



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS MÉDICO-
CIRÚRGICAS**

AMANDA PROGENIO DOS SANTOS

**ESTUDO ANATÔMICO DO LIGAMENTO MENISCOTIBIAL MEDIAL DO
JOELHO: ANÁLISE HISTOLÓGICA DA ESTRUTURA DE COLÁGENO E
VASCULARIZAÇÃO.**

FORTALEZA

2024

AMANDA PROGENIO DOS SANTOS

ESTUDO ANATÔMICO DO LIGAMENTO MENISCOTIBIAL MEDIAL DO JOELHO:
ANÁLISE HISTOLÓGICA DA ESTRUTURA DE COLÁGENO E VASCULARIZAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médico-cirúrgicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra. em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Área de concentração: Metabolismo, Fisiologia e Biologia Celular no Estresse

Orientadora: Prof^ª. Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante
Coorientador: Prof. Dr. Jonatas Brito de Alencar Neto

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S233e Santos, Amanda Progênio dos.
Estudo anatômico do ligamento meniscotibial medial do joelho : Análise histológica da estrutura de colágeno e vascularização / Amanda Progênio dos Santos. – 2024.
72 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas, Fortaleza, 2024.
Orientação: Profa. Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante.
Coorientação: Prof. Dr. Jonatas Brito de Alencar Neto .
1. Ligamentos. 2. Meniscos Tibiais. 3. Colágeno. 4. Microvasos. 5. Imuno-Histoquímica. I. Título.
CDD 617
-

AMANDA PROGENIO DOS SANTOS

ESTUDO ANATÔMICO DOS LIGAMENTOS MENISCOTIBIAIS MEDIAIS DO
JOELHO: ANÁLISE HISTOLÓGICA DA ESTRUTURA DE COLÁGENO E
VASCULARIZAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médico-cirúrgicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra. em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Área de concentração: Metabolismo, Fisiologia e Biologia Celular no Estresse

Aprovada em: ____/____/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof.a. Dr^a. Maria Luzete Costa Cavalcante (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Jonatas Brito de Alencar Neto (Coorientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Diego Ariel de Lima
Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFRSA)

Prof. Dr^a. Conceição da Silva Martins Rebouças
Universidade Paulista (UNIP)

Prof. Dr João Alberto Ramos Maradei Pereira
Universidade Federal do Pará (UFPA)

Dedico este trabalho a Deus. Sem ele nada
seria possível

À toda minha família que esteve torcendo e incentivando cada passo dado, em especial meu esposo Yuri pela paciência e força, minha mãe Ana Silvana pelo exemplo de determinação e meu irmão Fred Jr por sempre me auxiliar a pensar “fora da caixa” e chegar mais longe.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico Cirúrgicas da Universidade Federal do Ceará pela oportunidade de realizar este sonho que é o mestrado.

À Prof. Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante, pela brilhante orientação, por me mostrar de maneira tão amável e grandiosa como sempre melhorar e superar as adversidades encontradas.

Ao Prof. Dr. Jonatas Brito de Alencar Neto por incentivar a busca pela excelência técnico-científica sempre de forma ética e admirável.

Ao Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva por acolher etapas essenciais da pesquisa e inúmeras contribuições para alcançar os objetivos propostos.

A todos os profissionais e colaboradores pela cordialidade, pelo auxílio em cada fase da pesquisa, pela paciência em me ensinar desde o básico em áreas quem eram totalmente novas para mim.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

A ruptura do Ligamento Cruzado Anterior (LCA) é a lesão ligamentar mais comum do joelho, quando associada à lesão do Ligamento Meniscotibial Medial (LMTM) observa-se maior instabilidade articular. Por conseguinte, atualmente recomenda-se o reparo do LMTM no mesmo tempo cirúrgico da reconstrução do LCA a fim de diminuir o risco de re-ruptura do LCA. Apesar do LMTM ter sido descrito macroscopicamente em disseções anatômicas, pouco se sabe sobre sua característica estrutural quanto as fibras de colágeno e microvascularização. O objetivo deste estudo é descrever a estrutura da matriz de colágeno e vascularização do LMTM a fim de contribuir para o refinamento da técnica cirúrgica de reparo dessas estruturas durante artroscopia e conseqüentemente levar a diminuição de falha. Foram coletados 12 LMTM provenientes de seis cadáveres frescos. Realizada aferição morfométrica macroscópica e análise histológica por meio de coloração de Hematoxilina e Eosina. A matriz de colágeno foi avaliada por meio de coloração Picrosirius red sob microscópio de luz polarizada e para análise da microvascularização foi utilizada técnica imuno-histoquímica com anticorpo comercial contra o antígeno endotelial CD31. Do total de amostras, 83,3% ligamentos provenientes de cadáveres do sexo masculino e 16,7% provenientes de cadáveres do sexo feminino. Na porção intrasubstancial do ligamento observaram-se fibras colágenas dispostas de maneira organizada e na porção de inserção meniscal, observou-se presença de tecido adiposo com aumento da celularidade local em relação à porção intrasubstancial. A análise da matriz de colágeno evidenciou uma relação de colágeno tipo I em relação ao tipo III de $3,86 (\pm 3,07)$. A média de densidade microvascular, na porção intrasubstancial foi de $33,71 \pm 8,7$ vasos/mm². e na porção de inserção junto ao menisco foi de $74,14 \pm 23,85$ vasos/mm². O LMTM é uma estrutura formada por fibras colágenas orientadas e paralelas, possuindo baixa celularidade na em sua porção intrasubstancial e com aumento desta celularidade próximo à inserção meniscal sobretudo pela maior presença de microvasos nesta região, com predominância de colágeno Tipo I em relação ao colágeno tipo III e densidade microvascular elevada em região de inserção meniscal, porém em região intrasubstancial a vascularização é escassa, impactando diretamente o potencial de cicatrização das lesões em rampa pois estas ocorrem nesta região.

Palavras-chave: Ligamentos; Meniscos Tibiais; Colágeno; Microvasos; Imuno-Histoquímica

ABSTRACT

Anterior cruciate ligament (ACL) rupture is the most common ligament injury of the knee. When associated with medial meniscotibial ligament (MMTL) injury, greater joint instability is observed. Therefore, MMTL repair is currently recommended at the same surgical time as ACL reconstruction to reduce the risk of ACL re-rupture. Although the MMTL has been described macroscopically in anatomical dissections, little is known about its structural characteristics in terms of collagen fibers and microvascularization. The objective of this study was to describe the collagen matrix structure and vascularization of the MMTL to contribute to the refinement of the surgical technique for repair of these structures during arthroscopy and consequently lead to a decrease in failure. Twelve MMTLs from six fresh cadavers were collected. Macroscopic morphometric measurements and histological analysis were performed using Hematoxylin and Eosin staining. The collagen matrix was evaluated using Picrosirius red staining under polarized light microscopy, and for microvascularization analysis, an immunohistochemical technique with a commercial antibody against the endothelial antigen CD31 was used. Of the total samples, 83.3% of the ligaments were from male cadavers and 16.7% from female cadavers. In the intrasubstancial portion of the ligament, collagen fibers were observed to be arranged in an organized manner, and in the meniscal insertion portion, the presence of adipose tissue was observed with increased local cellularity compared to the intrasubstancial portion. The analysis of the collagen matrix showed a type I to type III collagen ratio of 3.86 (± 3.07). The mean microvascular density in the intrasubstancial portion was 33.71 ± 8.7 vessels/mm² and in the meniscal insertion portion was 74.14 ± 23.85 vessels/mm². The MMTL is a structure formed by oriented and parallel collagen fibers, with low cellularity in its intrasubstancial portion and with increased cellularity near the meniscal insertion, especially due to the greater presence of microvessels in this region. Type I collagen predominates over type III collagen, and microvascular density is high in the meniscal insertion region. However, vascularization is scarce in the intrasubstancial region, directly impacting the healing potential of ramp lesions since these lesions occur in this region.

Keywords: Ligaments; Tibial Meniscus; Collagen; Microvessels; Immunohistochemistry

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas ligamentares do joelho dentre elas o Ligamento Cruzado Anterior.	20
Figura 2 – Lesão em rampa no menisco medial.	21
Figura 3 – Lesão do Ligamento Meniscotibial medial.	21
Figura 4 – Representação da região meniscocapsular do corno posterior do menisco medial e os 5 subtipos de lesão em rampa. Tipo 1, lesão completa da junção capsulosinovial; Tipo 2: Lesão superior parcial da zona vermelha; Tipo 3: Lesão inferior parcial da zona vermelha; Tipo 4: Lesão completa da zona vermelha; Tipo 5: Lesão completa dupla.	22
Figura 5 - Achados durante artroscopia por portal anterolateral do joelho em um paciente sem lesão do Ligamento Meniscotibial comparando a um caso com lesão; (A) Inspeção normal do menisco medial sem lesão do LMTM; (B) Presença de lesão do LMTM demonstrando elevação sinal da ascensão meniscal (“meniscal rise”) que ocorrem devido a lesão.	23
Figura 6 - Anatomia da região posteromedial do joelho evidenciando as estruturas inseridas no menisco medial.	24
Figura 7 - Diagrama ilustrando a anatomia de um corte sagital no corno posteromedial do joelho evidenciando a relação entre as estruturas dessa região com destaque para o ligamento meniscotibial medial.	25
Figura 8 – Corno posterior do menisco evidenciando a inserção do Ligamento Meniscotibial; (A) Visão sagital de uma dissecação cadavérica da anatomia do corno posterior do menisco medial, mostrando as inserções do ligamento meniscocapsular e meniscotibial à medida que se fundem para formar uma fixação comum; (B) Ilustração do corno posterior do menisco medial e fixação comum compartilhada dos ligamentos meniscocapsular e meniscotibial.	26
Figura 9 - Análise histológica por microscópio óptico do corno posterior do menisco medial evidenciando inserção do LMTM.	26

Figura 10 - Técnica para coleta das amostras; (A) Visualização medial do joelho demonstrando marcação cutânea do acesso para exérese do LMTM; (B) Acesso para exérese do LMTM evidenciando a camada muscular medial mais superficial do joelho.	34
Figura 11 - Técnica para coleta das amostras; (C) Acesso para exérese do LMTM evidenciando camada muscular intermediária do joelho; (D) Estruturas mais profundas mediais do joelho. Colateral tibial rebatido proximalmente, sendo possível visualização do menisco medial e LMTM (ainda inserido).	35
Figura 12 - Técnica para coleta das amostras; (E) LMTM rebatido proximalmente, evidenciando sua inserção no côndilo femoral medial; (F) Desinserção do LMTM do menisco medial e da sua inserção tibial.	35
Figura 13 - Procedimentos durante a coleta das amostras; (A) Ligamento imediatamente após a coleta, antes de ser realizada limpeza de partes moles; (B) Aferição da largura do LMTM ...	36
Figura 14 - Preparação das lâminas para coloração HE; (A) Desidratação progressiva em sequência de álcoois; (B) Amostra após inclusão em parafina; (C) Cortes realizados no sentido longitudinal da peça; (D) Amostras já cortadas imediatamente antes de serem alocadas na estufa; (E) Sequência de soluções para coloração de HE (F) Lâminas coradas em HE.	37
Figura 15 – Fotografia da tela computador durante uso do Software ImageJ para análise da matriz de colágeno.	39
Figura 16 - Análise da microvascularização por meio de imuno-histoquímica com CD31 utilizando software ImageJ; (A) Amostra em aumento 400x sob luz convencional; (B) Contagem de número de vasos; (C) Imagem submetida a função HDab (D) Imagem após ajuste de brilho e contraste; (E) Conversão para escala de cor 8-bit; (F) Imagem binarizada; (G) Análise realizada pelo software.	42
Figura 17 - Lâminas coradas em HE demonstrando organização do tecido conjuntivo.	44
Figura 18 –Análise histológica do Ligamento meniscotibial medial por meio de coloração de Hematoxilina e Eosina; (A) e (B) Inserção meniscal onde observa-se tecido adiposo e presença de vasos próximo a esse tecido; (C) e (D) Porção intrasubstancial do ligamento.	44

Figura 19 – Figura 18B em maior aumento evidenciando maior quantidade de vasos sanguíneos junto à região de tecido adiposo	45
Figura 20 - Campos aleatórios de uma mesma amostra corada com Picrosirius red fotografados sob luz convencional (linha superior) e sob luz polarizada (linha inferior correspondente)....	46
Figura 21 - Análise quantitativa de colágeno utilizando software ImageJ. (A) Amostra sob luz convencional; (B) Imagem após ajuste de cores e contraste; (C) Imagem convertida para escala de cor 8-bit; (D) Imagem binarizada; (E) Mesmo campo sob luz polarizada; (F) Ajuste de cores para evidenciar colágeno tipo I; (G) Imagem convertida para escala de cor 8-bit; (H) Imagem binarizada.	46
Figura 22- Cortes de imuno-histoquímica com CD31 do ligamento meniscotibial medial. (A1, A2, A3, A4) porção de inserção meniscal; (B1, B2, B3, B4) porção intrasubstancial.....	49

