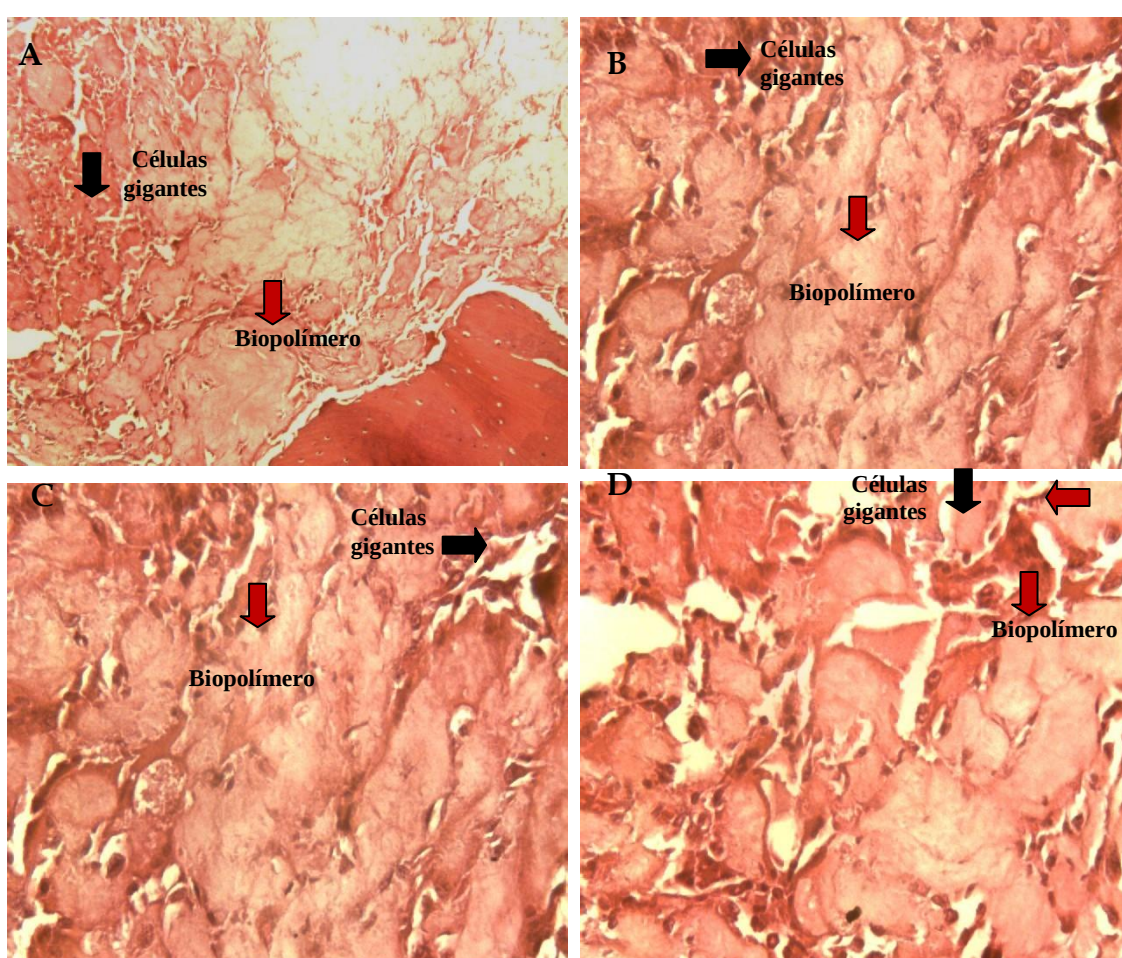


Figura 1 – Fotomicografias de corte histológico do grupo estudo 90 dias após a realização dos defeitos. A, B, C e D) Biopolímero e células gigantes. Observar presença de maior quantidade do GBPCA no compartimento extra-celular

Resultados das análises histológicas do grupo controle após 90 dias

Na Figura 2, observa-se reação fibrosa intensa, com vasos e fechamento completo da lesão, sem presença de células características de processo inflamatório.