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Média de percentual de colágeno total e subtipos I e III em amostras de ligamento meniscotibial medial	48
Gráfico 2	Quantidade de vasos marcados por meio de imuno-histoquímica com CD31 na porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial	51
Gráfico 3	Densidade microvascular na porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial	51
Gráfico 4	Área média dos vasos marcados por meio de imuno-histoquímica com CD31 na porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial	52
Gráfico 5	Área total marcada por meio de imuno-histoquímica com CD31 na porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial	53
Gráfico 6	Percentual de área marcada por meio de imuno-histoquímica com CD31 na porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Sexo, idade dos doadores e dimensões macroscópicas dos ligamentos.....	43
Tabela 2	Porcentagem de área de colágeno tipo I e tipo III em cada amostra e a proporção entre os tipos de colágeno em cada amostra.....	47
Tabela 3	Proporção de colágeno Tipo I/III em relação faixa etária em subgrupos nos extremos de idade da casuística	48
Tabela 4	Análise da microvascularização do ligamento meniscotibial medial por meio de imuno-histoquímica com CD31. Cada amostra foi avaliada em sua porção de inserção meniscal e intrasubstancial quanto à quantidade de vasos, percentual de área marcada, área marcada, área média de vasos e densidade microvascular.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C	Cartilagem
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CF	Côndilo Femoral
CFM	Côndilo Femoral Medial
CIHDOTT	Comissões Intra-hospitalares de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante
F	Fêmur
HE	Coloração Hematoxilina e Eosina
IJF	Instituto Dr. José Frota
Ins	Porção de inserção meniscal
IT	Inserção tibial do Ligamento meniscotibial medial
Intrasubs	Porção intrasubstancial
JC	Cápsula articular
LA	Linha articular medial
LCA	Ligamento Cruzado Anterior
LMT	Ligamento meniscotibial medial
LMTM	Ligamento Meniscotibial Medial
M	Menisco
MM	Menisco Medial
MFC	Côndilo femoral
MF	Ligamento menisco femoral
MT	Ligamento meniscotibial
MTP	Platô tibial
P	Palpador
P	Patela
PM	Platô medial
PT	Platô tibial
RNM	Ressonância nuclear magnética
T	Tibia
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido

LISTA DE SÍMBOLOS

μm	Micrômetro
®	Marca registrada
μm^2	Micrometro quadrado
mm^2	Milímetro quadrado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Lesão do Ligamento Cruzado Anterior	20
2.2 O Ligamento Meniscotibial Medial	23
2.2.1 Histologia e vascularização do LMTM	28
3 JUSTIFICATIVA	30
4 OBJETIVOS	31
4.1 Objetivo Geral	31
4.2 Objetivos específicos	31
5 CASUÍSTICA E MÉTODO	32
5.1 Aspectos Éticos	32
5.2 Caracterização da amostra	32
5.2.1 Critérios de Inclusão	32
5.2.2 Critérios de Exclusão	32
5.2.3. Benefícios	33
5.2.4 Riscos	33
5.2.5. Redução dos Riscos	33
5.3 Ambiente de experimentação da coleta de material	33
5.4 Aquisição das amostras de LMTM	33
5.5 Preparação da peça	36
5.6 Preparação das lâminas	36
5.7 Análise histológica por Hematoxilina-eosina	38
5.8 Preparação da lâmina corada em Picrosirius red	38
5.9 Análise histológica do colágeno por Picrosirius red	38
5.10 Análise estatística do colágeno por Picrosirius red	39
5.11 Preparação da lâmina para imuno-histoquímica com CD31	40
5.12 Análise da microvascularização por imuno-histoquímica com CD31	40
5.13 Análise estatística	42
6 RESULTADOS	43
5 DISCUSSÃO	54
6 CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61
ANEXO I – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	66

APÊNDICE I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
.....**74**

1 INTRODUÇÃO

A ruptura do Ligamento Cruzado Anterior (LCA) é a lesão ligamentar mais comum do joelho, quando incluídas somente as rupturas ligamentares completas. Essa lesão acomete principalmente, indivíduos jovens e ativos e caracteriza-se especialmente pela instabilidade articular (MALL et al., 2014).

Apesar de ainda não haver dados sobre a epidemiologia exata dessa lesão na população brasileira, a literatura internacional mostra uma incidência de aproximadamente 200.000 novos casos por ano nos Estados Unidos (MALL et al., 2014) e um estudo sueco sobre a lesão demonstrou uma incidência de 78 casos por 100.000 pessoas ao ano (NORDENVALL et al., 2012).

Na década de 80, o Ligamento Meniscotibial Medial (LMTM), também conhecido como Ligamento Coronário, foi descrito como uma faixa de tecido fibroso conectando os meniscos periféricamente à tibia (EL-KHOURY; USTA; BERGER, 1984). A ruptura do LMTM causando o descolamento do menisco da tibia é conhecida por ocorrer em associação com lesão do Ligamento Cruzado Anterior, particularmente com lesão do Ligamento Colateral tibial (SMITH et al., 2021).

Quanto maior o intervalo entre a lesão do LCA e intervenção cirúrgica, maior a incidência de lesão no Corno Posterior do Menisco Medial, dentre as lesões descritas estão as Lesões em Rampa e a Ruptura do Ligamento Meniscotibial (PELTIER et al., 2015). Devido a complexidade das lesões em rampa, estas foram classificadas por Thaunat et al (2021) de modo que no tipo III, descrito como uma lesão inferior parcial da zona vermelha, o LMTM perde a função.

Pacientes com possível lesão combinada do LCA com lesão meniscal em rampa ou lesão associada do LMTM após a reconstrução isolada do LCA evoluem com falha da estabilidade rotatória (MEHL et al., 2019). Sendo assim, a necessidade da reconstrução conjunta do LCA e do reparo meniscal ou do LMTM se faz necessária para obter um maior controle rotacional e prevenção da re-ruptura do LCA (MEHL et al., 2019; SMITH et al., 2021).

Apesar do LMTM ter sido descrito macroscopicamente em dissecções anatômicas anteriores, as características estruturais quanto as fibras de colágeno e vascularização são pouco citadas na literatura (DI FRANCIA et al., 2020). Cavaignac et al. (2021) descrevem o LMTM como sendo formado por fibras de colágeno paralelas e organizadas, assim como DePhillipo et al. (2019) que demonstraram que o LMTM apresenta fibras longas organizadas linearmente, o

que é característico de colágeno tipo I, mostrando estrutura semelhante, densidade celular e direção das fibras quando comparado aos ligamentos meniscocapsulares.

Conhecer a estrutura de colágeno de um ligamento permite relacionar com o comportamento biomecânico observado nas estruturas (CHAGAS, 2018). Além disso, a capacidade do tendão de cicatrizar as micro injúrias está relacionada a influência da vascularização do mesmo (HUANG; PERRY; SOSLOWSKY, 2004).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Lesão do Ligamento Cruzado Anterior

O joelho, por sua condição de articulação altamente solicitada e exposta a traumas, é frequentemente lesado, sendo a rotura do ligamento cruzado anterior uma das lesões mais comuns (STEWIEN; CAMARGO, 2005). O LCA, evidenciado na Figura 1, é uma estrutura fundamental do joelho, visto que este é um importante restritor da instabilidade anterior e rotação interna da tíbia (ARLIANI et al., 2012). A rotura deste ligamento causa alteração da cinemática do joelho (MARIANI, 2011).

Figura 1 - Estruturas ligamentares do joelho dentre elas o Ligamento Cruzado Anterior.



Fonte: NETTER, 2017

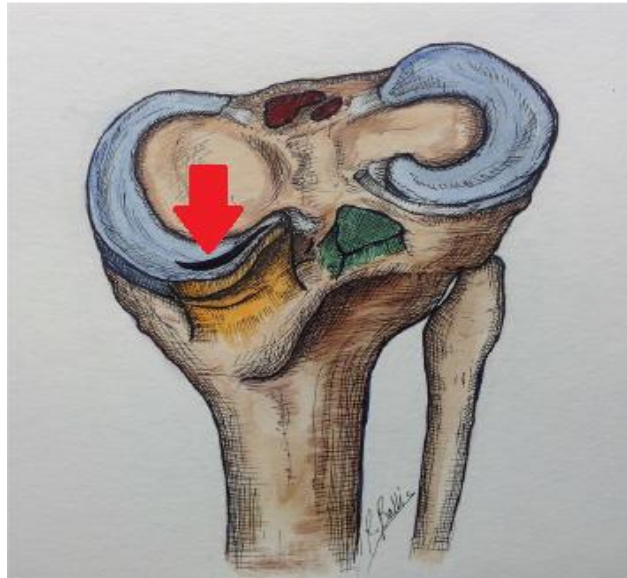
Legenda: Ligamento Cruzado Anterior (em vermelho)

A reconstrução do LCA tem como objetivo estabilizar o joelho. A restauração da cinemática minimiza as forças anormais na interface femorotibial. Episódios recorrentes de instabilidade após a ruptura do LCA estão frequentemente associados a lesões de menisco e osteoartrose prematura (GUIMARÃES; CARVALHO JUNIOR; TERRA, 2009).

Lesões meniscais ocorrem em associação com a ruptura do LCA em aproximadamente 60% dos casos (MICHALITSIS et al., 2015). Dentre as lesões meniscais, o acometimento do corno posterior do menisco medial corresponde a cerca de 40% dos casos, sendo assim a mais comum (SMITH; BARRETT, 2001). Nesse contexto de injúria associada,

destacam-se dois tipos de lesão do Corno posterior do menisco medial, a lesão em rampa (Figura 2) e a lesão do LMTM (Figura 3) (PELTIER et al., 2015).

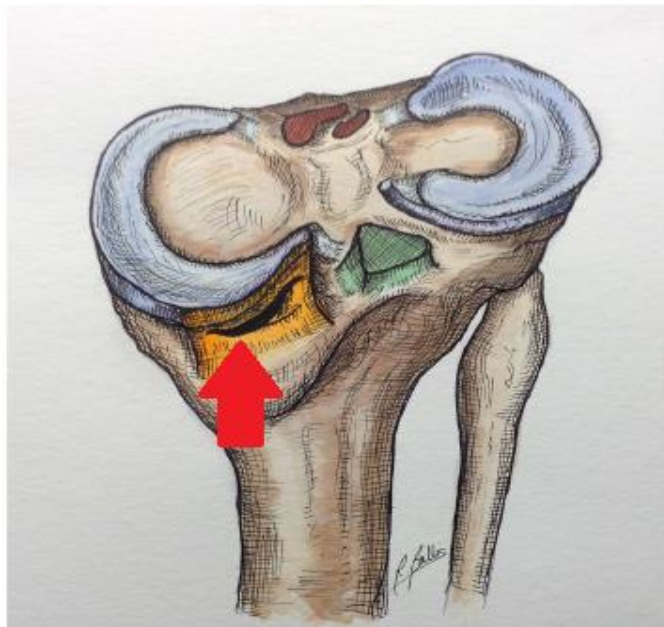
Figura 2 – Lesão em rampa no menisco medial.



Fonte: (PELTIER et al., 2015)

Legenda: Lesão em rampa (seta vermelha)

Figura 3 – Lesão do Ligamento Meniscotibial medial.



Fonte: (PELTIER et al., 2015)

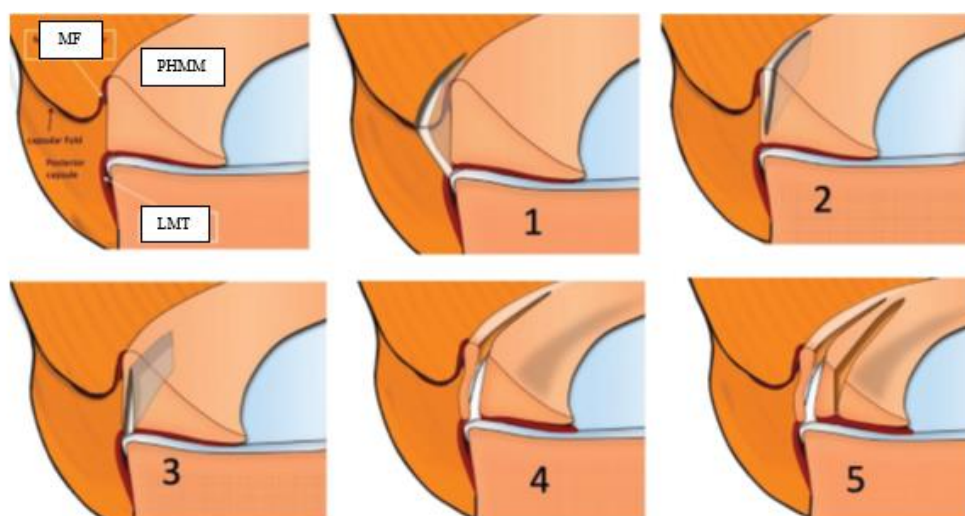
Legenda: Lesão do Ligamento meniscotibial medial (seta vermelha)

A lesão em rampa consiste em rupturas meniscossinoviais ou meniscocapsulares, que podem ser difíceis de diagnosticar por artroscopia a partir do compartimento anterior, por

essa razão também recebe a denominação de lesão oculta (ABREU et al., 2022). Essa lesão aumenta significativamente a instabilidade anteroposterior e rotatória do joelho quando comparadas com lesões isoladas do LCA (DEPHILLIPO et al., 2018; GUY et al., 2022).

Devido as características anatômicas do LMTM, a lesão deste ligamento mantém relação direta com as lesões em rampa do menisco medial e o achado artroscópico conhecida como “menisco flutuante” (BIKKINA et al., 2005), de tal modo que Thauinat et al., (2021) propuseram uma classificação para lesões em rampa, definindo as lesões isoladas do LMTM como lesão em rampa tipo III conforme figura 4.

Figura 4 – Representação da região meniscocapsular do corno posterior do menisco medial e os 5 subtipos de lesão em rampa. Tipo 1, lesão completa da junção capsulossinovial; Tipo 2: Lesão superior parcial da zona vermelha; Tipo 3: Lesão inferior parcial da zona vermelha; Tipo 4: Lesão completa da zona vermelha; Tipo 5: Lesão completa dupla.