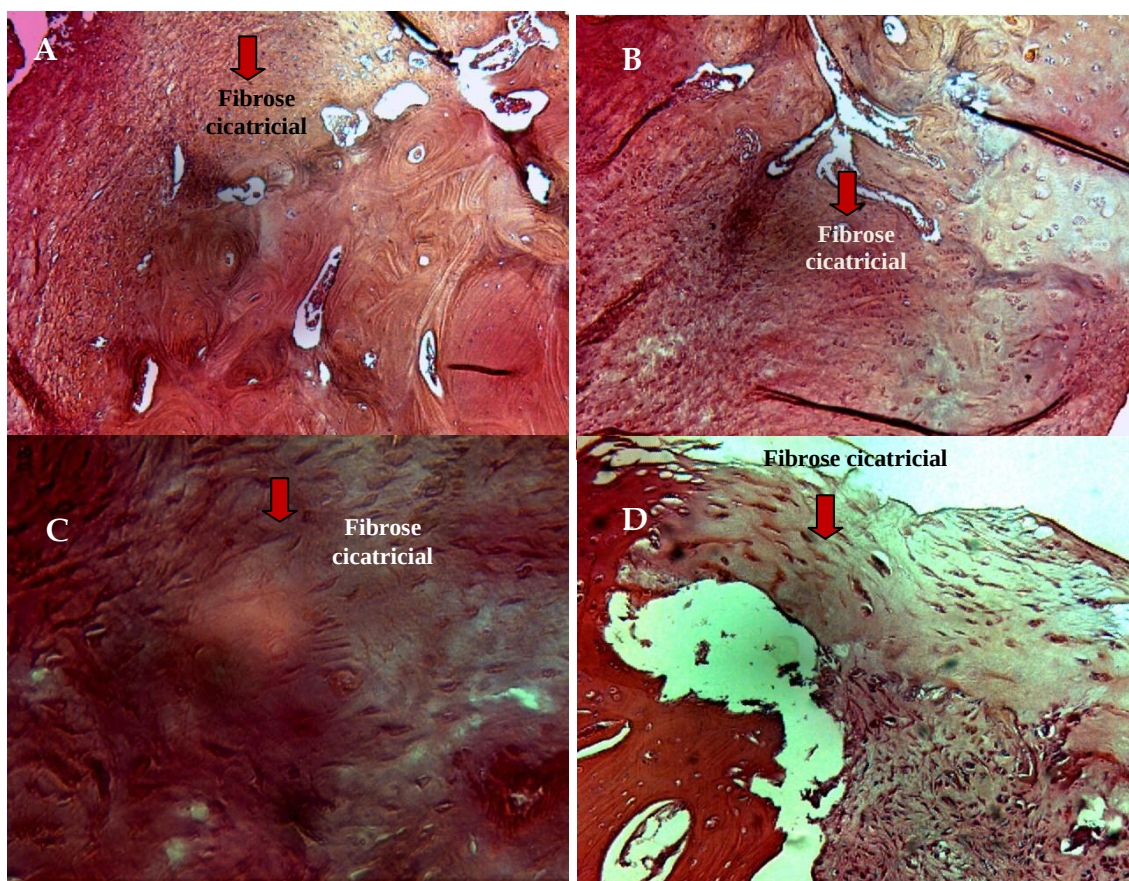


Figura 2 – Fotomicografia de corte histológico do grupo controle 90 dias após a realização dos defeitos. A, B, C e D) Fibrose cicatricial. Observar proliferação de fibroblastos no defeito produzido

Resultados das análises histológicas do grupo estudo após 120 dias

Na Figura 3, observa-se reação inflamatória crônica tipo corpo estranho contornando o GBPCA. Os elementos celulares predominantes são monócitos, macrófagos, linfócitos, células gigantes e, em menor proporção, neutrófilos. Além desta composição celular, presença de GBPCA fagocitado por células gigantes.

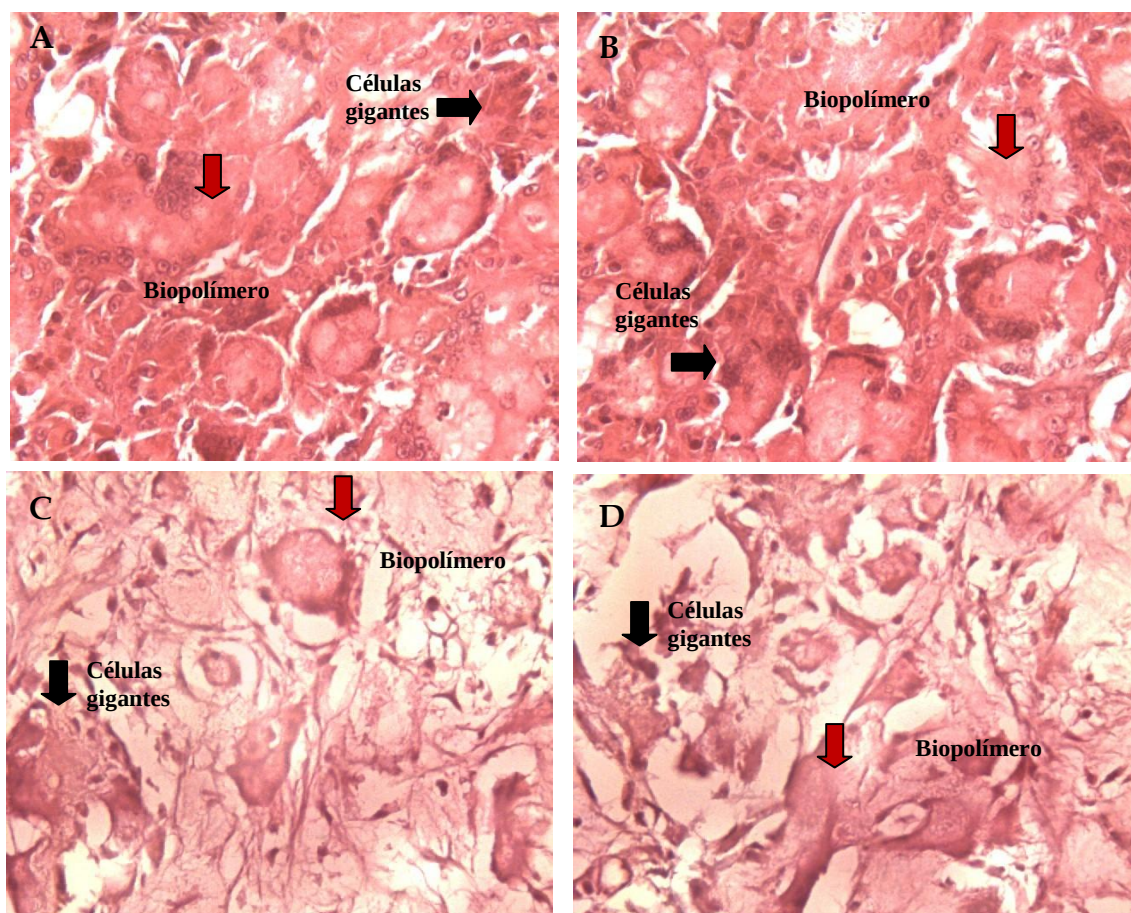


Figura 3 – Fotomicografias de corte histológico do grupo estudo 120 dias após a realização dos defeitos. A, B, C e D) Observar células gigantes com GBPCA no seu interior

Resultados das análises histológicas do grupo controle após 120 dias.

Na Figura 4, encontra-se reação fibrosa intensa, com vasos e fechamento do defeito, sem presença de células características de processo inflamatório.