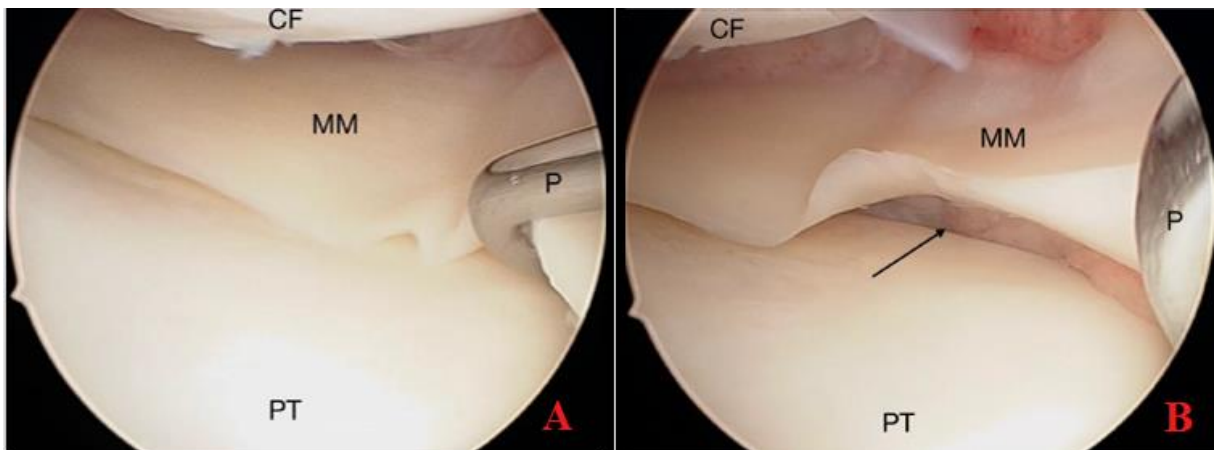
Fonte: THAUNAT et al., 2021

Legenda: MF: Ligamento meniscofemoral; PHMM: Corno posterior do menisco medial; LMT: Ligamento meniscotibial

As lesões em rampa podem não ser diagnosticadas na investigação radiológica e são frequentemente subestimadas durante a cirurgia de reconstrução do LCA (MARIANI, 2011; PELTIER et al., 2015). Grande contribuinte para essas lesões serem subdiagnosticadas é o fato de que a visualização artroscópica do compartimento posteromedial não é considerada uma etapa rotineira durante o exame artroscópico pelas dificuldades de acesso a esse compartimento ou pelo medo de riscos potenciais (MARIANI, 2011)

Recomenda-se uma atenção particular à inspeção intra-articular pois grande parte das lesões são identificadas no intraoperatório, conforme evidencia a Figura 5, devido a uma busca ativa da possível lesão. (GUY et al., 2022)

Figura 5 - Achados durante artroscopia por portal anterolateral do joelho em um paciente sem lesão do Ligamento Meniscotibial comparando a um caso com lesão; (A) Inspeção normal do menisco medial sem lesão do LMTM; (B) Presença de lesão do LMTM demonstrando elevação sinal da ascensão meniscal (“meniscal rise”) que ocorrem devido a lesão.



Fonte: (ALENCAR NETO, 2022)

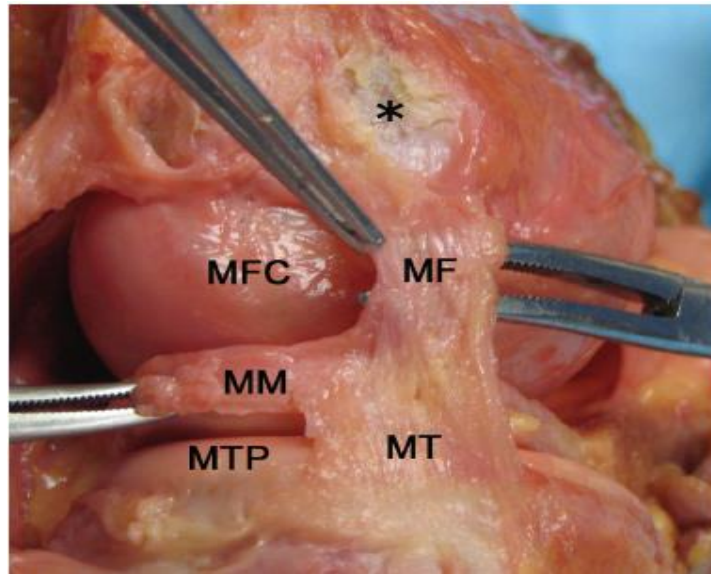
Legenda: CF: Côndilo Femoral; P: Palpador; PT: Platô tibial; MM: Menisco Medial; Seta preta: sinal da ascensão meniscal

Diferentes técnicas cirúrgicas têm sido descritas para realizar o reparo de lesões do corno posterior do menisco medial, em especial as lesões em rampa. Apesar dos avanços, o índice de falha deste reparo permanece alto (GUY et al., 2022).

2.2 O Ligamento Meniscotibial Medial

Dentre os estudos sobre a anatomia do joelho, El-Khoury et al., (1984) foram um dos primeiros a descrever o Ligamento Meniscotibial medial, sendo evidenciado como uma faixa de tecido fibroso conectando os meniscos periféricamente à tibia, conforme Figura 6.

Figura 6 - Anatomia da região posteromedial do joelho evidenciando as estruturas inseridas no menisco medial.

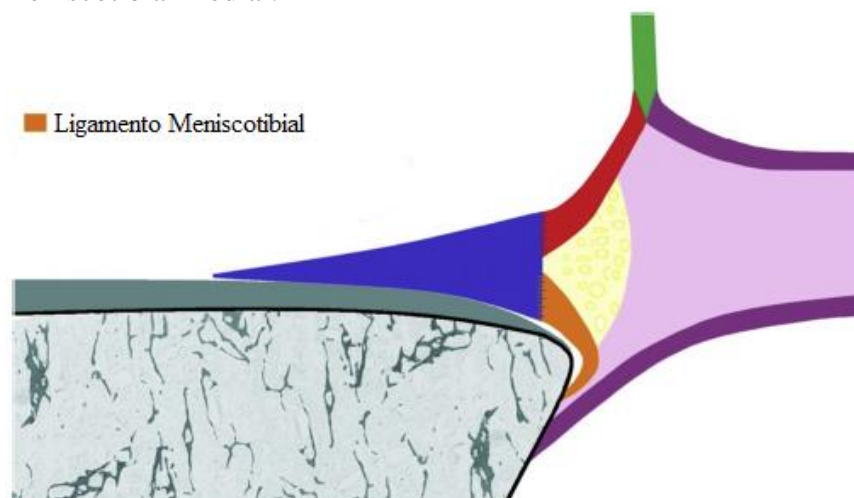


Fonte: (LAPRADE et al., 2007)

Legenda: Asterisco indica a superfície femoral de inserção do ligamento colateral medial. MM = Porção posterior do menisco medial. MFC = côndilo femoral. MTP = platô tibial. MF = ligamento menisco femoral. MT = ligamento meniscotibial

Segundo Peltier et al., (2015) as inserções radiculares posteriores dos meniscos variam consideravelmente entre os lados medial e lateral. O corno posterior do menisco medial é estabilizado posteriormente pelo ligamento meniscotibial, que por sua vez se insere na face posterior da tibia proximal, ressaltando-se que não há inserção da cápsula posterior nessa região meniscal medial, conforme exemplificado na Figura 7. Por outro lado, o corno posterior do menisco lateral é fixado posteriormente pelo ligamento meniscofemoral e pela cápsula articular (DEPHILLIPO et al., 2019).

Figura 7 - Diagrama ilustrando a anatomia de um corte sagital no corno posteromedial do joelho evidenciando a relação entre as estruturas dessa região com destaque para o ligamento meniscotibial medial.

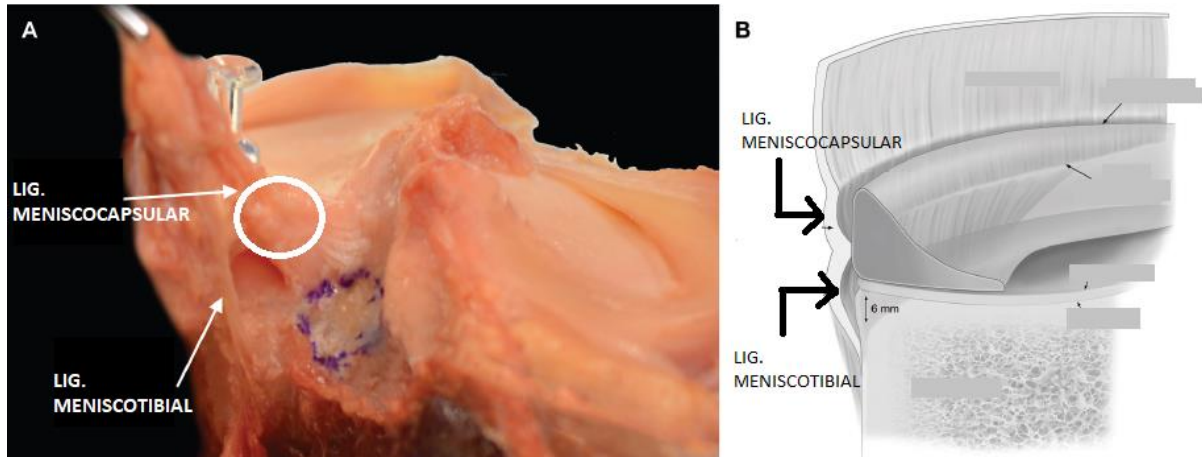


Fonte: (CAVAIGNAC et al., 2021)

Legenda: Cinza: Platô tibial, Azul: Menisco medial, Vermelho: Ligamento meniscocapsular, Laranja: Ligamento meniscotibial, Verde: capsula posterior, Amarelo: tecido adiposo, Lilás: Inserção capsular do musculo semimembranoso

Desde o primeiro estudo anômico em 1984 até os dias atuais houveram diferentes conclusões a respeito do LMTM, foi descrita existir relação entre a porção profunda do ligamento colateral tibial e os LMTM (LAPRADE et al., 2007). De Maeseneer et al., (2014) descreveram que as camadas profundas do Ligamento colateral tibial, denominadas bandas meniscofemorais e meniscotibiais, estavam fortemente aderidas ao menisco medial. Em 2019, em estudo sobre a anatomia da região posteromedial do joelho, o LMTM foi identificado em todas as amostras, descrito como uma estrutura independente que cursava em ângulo oblíquo desde a parte posterior da tibia até sua inserção proximal à borda inferior do menisco medial posterior com o adendo de que ocorre uma fusão com a inserção meniscocapsular na região mais posterior da junção meniscocapsular conforme evidencia a Figura 8 (DEPHILLIPO et al., 2019). A grande maioria dos estudos mais recentes também conclui ser o LMTM uma estrutura ligamentar independente que realiza a conexão entre menisco medial e tibia (ALENCAR NETO, 2022; CAVAIGNAC et al., 2021; NETO et al., 2023b). Os pontos anômicos exatos de inserção e origem deste ligamento, bem como os limites anômicos de sua extensão anteroposterior ainda não foram definidos na literatura.

Figura 8 – Corno posterior do menisco evidenciando a inserção do Ligamento Meniscotibial; (A) Visão sagital de uma dissecação cadavérica da anatomia do corno posterior do menisco medial, mostrando as inserções do ligamento meniscocapsular e meniscotibial à medida que se fundem para formar uma fixação comum; (B) Ilustração do corno posterior do menisco medial e fixação comum compartilhada dos ligamentos meniscocapsular e meniscotibial.

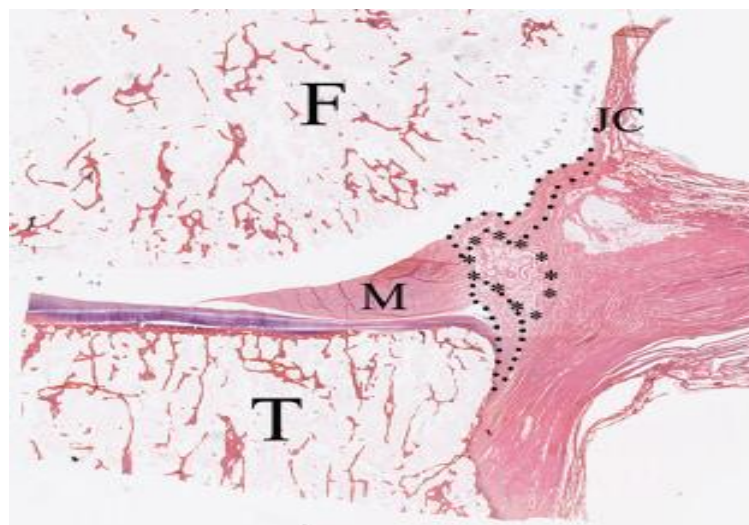


Fonte: (DEPHILLIPO et al., 2019)

Legenda: círculo branco: fixação comum dos ligamentos meniscocapsular e meniscotibial

CAVAIGNAC et al., (2021) realizaram estudo com dissecação anatômica e análise histológica em 14 cadáveres e descreveram a inserção do LMTM e do Ligamento meniscocapsular de forma independente, sendo esta superior e aquela inferior no corno posterior do menisco medial (Figura 9), corroborando com a descrição inicial de DEPHILLIPO et al, (2019).

Figura 9 - Análise histológica por microscópio óptico do corno posterior do menisco medial evidenciando inserção do LMTM.



Fonte: (CAVAIGNAC et al., 2021)

Legenda: F: fêmur; JC: cápsula articular; M: menisco; T: tibia. *Tecido adiposo vascularizado; Linha pontilhada: ligamento meniscotibial e

ligamento meniscocapsular acima. Coloração hematoxilina-eosina, magnificação X 0.3

Em 1984, apesar de a lesão do LMTM encontrada na artrografia não ter sido associado a uma manifestação clínica específica, já se notava uma alta associação entre rupturas do LMTM com outros problemas articulares. (EL-KHOURY; USTA; BERGER, 1984) Posteriormente, a lesão desta estrutura foi associada à causa de dor no joelho (MILLAR, 1991).

Lesões do Ligamento Meniscotibial podem ocorrer como uma ruptura intrasubstancial ou como uma avulsão de sua inserção tibial (PELTIER et al., 2015). Entretanto, até 2011 não se sabia qual era a relação causal entre a lesão do LMTM com extrusão meniscal e instabilidade do joelho (MARIANI, 2011). Por conseguinte, Lougher et al. (2003) sugeriam o tratamento da lesão do LMTM de forma conservadora sustentando que, apesar da sintomatologia semelhante a uma lesão meniscal, se tratava de uma lesão com história natural benigna (LOUGHER; SOUTHGATE; HOLT, 2003).

Em 2015, pesquisadores do Centre Albert Trillat, na França, identificaram a importância do LMTM na instabilidade do joelho, ao evidenciar o aumento da instabilidade rotacional posteromedial após reproduzir a lesão destes. (PELTIER et al., 2015) Nos anos seguintes, diversos autores publicaram a relação do LMTM com a instabilidade anterolateral, bem como posterolateral (AMAN et al., 2019; GUY et al., 2022). Isso ocorre porque as funções principais do LMTM são estabilizar e manter o menisco em sua posição sobre o platô tibial (PELTIER et al., 2015).

O descolamento do LMTM provavelmente permite mobilidade de todo o Corno posterior do menisco medial, com notável redução na estabilidade rotacional. (GUY et al., 2022; PELTIER et al., 2015). A lesão isolada desse ligamento pode causar extrusão meniscal ou instabilidade rotatória (GUY et al., 2022; MARIANI, 2011), sendo assim, a lesão do LMTM implica na falha ligamentar em reconstruções do LCA, sendo um preditor na instabilidade residual do joelho (DEPHILLIPO et al., 2018).

As lesões do LMTM podem ser investigadas por ressonância nuclear magnética (RNM) em ponderação T2 com corte sagital ou coronal de modo que a evidência de líquido de espessura maior que três milímetros entre o menisco e o platô tibial é sugestiva de lesão do LMTM (BIKKINA et al., 2005).

Na artroscopia de joelho, deve-se realizar a inspeção submeniscal para identificar um menisco sem lesões ou um “menisco flutuante”, também conhecido como “menisco ascendido”, o qual é sinal de lesão do LMTM. (SMITH et al., 2021) Na presença dessa lesão, MARIANI et al. (2011) recomendam o reparo desta estrutura pelo efeito deletério que pode

gerar na articulação a instabilidade acusada pela lesão do LMTM. Guy et al., (2022) refere que apesar dos avanços em técnica cirúrgica, o índice de falha após reparo de lesões do corno posterior do menisco medial permanece elevado.

2.2.1 Histologia e vascularização do LMTM

No que se refere a estrutura histológica do LMTM, em 2019 foi demonstrada a presença de fibras longas organizadas linearmente, o que é característico dos fibroblastos que expressam colágeno tipo I que compõem os ligamentos (DEPHILLIPO et al., 2019). Do mesmo modo, estudos posteriores corroboraram o achado, descrevendo o LMTM como estrutura formada por fibras colágenas paralelas e organizadas (CAVAIGNAC et al., 2021).

Por meio da coloração com Alcian blue sugere-se não haver diferença qualitativa na composição das matrizes de colágeno entre as inserções meniscocapsulares e meniscotibiais (DEPHILLIPO et al., 2019).

O método de polarização por coloração de Picrosirius red é amplamente utilizado para estimativas quantitativas de variados tecidos (RITTIÉ, 2017) Por meio deste método é possível distinguir e determinar o nível de colágeno tipos I e III (WAN; HAO; WEN, 2013). Trata-se de um método que pode ser empregado com menos desbotamento do que van Gieson ou outros métodos e posteriormente visualizado com resultados muito melhores com o auxílio de Microscopia com luz polarizada em combinação com análise de imagem morfométrica devido às propriedades birrefringentes variadas das fibras de colágeno catiônicas combinadas com o corante vermelho Sirius aniônico e alongado (LIU et al., 2021). Essa análise morfométrica de imagens tem sido aplicada para avaliar as propriedades das fibras colágenas devido à sua precisão, objetividade e reprodutibilidade (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979). Sob luz polarizada, as fibras de colágeno tipo I aparecem brilhantes e vermelho-amareladas, em nítido contraste com o colágeno tipo III que aparece verde (LIU et al., 2021).

No tendão normal é predominante a presença do colágeno tipo I em relação ao tipo III (MAGANARIS; NARICI; MAFFULLI, 2008). O colágeno tipo I é principalmente espesso e densamente acondicionado em fibrilas espessas, enquanto o colágeno tipo III é principalmente composto por finas fibras. Com o avançar da idade ocorre o decréscimo do colágeno tipo I e o aumento do colágeno tipo III produzindo um tendão com menor resistência a tração mecânica (JUNQUEIRA; COSSERMELLI; BRENTANI, 1978). Até o momento, não houve na literatura estudo buscando definir a composição da matriz de colágeno do LMTM.

A vascularização do joelho já foi bastante estudada e descrita na literatura, no entanto a vascularização específica do Ligamento meniscotibial medial é temática pouco frequente. Os tendões maduros são pouco vascularizados com nutrição mais dependente da difusão do líquido sinovial do que da perfusão vascular, embora eles tenham mais vasos sanguíneos do que é comumente aceito (FENWICK; HAZLEMAN; RILEY, 2002). Foi demonstrado que o suprimento vascular do tendão surge de três áreas distintas: a junção musculotendínea; a junção osteotendinosa; e vasos de vários tecidos conjuntivos circundantes, como paratendão, mesotendão e vincula (MAFFULLI; RENSTRÖM; LEADBETTER, 2005).

De modo geral os estudos sobre o suprimento vascular dos tendões são realizados principalmente nas estruturas vasculares externas por meio de angiografia ou metodologia semelhante (WOLFF et al., 2012) São poucos os estudos que buscam identificar a vascularização intrínseca dessas estruturas. Três anticorpos foram inicialmente mais comumente usados para identificação e análise quantitativa de microvasos: Fator VII, CD31 e CD34 (MARINHO, 2003). Destes o CD31 e CD34 mostraram-se mais efetivos para estudo de microvascularização (ALVES; BACCHI; VASSALLO, 1999).

Em 2021 foi descrito que o tecido adiposo posterior ao corno posterior do menisco medial e anterior à capsula, é ricamente vascularizado (CAVAIGNAC et al., 2021). Não há na literatura descrição quantitativa da vascularização do LMTM.

3 JUSTIFICATIVA

A lesão do LMTM interfere diretamente no resultado da Reconstrução do Ligamento Cruzado Anterior. Apesar disso, pouco se sabe a respeito das características estruturais do LMTM. Desta forma, se faz necessário descrever a estrutura da matriz de colágeno e vascularização do LMTM a fim de contribuir para o refinamento da técnica cirúrgica de reparo dessas estruturas durante uma artroscopia e conseqüentemente levar a diminuição de falha em alcançar à estabilidade adequada em pacientes submetidos à reconstrução do LCA.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo é analisar qualitativamente a estrutura de colágeno do LMTM bem como avaliar qualitativamente e quantitativamente a microvascularização do ligamento.

4.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos desta pesquisa são:

- a) Realizar análise macroscópica do LMTM
- b) Realizar análise microscópica do LMTM por meio de coloração Hematoxilina – eosina
- c) Avaliar a estrutura de colágeno e composição quanto aos tipos de colágeno por meio de coloração com Picrosirius Red
- d) Analisar a expressão da proteína CD31 em toda extensão do LMTM por meio do método imuno-histoquímico

5 CASUÍSTICA E MÉTODO

5.1 Aspectos Éticos

O estudo foi conduzido de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, a qual aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo os seres humanos.

O presente projeto foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa (CEP), via Plataforma Brasil, do Instituto Dr. José Frota, sendo aprovado sob o registro CAE 40066820.4.0000.5047 (ANEXO I). Trata-se de um estudo transversal e descritivo

Foi colhido TCLE (Termo de Consentimento Livre Esclarecido) (APÊNDICE 1) em conjunto com a abordagem do termo aplicado pela Comissões Intra-hospitalares de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante (CIHDOTT). Na ocasião de cada doação, foi explicitado a completa dissociação entre a coleta para pesquisa e a coleta da doação de órgãos, deixando claro que a negação para a pesquisa nada implicará na coleta de órgãos.

5.2 Caracterização da amostra

5.2.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo ligamentos meniscotibiais mediais do joelho, provenientes de cadáveres frescos, os quais eram doadores de órgãos falecidos efetivados pela CIHDOTT após confirmação de morte encefálica, todos adultos, sem preferência por sexo ou idade e após assinatura do TCLE (APÊNDICE 1) por representante legal.

A confidencialidade referente aos participantes do estudo foi respeitada, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, identificá-lo, foi mantido em sigilo.

5.2.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos os participantes esqueleticamente imaturos e aqueles que apresentavam sinais de lesão traumática e/ou degenerativa que dificultasse a dissecação do LMTM ou pudesse interferir na integridade das estruturas anatômicas.

5.2.3. Benefícios

O participante do estudo não recebeu benefício direto com o estudo, a não ser contribuir para a realização de novos estudos que ajudem no avanço da medicina.

5.2.4 Riscos

Como risco, destacamos o comprometimento estético da pele presente na região do joelho devido a presença de fios de sutura em evidência e a reação psicológica dos familiares já sensibilizados pelo falecimento do familiar frente à doação do LMTM.

5.2.5. Redução dos Riscos

Como forma de reduzir esse risco, foi utilizada a menor incisão possível. Destacamos ainda que foi ressecado apenas o ligamento meniscotibial do joelho, permanecendo o restante do falecido inalterado.

Os pesquisadores se dispuseram à disposição dos familiares para fornecer esclarecimentos quanto ao procedimento, benefícios futuros ao tratamento de outros pacientes e quanto a possibilidade de, a qualquer momento, desistir de realizar a doação.

5.3 Ambiente de experimentação da coleta de material

O material para análise foi coletado no centro cirúrgico do Instituto Dr. José Frota (IJF), na cidade de Fortaleza – CE, localizado na rua Barão do Rio Branco, 1816 - Centro, Fortaleza - CE, 60025-061. Tel. (85) 3255 5205.

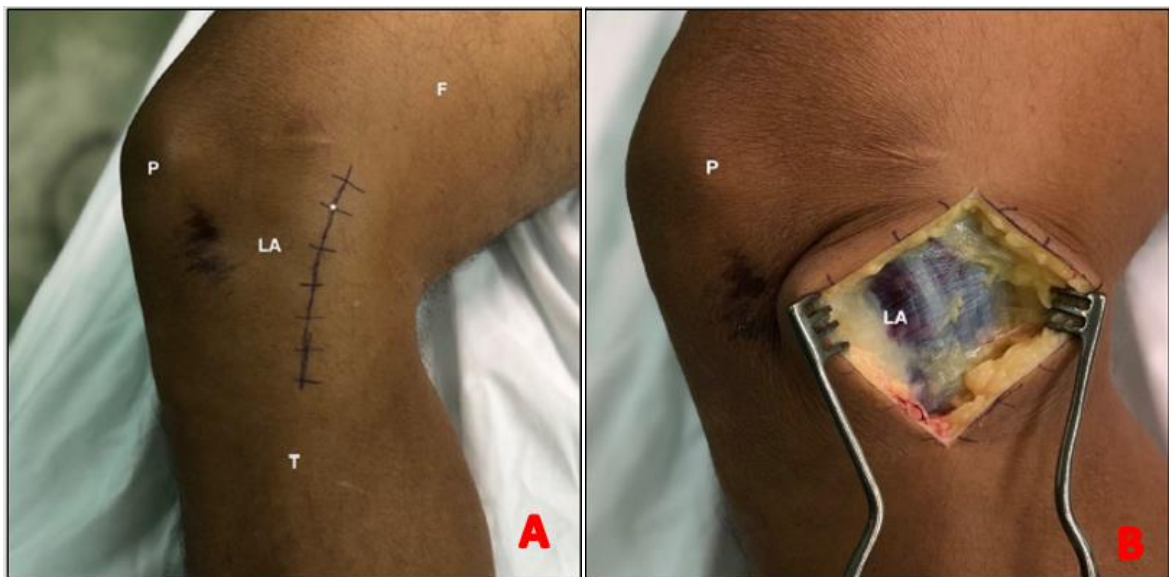
A coleta foi realizada imediatamente após o término do procedimento cirúrgico para captação de órgãos.

5.4 Aquisição das amostras de LMTM

Foram coletados um total de 12 LMTM provenientes de seis cadáveres frescos, dentre eles cinco do sexo masculino e um do sexo feminino com idades variando de 20 até 72 anos. Todas as amostras foram coletadas pela mesma cirurgiã ortopédica.

A técnica de coleta do LMTM seguiu os princípios da técnica descrita por ALENCAR NETO et al., (2023) Foi realizada uma incisão posteromedial ao joelho com início da parte posterior do epicôndilo medial do fêmur em direção à borda posteromedial da tibial. Foram identificados os tendões do músculo sartório, semitendíneo e grácil (pata de ganso) os quais foram rebatidos distalmente (Figura 10).

Figura 10 - Técnica para coleta das amostras; (A) Visualização medial do joelho demonstrando marcação cutânea do acesso para exérese do LMTM; (B) Acesso para exérese do LMTM evidenciando a camada muscular medial mais superficial do joelho.

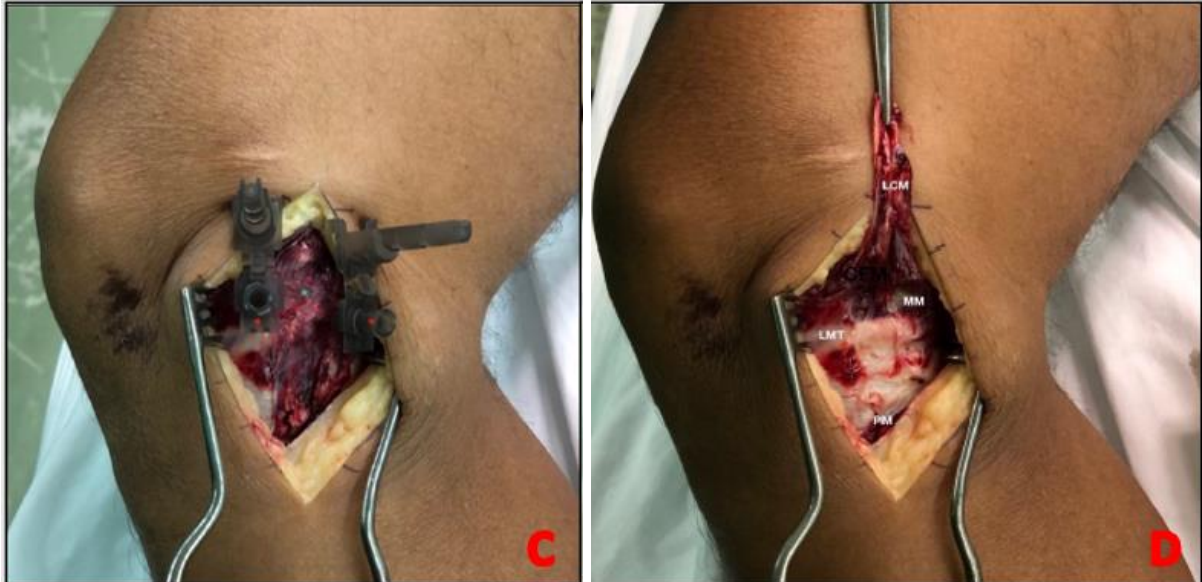


Fonte: (ALENCAR NETO et al., 2023b)

Legenda: P: Patela; F: Fêmur; T: Tíbia; LA: Linha articular medial; Asterisco branco: Epicôndilo femoral medial

Foi realizada uma incisão longitudinal ao colateral tibial, identificando assim a cápsula articular e o LMTM - ponto onde é realizado a artrotomia submeniscal para visualização da redução da fratura articular (Figura 11) (CHANG et al., 2012; KANDEMIR; MACLEAN, 2014; LUO et al., [s.d.]; PRAT-FABREGAT; CAMACHO-CARRASCO, 2016; ZHANG et al., 2020).