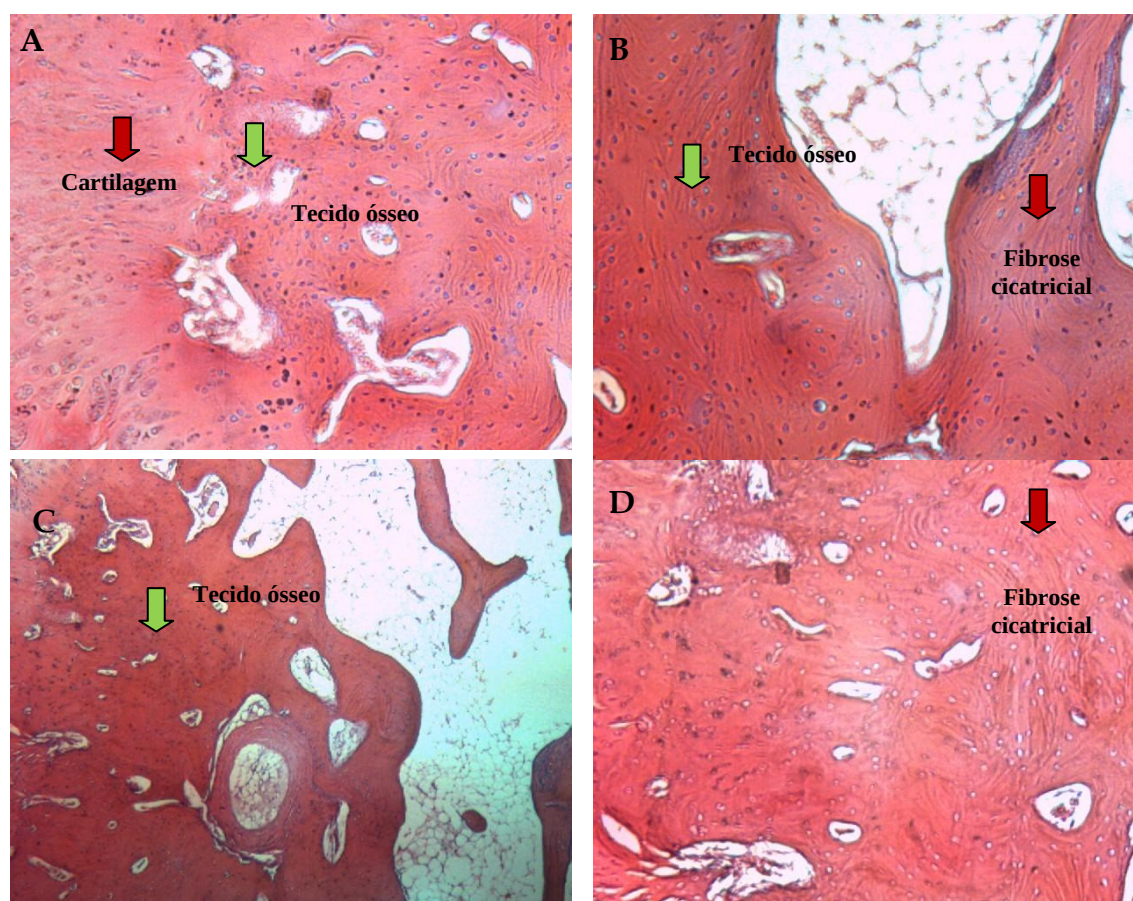


Figura 4 — Fotomicrografias de corte histológico do grupo controle 120 dias após a realização dos defeitos. A, B, C e D) Observar fibrose cicatricial no defeito produzido

Resultados das análises histológicas do grupo estudo após 180 dias.

Na Figura 5, observa-se presença de células gigantes, reação tipo corpo estranho, com o GBPCA implantado. As células gigantes repousam sobre a estrutura fibrovascular, caracterizando um granuloma.

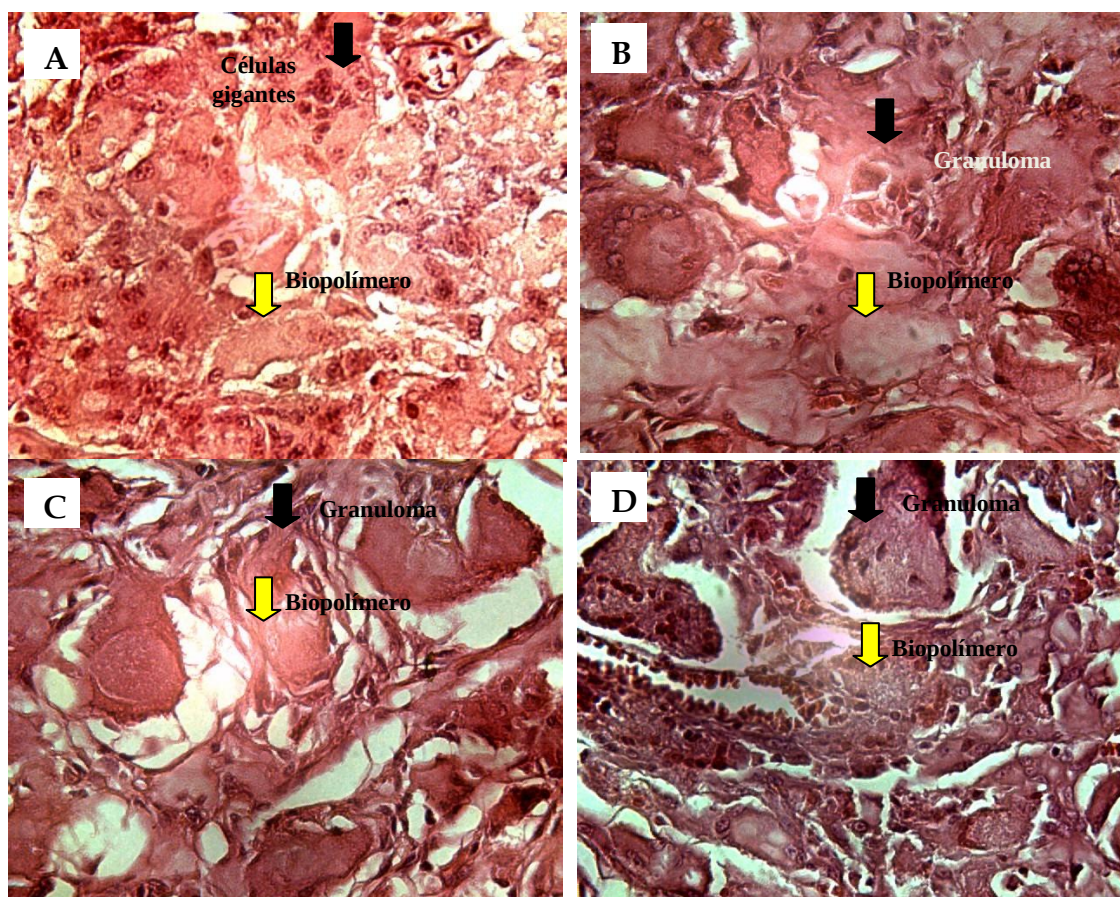


Figura 5 – Fotomicrografias de corte histológico do grupo estudo 180 dias após a realização dos defeitos. A, B, C e D) Observar presença do GBPCA no interior das células gigantes e formação de um granuloma

Resultados das análises histológicas do grupo controle após 180 dias.