Figura 11 - Técnica para coleta das amostras; (C) Acesso para exérese do LMTM evidenciando camada muscular intermediária do joelho; (D) Estruturas mais profundas mediais do joelho. Colateral tibial rebatido proximalmente, sendo possível visualização do menisco medial e LMTM (ainda inserido).



Fonte: (ALENCAR NETO et al., 2023b)

Legenda: Agulhas 25x7mm: posição exata da linha articular; LCM: Lig. colateral medial; LMT: Lig. menisco tibial medial; PM: Platô medial; MM: Menisco medial.

Por fim, o LMTM é dissecado para realizar a ressecção do ligamento em sua totalidade (Figura 12).

Figura 12 - Técnica para coleta das amostras; (E) LMTM rebatido proximalmente, evidenciando sua inserção no côndilo femoral medial; (F) Desinserção do LMTM do menisco medial e da sua inserção tibial.



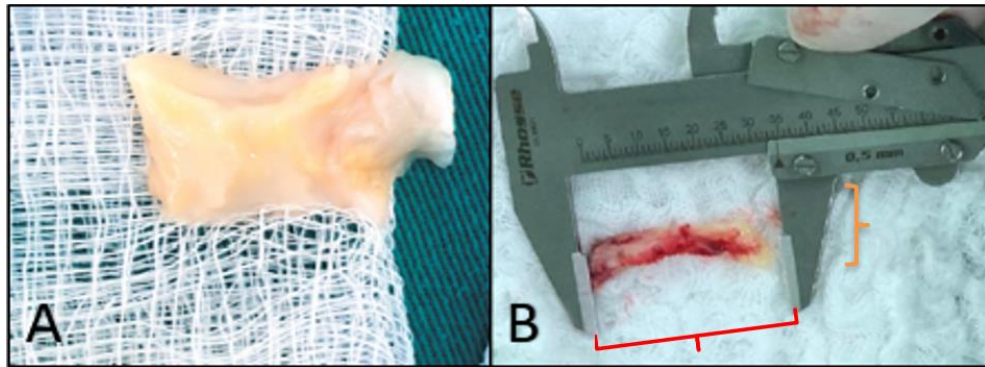
Fonte: (ALENCAR NETO et al., 2023b)

Legenda: LMT: Lig. meniscotibial medial; MM: Cartilagem do platô medial; PM: Platô medial; Asterisco vermelho: Inserção tibial do LMT medial.CFM: Côndilo femoral medial C: Cartilagem; IT: Inserção tibial do LMT medial;

5.5 Preparação da peça

Após a coleta de cada peça, ainda no centro cirúrgico foi realizada a limpeza da amostra, retirando partes moles aderidas ao ligamento. Em seguida realizada a avaliação morfométrica, sendo aferidos comprimento, largura, espessura e peso (Figura 13).

Figura 13 - Procedimentos durante a coleta das amostras; (A) Ligamento imediatamente após a coleta, antes de ser realizada limpeza de partes moles; (B) Aferição da largura do LMTM



Forte: De autoria própria

Legenda: Chave vermelha: largura; Chave laranja: comprimento

Posteriormente cada LMTM foi acondicionado integralmente em um cassette histológico previamente identificado e acondicionado em solução formalina tamponada 10% a temperatura ambiente por 48 horas.

Durante o período de 48 horas as peças foram transportadas para o Laboratório de morfologia da Universidade Federal do Ceará onde foram transferidas para solução de álcool 70% até o processamento para preparação das lâminas.

5.6 Preparação das lâminas

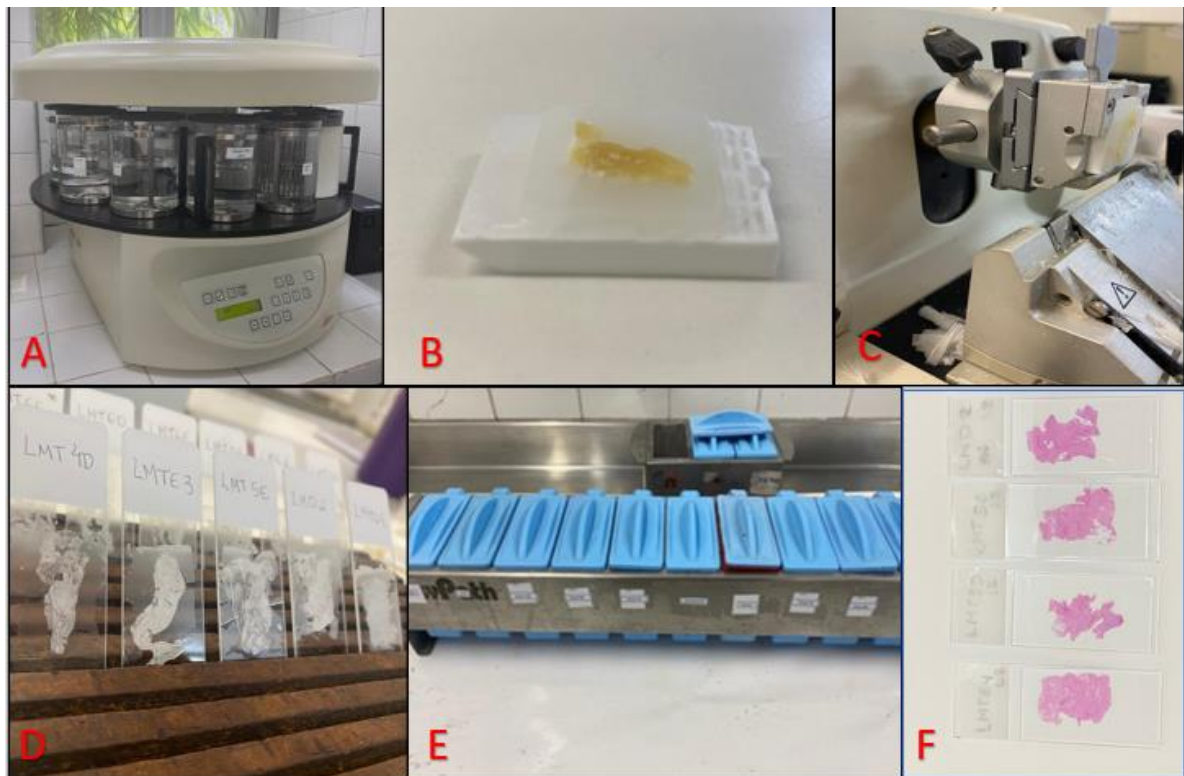
O processamento para preparação das lâminas foi realizado uma única vez, após a coleta de todas as amostras.

A preparação das lâminas ocorreu no Laboratório de morfologia da Universidade Federal do Ceará e seguiu a sequência progressiva de álcoois para desidratação do material

realizada por banhos de uma hora cada com álcool etílico 70%, 80%, 95% e absoluto. A clarificação, que é realizada para remover o álcool antes da inclusão em parafina, foi feita embebendo os tecidos em Xilol por 30 minutos. Por último, é feita a impregnação e inclusão em parafina de cada cassete histológico.

Os blocos foram posicionados longitudinalmente no processo de inclusão e submetidos a cortes de 12 μ m com uso de um micrótomo (Figura 14). Foram utilizadas lâminas comuns e confeccionadas duas lâminas de cada peça para posterior análise em microscópio de luz convencional e verificação das estruturas microscópicas. Foi realizada a coloração de rotina para histologia hematoxilina-eosina e montagem Entellan® (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983)

Figura 14 - Preparação das lâminas para coloração HE; (A) Desidratação progressiva em sequência de álcoois; (B) Amostra após inclusão em parafina; (C) Cortes realizados no sentido longitudinal da peça; (D) Amostras já cortadas imediatamente antes de serem alocadas na estufa; (E) Sequência de soluções para coloração de HE (F) Lâminas coradas em HE.



Forte: De autoria própria

Legenda: HE: coloração hematoxilina-eosina

5.7 Análise histológica por Hematoxilina-eosina

As 24 lâminas coradas em HE foram analisadas pelo mesmo patologista no menor e maior aumento, buscando-se avaliar a viabilidade do material histológico e presença de processo patológico que impedisse prosseguir com as demais etapas da pesquisa. Também foi avaliada organização tecidual presente, celularidade, característica do tecido quanto tecido conjuntivo, adiposo ou outros. Todas as amostras foram consideradas viáveis para o prosseguimento do estudo e todos os achados foram explicitados de maneira descritiva.

5.8 Preparação da lâmina corada em Picrosirius red

A preparação das lâminas ocorreu no Laboratório de morfologia da Universidade Federal do Ceará. Os blocos de parafina foram posicionados longitudinalmente no processo de inclusão, realizados cortes de 12 μ m dos espécimes, dispostos em lâminas de vidro silanizadas, desparafinizadas em estufa a 60°C por três horas, seguidos de três banhos de xilol (cinco minutos cada).

Após reidratação em série decrescente de álcool, as lâminas foram incubadas em solução de Picrosirius red (ScyTek®) de acordo com as orientações do fabricante. Foram confeccionadas um total de 12 lâminas, uma para cada amostra.

5.9 Análise histológica do colágeno por Picrosirius red

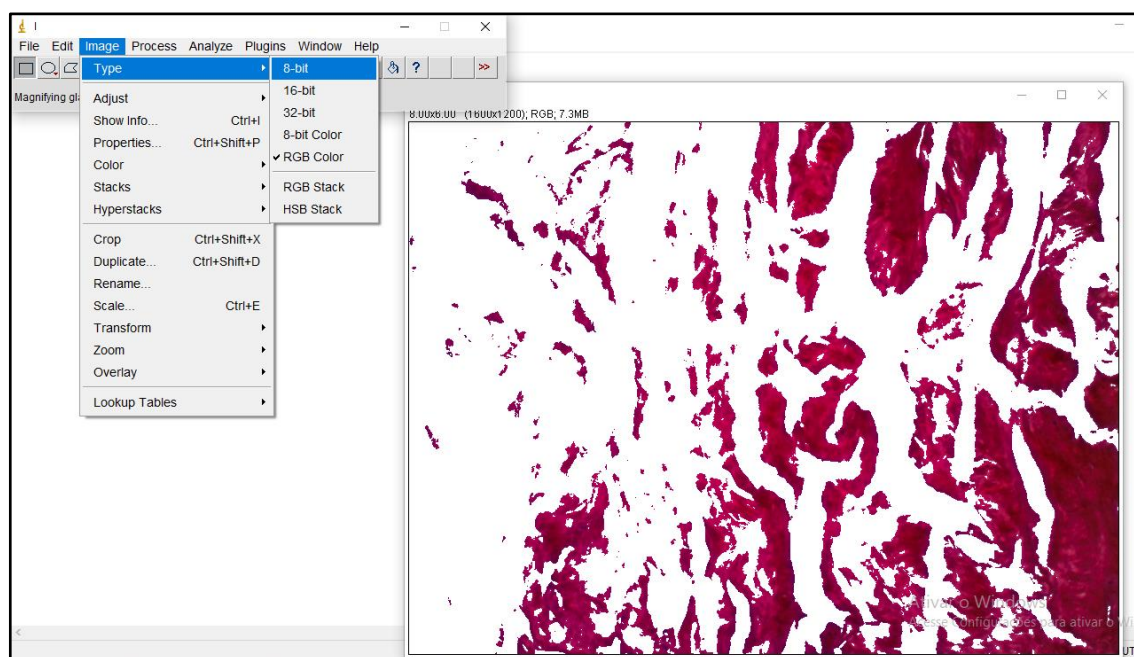
As lâminas foram analisadas em microscópio de luz polarizada (Leica® modelo DM 2000), o que permite visualizar o colágeno tipo I com coloração vermelho alaranjado e o colágeno tipo III com coloração verde (SILVA et al., 2011).

Para quantificação dos diferentes tipos de colágeno na região do Ligamento Meniscotibial Medial foi realizada a metodologia utilizada por Ribeiro (2019). Iniciou-se pela identificação aleatória de cinco campos das lâminas em um aumento de 400x, os quais foram fotografados com uso de câmera DFC 295, acoplada ao Microscópio Leica® DM 2000 no Laboratório de Patologia do Centro Universitário Christus seguindo pela análise das fotomicrografias pelo software Image J® (RSB).

Posteriormente foi realizada a calibração dos canais de cores das imagens pelo comando Color Thershold (Image > Adjust > Color Thersold) na função RGB para as cores Vermelho (Mínimo de 71 e Máximo de 255), Verde (Mínimo de zero e Máximo de 69) e azul (Mínimo de 0 e Máximo de 92) (Figura 15). Depois da calibração, as imagens foram convertidas

para a escala de cor de 8-bits (Image > Type > 8-bit), binarizadas (Process > Binary > Make Binary) e mensurada a porcentagem de área de colágeno marcada em vermelho (Analyse > Analyse Particles) (adaptado de Andrade et al., 2011).

Figura 15 – Fotografia da tela computador durante uso do Software ImageJ para análise da matriz de colágeno.