Na Figura 6, nota-se reação fibrosa intensa, com vasos, caracterizando uma reação cicatricial com fechamento completo da lesão produzida.

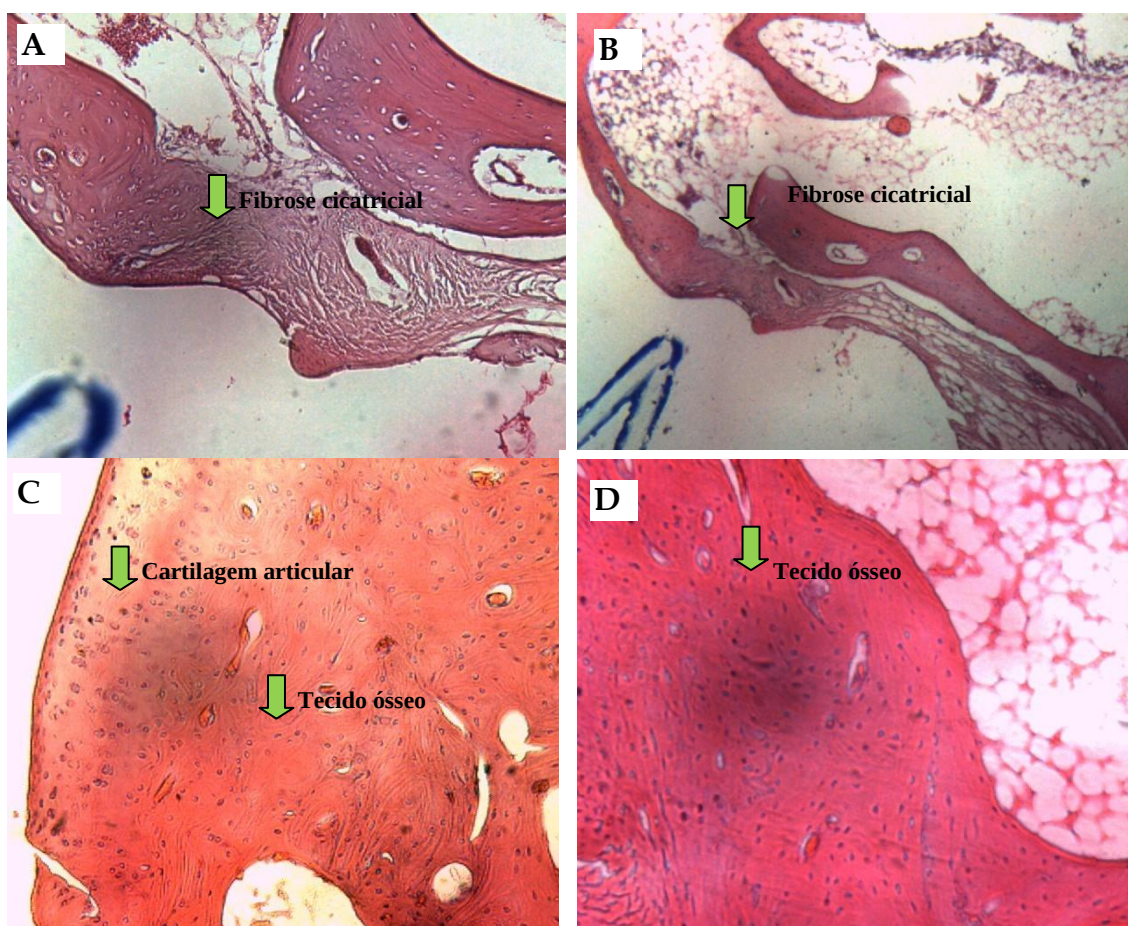


Figura 6 – Fotomicrografias de corte histológico do grupo controle 180 dias após a realização dos defeitos. A, B, C e D) Observar fibrose cicatricial no defeito produzido, tecido ósseo e cartilagem articular

DISCUSSÃO

Estudos recentes em tecidos osteocondrais demonstram reação inflamatória mediada por células gigantes decorrentes do uso de biopolímero no preenchimento dos defeitos por esse material, verificando-se a resolução da inflamação e a formação de um tecido de granulação, no qual se identifica macrófago, fibroblasto e neovascularização ^(21,41-45).

No estudo em questão, o biopolímero da cana-de-açúcar é classificado como um biomaterial natural derivado de uma bactéria. Os resultados não demonstraram presença de

linfócitos T (reação imunológica) e também não apresentaram destruição celular, mesmo tendo apresentado reação mediada por células gigantes.

Essa reação inflamatória é frequentemente encontrada no tecido ósseo e cartilaginoso, onde existem concentração de células progenitoras, monócitos, macrófagos e células gigantes, principalmente quando do uso de biopolímeros sintéticos e naturais. A cicatrização demonstrou formação de um tecido de granulação neovascularizado, que corresponde à fase final do processo^(5,10,26,41-45). A evolução vai depender se o biopolímero implantado irá atuar apenas como corpo estranho ou irá atuar também como material imunogênico. No primeiro caso, haverá formação de uma cápsula fibrosa contornando o material, isolando-o do organismo. No segundo, haverá intensificação da reação inflamatória e rejeição do material.