Fonte: De autoria própria

Após a polarização de luz, o mesmo protocolo foi realizado, ajustando-se as cores na função RGB para Vermelho (Mínimo de 71 e Máximo de 255), Verde (Mínimo de zero e Máximo de 69) e azul (Mínimo de 0 e Máximo de 92). Após ajuste, as imagens foram convertidas para a escala de cor de 8-bits (Image > Type > 8-bit), binarizadas (Process > Binary > Make Binary), e foi mensurada a porcentagem de área de colágeno marcada em amarelo avermelhado (correspondente ao colágeno tipo I). Em seguida, do total da área marcada em vermelho, será separado o percentual da região ocupada somente pela marcação amarelo avermelhada. A área verde-esbranquiçada, relativa ao colágeno tipo III, será obtida pela subtração da região total marcada em vermelho e o percentual marcado unicamente pela cor amarelo avermelhada (adaptado de Andrade et al., 2011).

5.10 Análise estatística do colágeno por Picrosirius red

O percentual da lâmina foi dado pela média de todas as imagens. Após avaliação da normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk, foram expressas médias e desvio-padrão de cada subtipo de colágeno, bem como do colágeno total e da razão colágeno I e III, as quais foram correlacionadas com a quantidade de colágeno total por meio dos testes t pareado e correlação de Pearson (dados paramétricos). Todas as análises foram realizadas adotando uma confiança de 95% no software GraphPad Prism 5.0 ($p < 0,05$).

5.11 Preparação da lâmina para imuno-histoquímica com CD31

A preparação das lâminas ocorreu no Laboratório de morfologia da Universidade Federal do Ceará. Os blocos de parafina foram posicionados longitudinalmente no processo de inclusão, realizados cortes de $3\mu\text{m}$ dos espécimes, dispostos em lâminas de vidro silanizadas. Foram confeccionadas um total de 12 lâminas, uma para cada amostra.

Para marcação imuno-histoquímica, cada secção ($3\mu\text{m}$) foi desparafinizada em xilol durante 30 minutos e reidratado com concentrações de álcool. A atividade da peroxidase endógena foi bloqueado com EnVision Flex Peroxidase-Blocking Reagent (Dako®). A recuperação antigênica foi realizada EnVision Flex Target Retrieval Solution High pH 50x (Dako®). O sistema de detecção foi por EnVision Flex/HRP (Dako), por vinte minutos.

Os vasos foram detectados por imuno-histoquímica (IHC) usando um anticorpo comercial contra o antígeno endotelial CD31. (Flex Monoclonal Mouse Anti-human CD31, Endothelial Cell - Clone JC70A, Ready-to-use, Dako®). Esse anticorpo necessitou de ampliação de sinal que foi realizado com Envision Flex Mouse Link (Dako®), por 15 minutos. A técnica foi realizada por sistema de automação Autostainer Plus (Dako automação), onde foram programados todos os tempos de acordo com as informações sugeridas pelo fabricante do antígeno alvo. O anticorpo é ready-to-use, sendo assim não houve diluição. O tempo de incubação foi de vinte minutos, o qual foi sugerido pelo próprio fabricante.

Controles positivos foram processados (junto com material pesquisado) para assegurar resultados confiáveis na técnica imuno-histoquímica. O controle positivo corresponde a um tecido selecionado com o propósito de se obter uma reação positiva definida e este tecido deve conter grandes quantidades do antígeno em estudo (MARINHO, 2003b). Neste estudo utilizaram-se cortes de tecido de placenta para controle positivo.

5.12 Análise da microvascularização por imuno-histoquímica com CD31

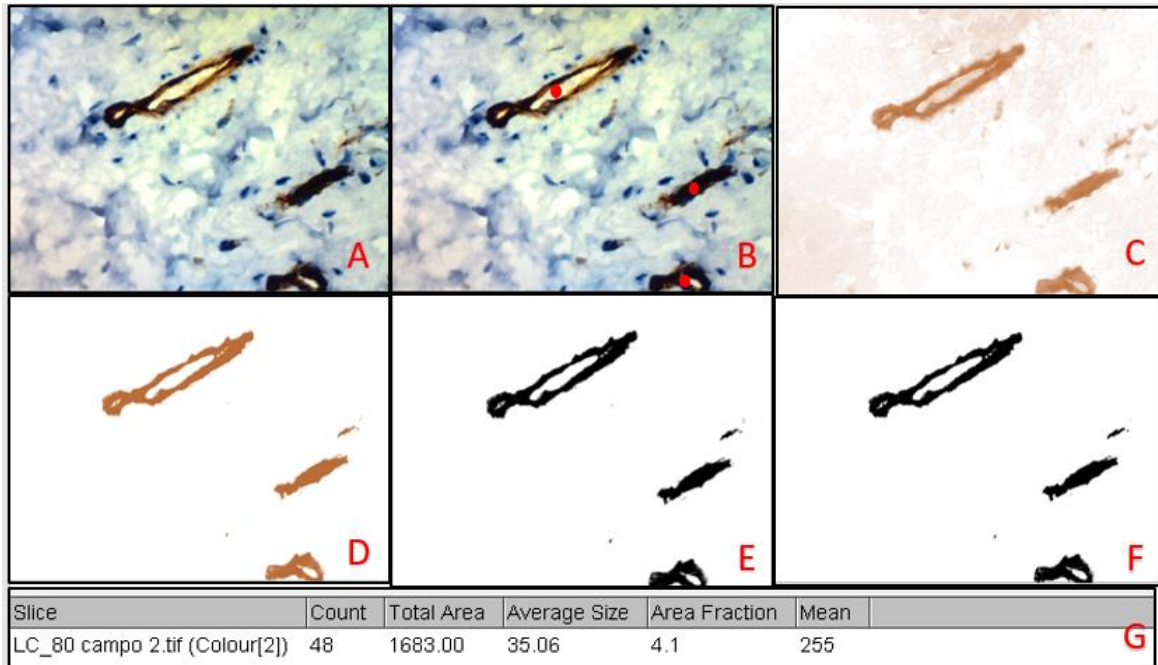
A análise da vascularização foi realizada com técnica descrita por MÁRQUEZ et al., (2015). Os vasos foram detectados por imuno-histoquímica utilizando anticorpo comercial contra o antígeno endotelial CD31 (PECAM-1 Ab-6, clone 1A10, Thermo Fisher Scientific, Fremont, CA, EUA; 1:100 diluição, incubação de 40 min).

Devido possibilidade de características diferentes em relação a vascularização da porção correspondente à inserção meniscal e da porção intrasubstancial do ligamento foram selecionados aleatoriamente por um mesmo patologista três campos na região de inserção meniscal e três campos aleatórios na região intrasubstancial em cada lâmina, com magnificação de 400x. Os campos foram avaliados por um mesmo patologista no Laboratório de Patologia do Centro Universitário Christus. Para contagem de vasos e mensuração de percentual de área de vaso em μm^2 , bem como densidade vascular calculada em vasos/ mm^2 foi utilizado software Image J® (RSB). A área de cada campo óptico em aumento de 400x corresponde a uma área de 0,07 mm^2 .

Na contagem de microvasos foram consideradas as células coradas em marrom, tanto isoladas quanto agrupadas. As estruturas deveriam ser claramente separadas dos microvasos adjacentes e de outros elementos do tecido conectivo. Estruturas ramificadas, que não perdiam a sua continuidade durante o trajeto, foram contadas como vasos únicos; e um único vaso, submetido a mais de um corte transversal foi contado de forma distinta em cada um dos cortes. A visualização do lúmen não foi necessária para identificação dos vasos. (MARINHO, 2003b) O resultado da contagem de micro vasos de cada região foi representado pela média das somatórias dos três campos selecionados.

Para mensuração de área total marcada por CD31 e porcentagem de área marcada por CD31, cada fotomicrografia dos campos selecionados, por meio do software Image J® (RSB), submetida a função HDab para isolar na imagem o que está corado pelo marcador (Plugins > color fuctions > color decovolucion > HDab), aumento do brilho e contraste para isolar o tecido vascular marcado (Image > Adjust > Contrast), conversão da imagem para formato de cor 8-bit (Image > type > 8-bit), binarização da imagem (Process > Binary > Make Binary) para for fim calcular a área total e fração de área (Analyze > Analyze partículas) (Figura 16).

Figura 16 - Análise da microvascularização por meio de imuno-histoquímica com CD31 utilizando software ImageJ; (A) Amostra em aumento 400x sob luz convencional; (B) Contagem de número de vasos; (C) Imagem submetida a função HDab (D) Imagem após ajuste de brilho e contraste; (E) Conversão para escala de cor 8-bit; (F) Imagem binarizada; (G) Análise realizada pelo software.



Forte: De autoria própria

5.13 Análise estatística

Após avaliação da normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk, os resultados foram expressos na forma de médias. A análise dos dados foi realizada utilizando o software GraphPad Prism® (versão 6.0 para Windows®, GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA, 2015). Foram expressas médias e desvio-padrão de cada porção analisada, as quais foram correlacionadas por meio dos testes t pareado e correlação de Pearson (dados paramétricos).

6 RESULTADOS

Foram coletados 12 ligamentos provenientes de seis doadores, em todos os casos foi coletado o ligamento de ambos os joelhos. A amostra foi composta por 83,3% (n = 10) ligamentos provenientes de doadores do sexo masculino e 16,7% (n = 2) provenientes de uma doadora do sexo feminino. A média de idade dos doadores foi de $39,67 \pm 20,42$ anos (20 – 72 anos). Em todas as amostras foi realizada aferição de largura, comprimento espessura e peso, sendo encontradas as médias de 30,2 mm ($\pm 1,18$), 7,10 mm ($\pm 1,11$), 3,44 mm ($\pm 0,25$) e 0,62 gramas ($\pm 0,10$), respectivamente (Tabela 1).

TABELA 1 - Sexo, idade dos doadores e dimensões macroscópicas dos ligamentos

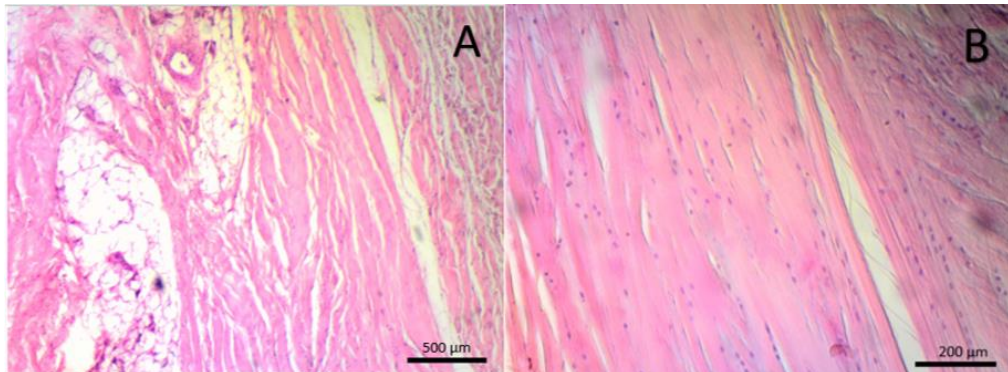
Amostra	Sexo do doador	Idade	Largura	Comprimento	Espessura	Peso
1	Masculino	72	30,00	8,30	3,5	0,68
2	Masculino	72	29,00	9,00	3,8	0,67
3	Masculino	60	33,00	4,50	3,2	0,59
4	Masculino	60	31,50	6,50	3,5	0,81
5	Masculino	35	29,50	7,00	3,3	0,74
6	Masculino	35	30,50	8,00	3,1	0,57
7	Feminino	29	29,50	6,50	3,2	0,52
8	Feminino	29	29,00	7,50	3,2	0,47
9	Masculino	20	29,50	6,00	3,3	0,46
10	Masculino	20	30,00	7,50	3,5	0,56
11	Masculino	22	29,50	7,00	3,8	0,68
12	Masculino	22	31,70	7,50	3,9	0,76
Média		39,67	30,2	7,10	3,44	0,62
\pm DP		$\pm 20,42$	$\pm 1,18$	$\pm 1,11$	$\pm 0,25$	$\pm 0,10$

Fonte: De autoria própria

Legenda: Idade em anos, medidas em milímetros, peso em gramas

As amostras após coloração HE evidenciaram fibras colágenas densas organizadas de forma linear ao longo do tecido (figura 17).

Figura 17 - Lâminas coradas em HE demonstrando organização do tecido conjuntivo.

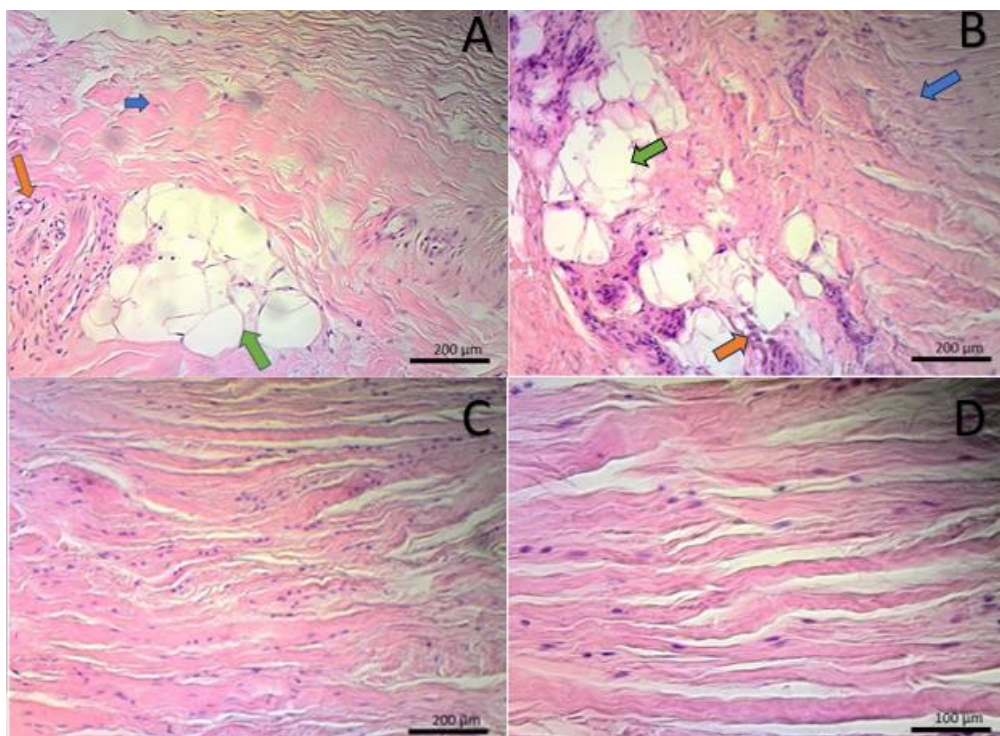


Fonte: De autoria própria

Legenda: (A) aumento 4x (B) aumento 100x

Na porção intrasubstancial observaram-se fibras colágenas dispostas de maneira organizada e baixa celularidade tecidual. Na porção ligamentar de inserção meniscal, observou-se presença de tecido adiposo com aumento da celularidade local relacionada à presença aumentada de vasos sanguíneos em relação à porção intrasubstancial (Figura 18 e Figura 19).