Na análise dos resultados encontrados, ocorreu a formação de granulomas tipo corpo estranho nos períodos de 120 e 180 dias. Tal persistência leva-se a crer que existe um pico de reação inflamatória com posterior declínio após a cicatrização do defeito, uma vez que nas preparações histológicas não mostraram halo imunogênico na vizinhança. Além do mais, uma reação inflamatória aguda, associada à presença de um biopolímero implantado, é desencadeada em qualquer situação que exija cicatrização⁽⁴¹⁻⁴⁵⁾.

Constatou-se que a maior média do número de células gigantes foi observada no grupo estudo de 120 dias (5,75) e a menor no de 180 dias (5,05). Além disso, a maior mediana também foi encontrada no grupo estudo de 120 dias. O maior desvio padrão foi observado no grupo de 120 dias, indicando que este é o que possui maior dispersão no número de células gigantes. Mesmo após observar essas diferenças nas médias do número de células gigantes nos três períodos estudados, o teste de comparação de médias não se apresentou significativo.

O teste estatístico de Kruskal-Wallis é adequado para amostras pequenas e quando a distribuição da variável em estudo não segue o padrão da normalidade⁽⁴⁶⁾. Esse teste demonstrou que não houve diferença no número de células gigantes encontrados nos períodos de 90, 120 e 180 dias, sugerindo uma não progressão do processo inflamatório.

O emprego de biomateriais, tais como os polímeros biodegradáveis e os bioabsorvíveis, tem papel crescente no arsenal terapêutico médico. Alguns critérios devem ser obedecidos para implantar um biomaterial no corpo humano. Entre eles: serem atóxicos, velocidade adequada de absorção, baixa resposta imunológica, carcinogênica e

trombogênica⁽⁴⁷⁾. Até então, considera-se que não existe um material totalmente satisfatório para o preenchimento de defeitos osteocondrais.

CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que a aplicação do gel de biopolímero da cana-de-açúcar no preenchimento dos defeitos osteocondrais produzidos nos côndilos femorais de coelhos provocou no grupo estudo uma reação inflamatória mediada por células gigantes, enquanto no grupo controle, onde o defeito não foi preenchido e deixado à cicatrização natural, ocorreu reação tipo fibrose cicatricial, sem a presença de células características do processo inflamatório.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Departamento de Informática do SUS. 2008; Available from: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=02>.
2. Portal de Biomateriais. História dos biomateriais. 2008; Available from: http://www.biomateriais.com.br/telas/artigos/artigos.asp?id_artigo=56&id_assunto=1.
3. Williams DF, editor. Definitions in biomaterials, proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials. Chester, England: Elsevier; 1987.
4. Malmonge SM, Zavaglia CAC. Hidrogéis de Poliheivía para reparo de defeitos da cartilagem articular. Síntese e caracterização mecânica. Polímeros: Ciência e Tecnologia. 2004; 14:176-80.
5. Anderson JM, Rodrigues A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. Semin Immunol. 2008; 20:86-100.
6. Lu L, Currier BL, Yaszemski J. Synthetic bone substitutes. Curr Opin Orthop. 2000; 11:383-90.
7. Glowacki J, Mizuno S. Biomaterials in cartilage and bone tissue engineering. Curr Opin Orthop. 2000; 15:347-54.
8. Hench, L. & Polak, J. Third generation biomedical materials. Science. 2002; 295, 1014–1017.
9. Navarro M, Michiardi A, Castanõ O, Planell JA. Biomaterials in orthopaedics. J R Soc Interface. 2008; 5:1137–58.
10. Steigman SA, Fauza DO, editors. Autologous approaches to tissue engineering. In: StemBook [Internet]. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2008 Aug 31.
11. Johnson LL, Verioti C, Gelber J, Spector M, D'Lima D, Pittsley A. The pathology of the end-stage osteoarthritic lesion of the knee: Potential role in cartilage repair. Knee. 2010 Oct 7. (Epub ahead of print)
12. Flanigan DC, Harris JD, Brockmeier PM, Siston RA. The effects of lesion size and location on subchondral bone contact in experimental knee articular cartilage defects in a bovine model. Arthroscopy. 2010 Oct 8. [Epub ahead of print].
13. Ferreira BM, Steffen AM, Cardoso TP, Alberto-Rincon MC, Duek EAR. Haste intramedular polimérica bioreabsorvível (PLLA/PHBV) para uso na recuperação de fraturas ósseas. Poli Cienc Tecnol. 2008; 18:312-9.
14. Beedle MP, Kennedy JF, Melo FAD, LloydLL, Medeiros VA. Cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a Zooglea sp, Carbohydrate Polymers 2000; 42,375-383.
15. Aguiar J, Lins E, Marques S, Coelho A, Rossiter R, Melo R. Sugarcane biopolymer patch in femoral artery angioplasty in dogs. Acta Cir Bras. 2007; 22(Supl. 1):77-81.