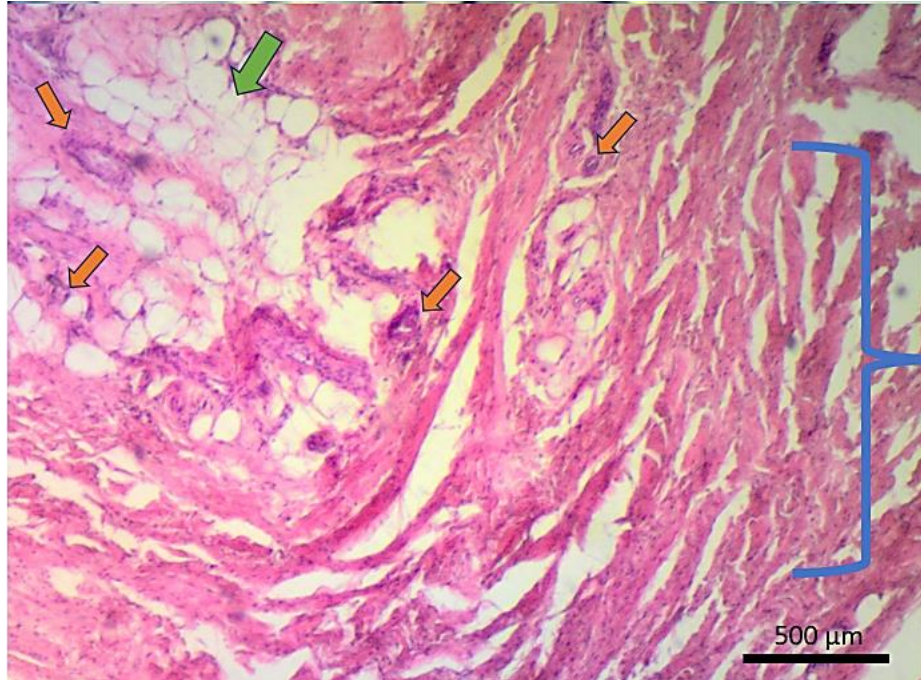
Figura 18 –Análise histológica do Ligamento meniscotibial medial por meio de coloração de Hematoxilina e Eosina; (A) e (B) Inserção meniscal onde observa-se tecido adiposo e presença de vasos próximo a esse tecido; (C) e (D) Porção intrasubstancial do ligamento.



Fonte: De autoria própria

Legenda: seta verde: tecido adiposo, seta laranja: vasos sanguíneos; seta azul: tecido conjuntivo organizado. A, B e C em aumento 100x e D em aumento 200x;

Figura 19 – Figura 18B em maior aumento evidenciando maior quantidade de vasos sanguíneos junto à região de tecido adiposo

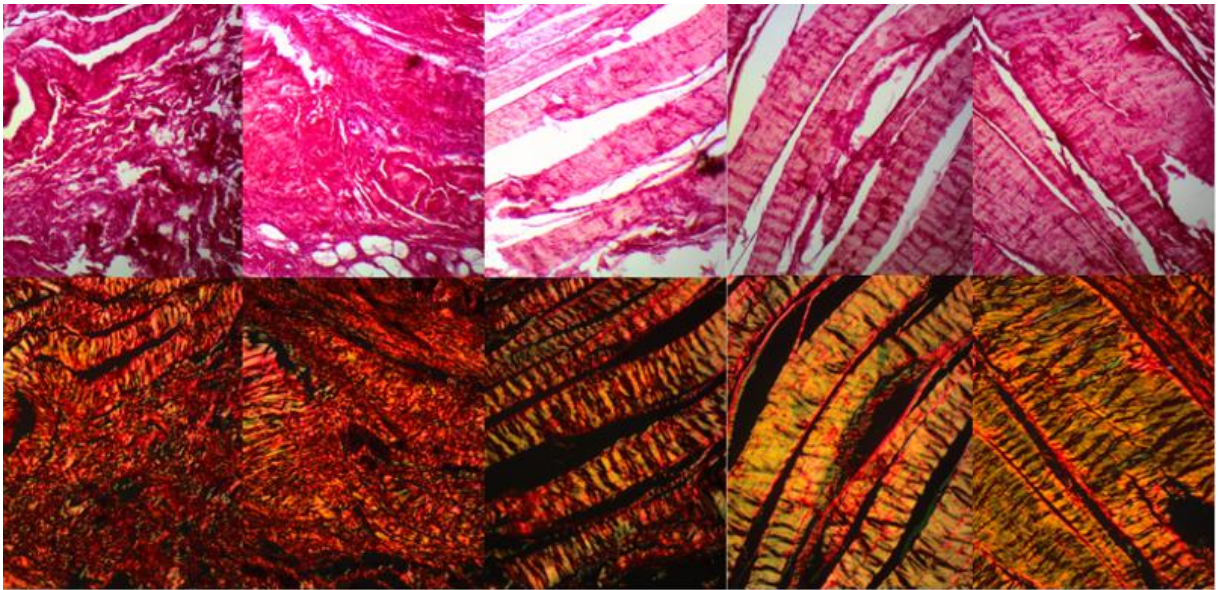


Fonte: De autoria própria

Legenda: setas laranjas: vasos sanguíneos; seta verde: tecido adiposo; chave azul: área de predomínio de tecido conjuntivo. Lâmina corada por Hematoxilina e Eosina em aumento 4x

A análise qualitativa quanto a estrutura de colágeno por meio de coloração Picosirius Red evidenciou estruturas com predominância de colágeno tipo I em relação ao colágeno tipo III (Figura 20).

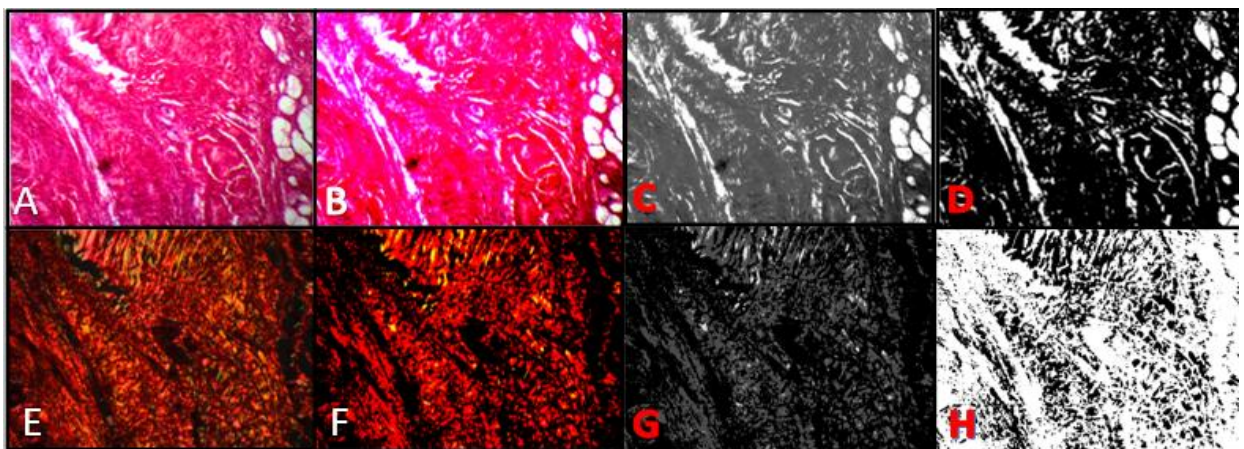
Figura 20 - Campos aleatórios de uma mesma amostra corada com Picrosirius red fotografados sob luz convencional (linha superior) e sob luz polarizada (linha inferior correspondente)



Forte: De autoria própria
 Legenda: Aumento de 400x

Na análise quantitativa utilizou-se do Software ImageJ para calcular a quantidade de colágeno total e de colágeno tipo I, o qual observou-se ser qualitativamente predominante, para então definir a percentagem de colágeno tipo I e Tipo III (Figura 21).

Figura 21 - Análise quantitativa de colágeno utilizando software ImageJ. (A) Amostra sob luz convencional; (B) Imagem após ajuste de cores e contraste; (C) Imagem convertida para escala de cor 8-bit; (D) Imagem binarizada; (E) Mesmo campo sob luz polarizada; (F) Ajuste de cores para evidenciar colágeno tipo I; (G) Imagem convertida para escala de cor 8-bit; (H) Imagem binarizada.



Forte: De autoria própria
 Legenda: aumento 400x

A análise quantitativa da matriz de colágeno evidenciou uma relação de colágeno tipo I em relação ao tipo III de 3,86 ($\pm 3,07$) [$p < 0,001$] conforme evidencia a Tabela 2 e o Gráfico 1.

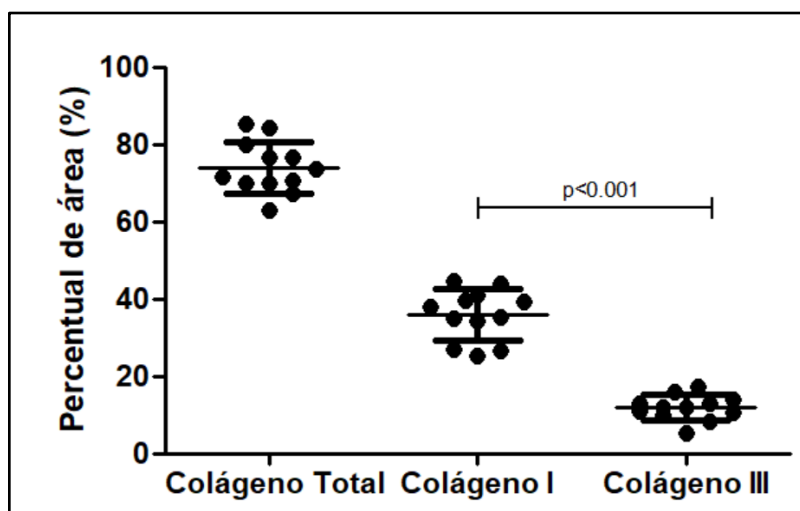
Tabela 2 - Porcentagem de área de colágeno tipo I e tipo III em cada amostra e a proporção entre os tipos de colágeno em cada amostra

Amostras	Tipos de colágeno			Razão I/III
	Colágeno Total	Colágeno I	Colágeno III	
1	76,70	44,82	13,98	3,22
2	85,20	34,84	16,05	2,12
3	79,88	39,78	13,12	2,98
4	62,96	38,08	5,17	5,44
5	67,32	44,00	8,19	13,22
6	71,62	35,42	11,92	3,06
7	73,72	25,40	10,75	2,16
8	84,26	40,98	17,44	2,36
9	69,86	26,70	10,10	2,51
10	76,80	39,48	13,06	3,39
11	70,76	27,14	11,85	2,80
12	69,96	34,40	11,10	3,08
Média \pm DP	74,09 \pm 6,72	35,92 \pm 6,60	11,89 \pm 3,30	3,86 \pm 3,07*

Fonte: De autoria própria

Legenda: *[$p < 0,001$] teste t pareado

Gráfico 1 - Média de percentual de colágeno total e subtipos I e III em amostras de ligamento meniscotibial medial



Fonte: De autoria própria

Legenda: * $p < 0,001$, teste t pareado

Quando analisada a proporção colágeno tipo I e Tipo III em relação a idade dos cadáveres utilizando os extremos de idade das amostras, não houve significância estatística conforme Tabela 3.