16. Marques SRB, Lins EM, Aguiar JLA, Albuquerque MCS, Rossiter RO, Montenegro LT, Vieira RJ. Um novo substituto vascular: arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar – avaliação hemodinâmica e histológica. *J Vasc Bras*. 2007; 6:309-15.
17. Akagawa Y, Kubo T, Karetake K, Hayashi K, Doi K, Matsuura A, et al. Initial bone regeneration around fenestrated implants in Beagle dogs using basic fibroblast growth factor–gelatin hydrogel complex with varying biodegradation rates. *J Prosthodont Res* 2009; 53:41–7.
18. Coelho MCOC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota R, Tenório Filho F. Biopolímero Produzido a partir de Cana de Açúcar para Cicatrização Cutânea. *Acta Cirur Bras*. 2002; 17: 1-7.
19. Van de Velde K. and Kiekens P. Effect of material and process parameters on the mechanical properties of unidirectional and multidirectional flax polypropylene composites. *Comp Struc*. 2003. 62: p. 443- 8.
20. Castro C, Aguiar J, Melo F, Silva W, Marques E, Silva D. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. *An Fac Med Univ Fed Pernamb*. 2004; 49:119-23.
21. Silva D, Aguiar J, Marques A, Coelho A, Rolim Filho E. Miringoplastia com enxerto livre de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar e fascia autóloga em Chinchilla laniger. *An Fac Med Univ Fed Pernamb*. 2006; 51:45-51.
22. Tran RT, Thevenot P, Zhang Y, Gyawali D, Tang L, Yang J. Scaffold Sheet Design Strategy for Soft Tissue Engineering. *Nat Mater*. 2010;3:1375-89.
23. Chatterjea A, Meijer G, van Blitterswijk C, de Boer J. Clinical application of human mesenchymal stromal cells for bone tissue engineering. *Stem Cells Int*. 2010; 215625.
24. Amiel D, Coutts D, Abel M, Stewart W, Harwood F, Akeson W.H., Jolla LA, Rib Perichondrial Graft for Repair of Full-Thickness Articular-Cartilage Defects, *J. Bone Joint Surg*. 1985; 67-A:911-20.
25. Peterson L. Autologous chondrocyte transplantation: 2-10 year follow-up in 219 patients. *Proceedings of the 65th Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. New Orleans: Am Acad Orthop Surg; 1998.
26. Martin-Hernandez C, Cebamanos-Celma J, Molina-Ros A, Ballester-Jimenez JJ, Ballester-Soleda J. Regenerated cartilage produced by autogenous periosteal grafts: a histologic and mechanical study in rabbits under the influence of continuous passive motion. *Arthroscopy*. 2010; 26:76-83.
27. Willerth SM, Sakiyama-Elbert SE. Combining stem cells and biomaterial scaffolds for constructing tissues and cell delivery. *StemBook* [Internet]. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2008-2008 Jul 9.
28. Calderon L, Collin E, Velasco-Bayon D, Murphy M, O'Halloran D, Pandit A. Type II collagen-hyaluronan hydrogel - a step towards a scaffold for intervertebral disc tissue engineering. *Eur Cell Mater*. 2010; 20:134-48.
29. Anbio. Associação Nacional de Biossegurança. Disponível em: <www.anbio.org.br/> Acesso em: 04 dez 2010.
30. Kuo CK, Marturano JE, Tuan RS. Novel strategies in tendon and ligament tissue engineering: Advanced biomaterials and regeneration motifs. *Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol*. 2010; 2:20.
31. Czaja W, Krystynowicz A, Bieleckia S, Malcolm RB. *J Biomaterials*. 2006; 27:145-51
32. Brittberg M. Autologous chondrocyte implantation - Technique and long-term follow-up. *Injury*. 2008; 39:40-49
33. Kulkarni RK, Moore EG, Hegyeli AF, Leonard F. Biodegradable poly(lactic acid) polymers. *J Biomed Mater Res*. 1971; 5:169-81.
34. Schipani E, Kronenberg HM. [Adult mesenchymal stem cells](#). *StemBook* [Internet]. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2008-.2009 Jan 31.
35. Eshghi S, Schaffer DV. Engineering microenvironments to control stem cell fate and function. *StemBook* [Internet]. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2008-2008 Sep 11.



36. Menon LG, Shi VJ, Carroll RS. Mesenchymal stromal cells as a drug delivery system. StemBook [Internet]. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2008-2009 Jan 15.
37. Sakata MM, Alberto-Rincon MC, Duek EAR. Estudo da interação polímero/cartilagem/osso utilizando poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) e poli (p-dioxanona) em cômulo femoral de coelhos. Polímeros. 2004; 14:176-80.
38. Ikeda R, Fujioka H, Nagura I, Kokubu T, Toyokawa N, Inui A, Makino T, Kaneko H, Doita M, Kurosaka M. The effect of porosity and mechanical property of a synthetic polymer scaffold on repair of osteochondral defects. Int Orthop. 2009; 33:821-8.
39. Glowacki J, Mizuno S. Biomaterials in cartilage and bone tissue engineering. Curr Opin Orthop. 2004; 15:347-45.
40. Carlo EC, Borges APB, Pompermayer LG, Martinez MM, Eleotério RB, Nehme RC, Morato GO. Compósito para fabricação de implantes reabsorvíveis para osteossíntese: avaliação da biocompatibilidade em coelhos. Cienc. Rural. 2009; 39:135-40.
41. Sassioto MCP, Cardoso Filho N, Facco GG, Sodrés ST, Neves N, Purisco SU. et al. Efeito da *Casearia sylvestris* no reparo ósseo com matriz óssea bovina desvitalizada em ratos. Acta Cir Bras. 2004; 19:637-41.
42. Mendes PRS, Bins-Ely J, Lima EAS, Vasconcellos ZAA, d'Acampora AJ, Neves RE. Histological study on acute inflammatory reaction to polyurethane-coated silicone implants in rats. Acta Cir. Bras. 2008; 23:93-101.
43. Anderson. M J. Foreign Body reaction to biomaterial, Semin Immunol.2008, 20: 86-100.
44. Fowler DE 3rd, Hart JM, Hart JA, Miller MD.) J.Knee Surg. 2009 Oct;22(4):372-4. Responses in vivo to purified poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) implanted in a murine tibial defect model. J Biomed Mater Res A. 2009; 91:845-54.
45. Emans PJ, Van Rhijn LW, Welting TJM, Cremers A, Wijnands N, Spaapen F, Voncken JW, Shastri VP. Autologous engineering of cartilage. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 February 23; 107: 3418–3423.
46. Arango HG. Bioestatística: teórica e computacional. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
47. Cardoso TP, Duek EAR, AmatuZZi MM, Caetano EB. Prótese meniscal de polímero bioabsorvível: Estudo em coelhos. Ver.Bras. Ortop.,45(3):247-259.



Anexos

**Anexo A**

Tabela de dados colhida das 16 amostras. Análise Macroscópica dos defeitos produzidos avaliando a superfície, coloração, consistência, continuidade e cicatrização do defeito

JOELHO DIREITO CONDILO DIREITO			JOELHO ESQUERDO CONDILO DIREITO			JOELHO DIREITO CONDILO ESQUERDO		
SUPERFÍCIE		%	SUPERFÍCIE		%	SUPERFÍCIE		%
PLANA	10	62,50%	9	56%		PLANA	10	62,50%
DEPRESSÃO	6	37,50%	6	38%		DEPRESSÃO	4	25,00%
DEGENERAÇÃO	0	0,00%	1	6%		DEGENERAÇÃO	2	12,50%
COLORAÇÃO						COLORAÇÃO		
TRANSLÚCIDA	3	18,75%	4	25%		TRANSLÚCIDA	2	12,50%
OPACA	3	18,75%	1	6%		OPACA	3	18,75%
DESCOLORAÇÃO	10	62,50%	11	69%		DESCOLORAÇÃO	11	68,75%
EROSÃO (CONTINUIDADE)						EROSÃO (CONTINUIDADE)		
NENHUMA	7	43,75%	8	50%		NENHUMA	5	31,25%
SOMENTE DO DEFEITO	8	50,00%	5	31%		SOMENTE DO DEFEITO	10	62,50%
DEFEITO E CARTILAGEM	1	6,25%	3	19%		DEFEITO E CARTILAGEM	1	6,25%
CONSISTÊNCIA						CONSISTÊNCIA		
FIRME	16	100,00%	16	100%		FIRME	15	93,75%
NÃO FIRME	0	0,00%	0	0%		NÃO FIRME	1	6,25%
CICATRIZAÇÃO DO DEFEITO						CICATRIZAÇÃO DO DEFEITO		
SIM - TOTAL	8	50,00%	9	56%		SIM - TOTAL	6	37,50%
SIM - PARCIAL	0	0,00%	0	0%		SIM - PARCIAL	1	6,25%
75%	3	18,75%	2	13%		75%	3	18,75%
50%	1	6,25%	3	19%		50%	1	6,25%
25%	0	0,00%	2	13%		25%	1	6,25%
0%	4	25,00%	0	0%		0%	4	25,00%
COELHOS 90 DIAS 6/7/8/13/19			COELHOS 90 DIAS 6/7/8/13/19			COELHOS 90 DIAS 6/7/8/13/19		
JOELHO DIREITO / CONDILO DIREITO			JOELHO DIREITO / CONDILO ESQUERDO			JOELHO ESQUERDO / CONDILO DIREITO		
SUPERFÍCIE		%	SUPERFÍCIE		%	SUPERFÍCIE		%
PLANA	3	60%	4	80%		PLANA	2	40%
DEPRESSÃO	2	40%	1	20%		DEPRESSÃO	2	40%
DEGENERAÇÃO	0	0%	0	0%		DEGENERAÇÃO	1	20%
COLORAÇÃO						COLORAÇÃO		
TRANSLÚCIDA	0	0%	0	0%		TRANSLÚCIDA	2	40%
OPACA	2	40%	1	20%		OPACA	1	20%
DESCOLORAÇÃO	3	60%	4	80%		DESCOLORAÇÃO	2	40%
EROSÃO (CONTINUIDADE)						EROSÃO (CONTINUIDADE)		
NENHUMA	1	20%	2	40%		NENHUMA	1	20%
SOMENTE DO DEFEITO	4	80%	3	60%		SOMENTE DO DEFEITO	2	40%
DEFEITO E CARTILAGEM	0	0%	0	0%		DEFEITO E CARTILAGEM	2	40%
CONSISTÊNCIA						CONSISTÊNCIA		
FIRME	5	100%	5	100%		FIRME	5	100%
NÃO FIRME	0	0%	0	0%		NÃO FIRME	0	0%
CICATRIZAÇÃO DO DEFEITO						CICATRIZAÇÃO DO DEFEITO		
SIM - TOTAL	2	40%	2	40%		SIM - TOTAL	2	40%
SIM - PARCIAL	0	0%	0	0%		SIM - PARCIAL	0	0%
75%	1	20%	1	20%		75%	1	20%
50%	0	0%	1	20%		50%	2	40%
25%	0	0%	0	0%		25%	0	0%
0%	2	40%	1	20%		0%	0	0%
COELHOS 120 DIAS 1/2/3/4/5			COELHOS 120 DIAS 1/2/3/4/5			COELHOS 120 DIAS 1/2/3/4/5		
JOELHO DIREITO / CONDILO DIREITO			JOELHO DIREITO / CONDILO ESQUERDO			JOELHO ESQUERDO / CONDILO DIREITO		
SUPERFÍCIE		%	SUPERFÍCIE		%	SUPERFÍCIE		%
PLANA	3	60%	3	60%		PLANA	2	40%
DEPRESSÃO	2	40%	2	40%		DEPRESSÃO	3	60%
DEGENERAÇÃO	0	0%	0	0%		DEGENERAÇÃO	0	0%
COLORAÇÃO						COLORAÇÃO		
TRANSLÚCIDA	2	40%	2	40%		TRANSLÚCIDA	2	40%
OPACA	0	0%	0	0%		OPACA	0	0%
DESCOLORAÇÃO	3	60%	3	60%		DESCOLORAÇÃO	3	60%
EROSÃO (CONTINUIDADE)						EROSÃO (CONTINUIDADE)		
NENHUMA	3	60%	0	0%		NENHUMA	2	40%
SOMENTE DO DEFEITO	2	40%	5	100%		SOMENTE DO DEFEITO	3	60%
DEFEITO E CARTILAGEM	0	0%	0	0%		DEFEITO E CARTILAGEM	0	0%
CONSISTÊNCIA						CONSISTÊNCIA		
FIRME	5	100%	5	100%		FIRME	5	100%
NÃO FIRME	0	0%	0	0%		NÃO FIRME	0	0%
CICATRIZAÇÃO DO DEFEITO						CICATRIZAÇÃO DO DEFEITO		
SIM - TOTAL	3	60%	1	20%		SIM - TOTAL	2	40%
SIM - PARCIAL	0	0%	1	20%		SIM - PARCIAL	0	0%
75%	0	0%	2	40%		75%	1	20%
50%	0	0%	0	0%		50%	1	20%
25%	0	0%	1	20%		25%	1	20%
0%	2	40%	0	0%		0%	0	0%

Anexo B

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 / 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Ofício nº 011/06 Recife, 11 de abril de 2006

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Prof. Paulo Cezar Vidal Carneiro de Albuquerque**
Departamento de Cirurgia - UFPE

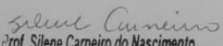
Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram a resposta de V. Sa. referente ao primeiro parecer da CEEA sobre o projeto de pesquisa intitulado **"Estudo Macroscópico e histológico de reparação das lesões cartilaginosas em coelhos utilizando biopolímero de cana de açúcar"**.

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,


Prof. Silene Carneiro do Nascimento
 Presidente CEEA

CCB: Integrar para desenvolver

Anexo C

I ENCONTRO DE PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

5 a 9 de outubro de 2009
Colégio Brasileiro de Cirurgiões - Rio de Janeiro



PROGRAMA FINAL E ANAIS

TL132

GEL DE BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR NO PROCESSO DE REPARAÇÃO DOS DEFEITOS OSTEOCONDRAIS EM JOELHOS DE COELHOS.

José Lamartine de Andrade Aguiar, Paulo Cezar Vidal C. de Albuquerque, Saulo Monteiro dos Santos, Nicodemus Pontes Filho, Clarissa Miranda C. de Albuquerque.
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Resumo do trabalho:

Objetivo: Avaliar o efeito do gel de biopolímero de cana-de-açúcar no processo de reparação das lesões osteocondrais, analisando a superfície, coloração, continuidade e sua consistência. **Materiais e métodos:** Foram estudados 16 coelhos, adultos jovens da raça Nova Zelândia, com 6 e 7 meses de idade, peso variando entre 2 a 2,5 kg, sem alterações no aparelho locomotor. Em todos os animais foram feitos um defeito de 3,2 mm de diâmetro por 4 mm de profundidade no côndilo femoral dos joelhos direito e esquerdo. O joelho direito foi tratado com gel de BPCA, enquanto que joelho esquerdo não foi tratado e deixado para cicatrização natural. Os coelhos foram divididos em três subgrupos, de pelo menos cinco animais e estudada a cicatrização, respectivamente, aos 90, 120 e 180 dias de pós-operatório. Nestas datas, após eutanásia, procedeu-se a ressecção das peças anatômicas que foram postas em solução de Bouin's (DeCal), para análise macroscópica. O aspecto macroscópico das lesões foi avaliado por meio de lupa estereoscópica Nikon SM 2800 e fotografado com câmera Nikon Coolpix 5400. Avaliou-se a superfície da cicatriz de acordo com coloração e defeitos como superfície plana, desnivelada e irregular.

Resultados: Os resultados obtidos foram avaliados pelo teste do qui-quadrado. Não houve diferença significativa da avaliação macroscópica da cicatrização entre os grupos tratados com BPCA e o controle.

Conclusão: O BPCA pode ser utilizado no tratamento de lesões da cartilagem articular, por ser um tecido firme, com características elásticas, facilitando a aposição e fixação no processo de cicatrização da cartilagem.

Anexo D

Certificados de trabalhos apresentados em Congressos





40º Congresso Brasileiro de Ortopedia e Traumatologia
Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia
Sociedade de Ortopedia e Traumatologia do Rio Grande do Sul

Certificamos que o trabalho intitulado **ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS ÁREAS CICATRIZADAS DE LESÕES PRODUZIDAS EM JOELHOS DE COELHOS, REPARADAS OU NÃO COM BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR** com a autoria de PAULO CEZAR VIDAL C. DE ALBUQUERQUE, JOSÉ LAMARTINE AGUIAR, CLARISSA MIRANDA C. DE ALBUQUERQUE, NICODEMUS PONTES, TARCIANA MENDONÇA, JOACIL CARLOS DA SILVA, foi apresentado como Tema Livre no **40º CBOT - Congresso Brasileiro de Ortopedia e Traumatologia**, no período de 12 a 15 de novembro de 2008, no Centro de Eventos FIERGS, em Porto Alegre-RS.

OR-066

Carga horária do Congresso: 40 horas

Porto Alegre/RS, 15 de novembro de 2008.

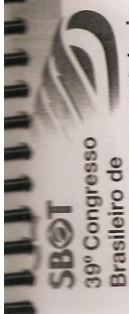

Tarcísio E. P. Barros
Presidente da SBOT


Osvaldo Lech
Presidente do 40º CBOTchê


Gilberto Camanho
Presidente da Comissão Científica


Túlio Diniz Fernandes
Pres. Comissão de Educação Continuada





SBOT
39º Congresso Brasileiro de Ortopedia e Traumatologia
14 a 17 de novembro de 2007
Transamérica Expo Center • São Paulo • Brasil

39º CONGRESSO BRASILEIRO DE ORTOPEdia E TRAUMATOLOGIA
14 a 17 de novembro de 2007 - Transamérica Expo Center - São Paulo - Brasil

Certificado

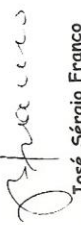
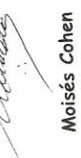
OR-082

Certificamos que o trabalho TRATAMENTO DAS LESÕES CONDRAIS PRODUZIDAS EM JOELHOS DE COELHOS COM GEL DE BIOPOLÍMERODE CANA DE AÇÚCAR

Participou do 39º Congresso Brasileiro de Ortopedia e Traumatologia, realizado em São Paulo, de 14 a 17 de novembro de 2007, na qualidade de **APRESENTAÇÃO ORAL**

Autores: PAULO CEZAR VIDAL C. DE ALBUQUERQUE; CLARISSA MIRANDA C. DE ALBUQUERQUE; JOSÉ LAMARTINE AGUIAR; TARCIANA MENDONÇA; SAULO MONTEIRO DOS SANTOS; HUMBERTO PAULO C. DE ALBUQUERQUE

São Paulo, 17 de novembro de 2007

 Marcos Esner Musafir 40º Presidente da SBOT Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia	 Walter Manna Albertoni Presidente do 39º CBOT Congresso Brasileiro de Ortopedia e Traumatologia	 José Sérgio Franco Presidente da Comissão Científica	 Moisés Cohen Presidente da Comissão de Educação Continuada
---	---	--	---

Realização **SBOT**
SOCIETATE BRASILEIRA DE ORTOPEdia E TRAUMATOLOGIA

Carga horária do Congresso: 40 horas