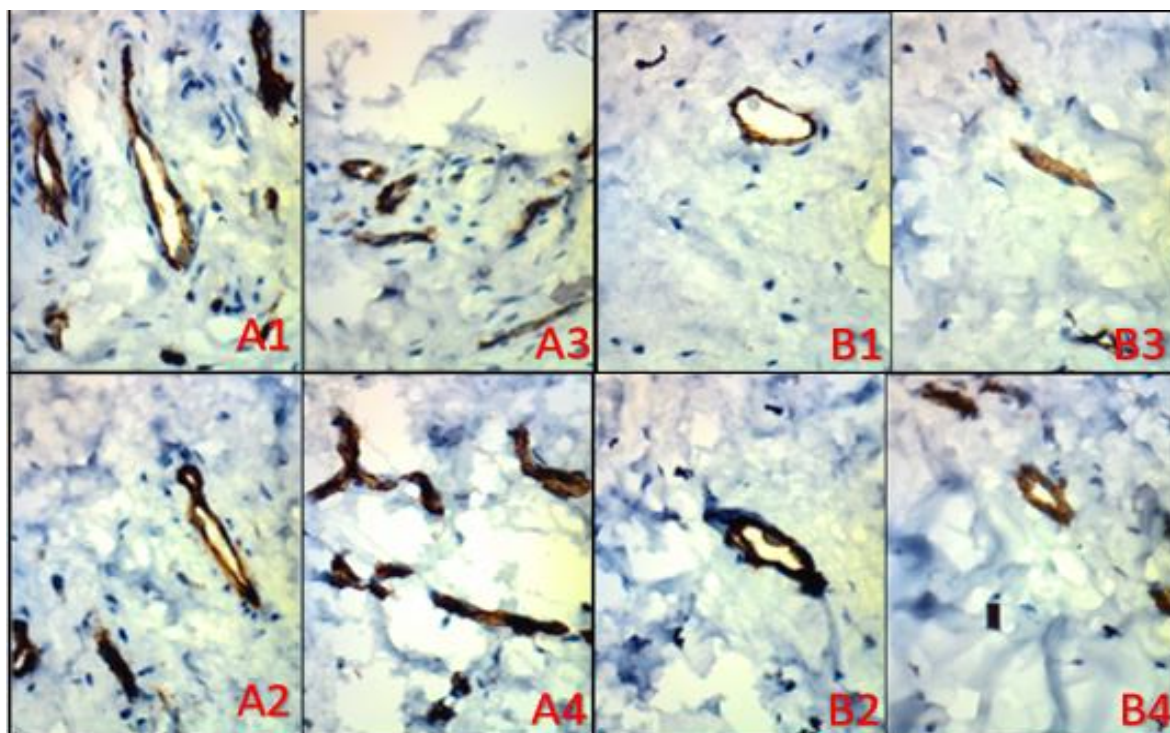
Tabela 3 – Proporção de colágeno Tipo I/III em relação faixa etária em subgrupos nos extremos de idade da casuística

	Colágeno total	Colágeno I	Colágeno III	Razão I/III
Grupo 1 (>60a) amostra 1	76,70	44,82	13,98	3,22
Grupo 1 (>60a) amostra 2	85,20	34,84	16,05	2,12
Grupo 1 (>60a) amostra 3	79,88	39,78	13,12	2,98
Grupo 1 (>60a) amostra 4	62,96	38,08	5,17	5,44
Média±DP	76.19±9.49	39.38±4.17	12.08±4.77	3.44±1.41
Grupo 2 (<25a) amostra 1	69,86	26,70	10,10	2,51
Grupo 2 (<25a) amostra 2	76,80	39,48	13,06	3,39
Grupo 2 (<25a) amostra 3	70,76	27,14	11,85	2,80
Grupo 2 (<25a) amostra 4	69,96	34,40	11,10	3,08
Média±DP	71.85±3.33	31.93±6.15	11.53±1.25	2.95±0.38
p-Valor	0,421	0,092	0,830	0,523

Fonte: De autoria própria; Legenda: * $p < 0,001$, teste t de Student

A análise qualitativa da microvascularização por meio de imuno-histoquímica com CD31 evidenciou presença de maior quantidade de vasos sanguíneos na região de inserção ligamentar em relação à porção intrasubstancial (Figura 22).

Figura 22- Cortes de imuno-histoquímica com CD31 do ligamento meniscotibial medial. (A1, A2, A3, A4) porção de inserção meniscal; (B1, B2, B3, B4) porção intrasubstancial.



Fonte: De autoria própria

Legenda: Tecido endotelial vascular marcado em cor marrom; Aumento 400x

A análise quantitativa da microvascularização dos ligamentos evidenciou em relação a quantidade de vasos, na porção intrasubstancial média de $2,36 \pm 0,61$ vasos/campo e na porção de inserção junto ao menisco média de $5,19 \pm 1,67$ vasos/campo. A porcentagem de área média marcada por CD31 na porção intrasubstancial foi de $3,07 \pm 0,92\%$ e na porção de inserção junto ao menisco de $3,7 \pm 1,29\%$. Quando avaliada a área marcada em μm^2 obteve-se na porção intrasubstancial média de $1267,26 \pm 386,53 \mu\text{m}^2$ e na porção de inserção junto ao menisco média de $1520,55 \pm 533,61 \mu\text{m}^2$. A análise da área média dos vasos exibiu na porção intrasubstancial média de $596,42 \pm 352,47 \mu\text{m}^2$ e na porção de inserção junto ao menisco média de $334,47 \pm 165,58 \mu\text{m}^2$. Por fim, em relação à média de densidade microvascular, na porção intrasubstancial foi de $33,71 \pm 8,7$ vasos/ mm^2 . e na porção de inserção junto ao menisco foi de $74,14 \pm 23,85$ vasos/ mm^2 . Todos os dados foram compilados na Tabela 4.

Tabela 4 - Análise da microvascularização da porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial por meio de imuno-histoquímica com CD31.

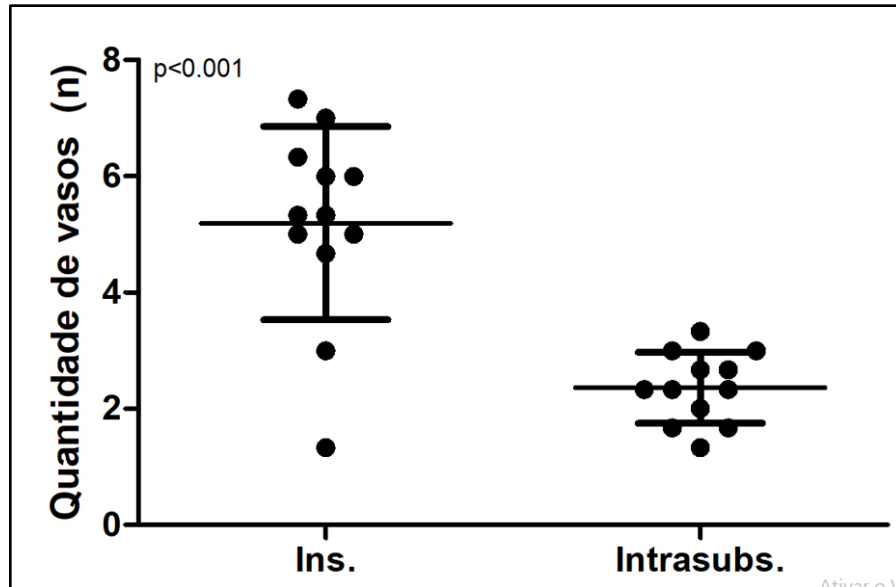
Am.	Quantidade de vasos/campo		Área marcada (%)		Área marcada (μm^2)		Área média dos vasos (μm^2)		Densidade Vascular (vasos/ mm^2)	
	Ins.	Sub.	Ins.	Sub.	Ins.	Sub.	Ins.	Sub.	Ins.	Sub.
1	7,33	3,33	2,77	2,90	1105,86	1192,48	150,80	357,74	104,71	47,57
2	7,00	1,67	3,60	2,43	1478,47	1003,37	211,21	602,02	100	23,85
3	5,33	2,67	5,00	1,87	2006,62	759,18	376,24	284,69	76,14	38,14
4	6,00	1,67	1,43	2,80	588,47	1150,50	98,08	690,30	85,71	23,85
5	5,00	2,00	5,40	3,73	2221,51	1538,71	444,30	769,36	71,42	28,57
6	3,00	2,33	3,73	3,10	1549,92	1245,30	516,64	533,70	42,85	33,28
7	4,67	3,00	2,63	3,70	1079,4	1507,73	231,30	502,58	66,71	42,85
8	5,33	2,33	4,23	2,47	1725,47	1038,25	323,53	444,97	76,14	33,28
9	1,33	1,33	2,23	5,17	911,56	2151,87	683,67	1613,90	19	19
10	5,00	2,67	4,87	3,93	2021,28	1646,10	404,26	617,29	71,42	38,14
11	6,33	3,00	5,27	2,67	2208,70	1106,57	348,74	368,86	90,42	42,85
12	6,00	2,33	3,23	2,10	1349,25	867,11	224,88	371,62	85,71	33,28
Média	5,19	2,36	3,70	3,07	1520,55	1267,26	334,47	596,42	74,14 ±	33,71
±DP	±1,67	±0,61	±1,29	±0,92	±533,61	±386,53	±165,58	±352,47	23,85	± 8,7
p-Valor	<0,001		0,238		0,247		0,008		<0,001	

Fonte: De autoria própria

Legenda: Ins: porção ligamentar de inserção junto ao menisco; Sub: porção ligamentar intrasubstancial, Am: amostra. P-valor: teste t pareado

A quantidade de vasos por campo óptico exibiu um valor bem maior em região de inserção meniscal em relação a porção intrasubstancial, proporção também observada na densidade microvascular encontrada (Gráfico 2 e 3).

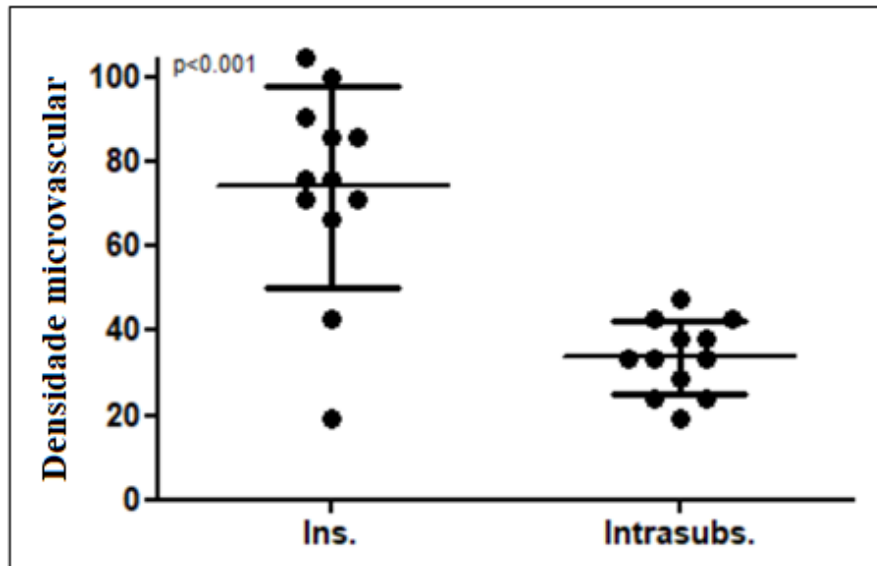
Gráfico 2 - Quantidade de vasos marcados por meio de imunohistoquímica com CD31 na porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial



Fonte: De autoria própria

Legenda: Ins.: porção de inserção meniscal; Intrasubs.: porção intrasubstancial.
 $p < 0,001$, teste t pareado

Gráfico 3 - Densidade microvascular na porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial

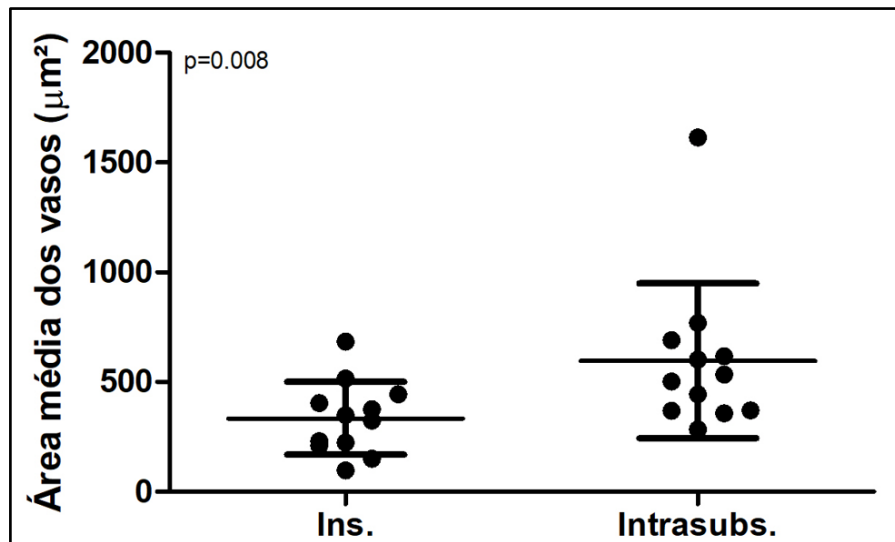


Fonte: De autoria própria

Legenda: Ins.: porção de inserção meniscal; Intrasubs.: porção intrasubstancial.
 Densidade microvascular em vasos/mm². $p < 0,001$, teste t pareado

Quando avaliada a área média dos vasos (μm^2), na porção intrasubstancial houve uma maior quantidade de área vascular marcada em relação à porção relativa à inserção. [p=0,008] (Gráfico 4).

Gráfico 4 - Área média dos vasos marcados por meio de imunohistoquímica com CD31 na porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial

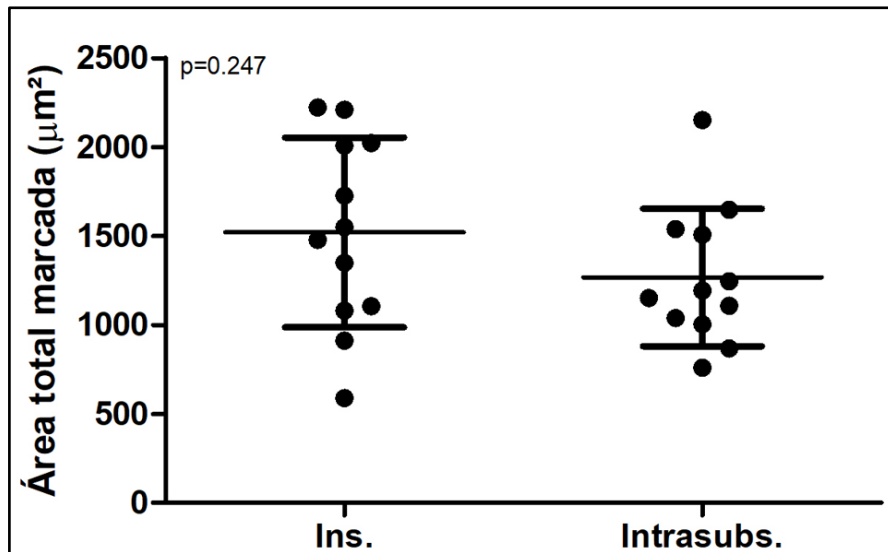


Fonte: De autoria própria

Legenda: Ins.: porção de inserção meniscal; Intrasubs.: porção intrasubstancial.
p=0,008, teste t pareado

Na análise do percentual de área marcada por tecido vascular e área marcada por tecido vascular em μm^2 , em números absolutos houve uma tendência a observar maior área na região de inserção, porém não houve significância estatística (Gráfico 5 e 6).

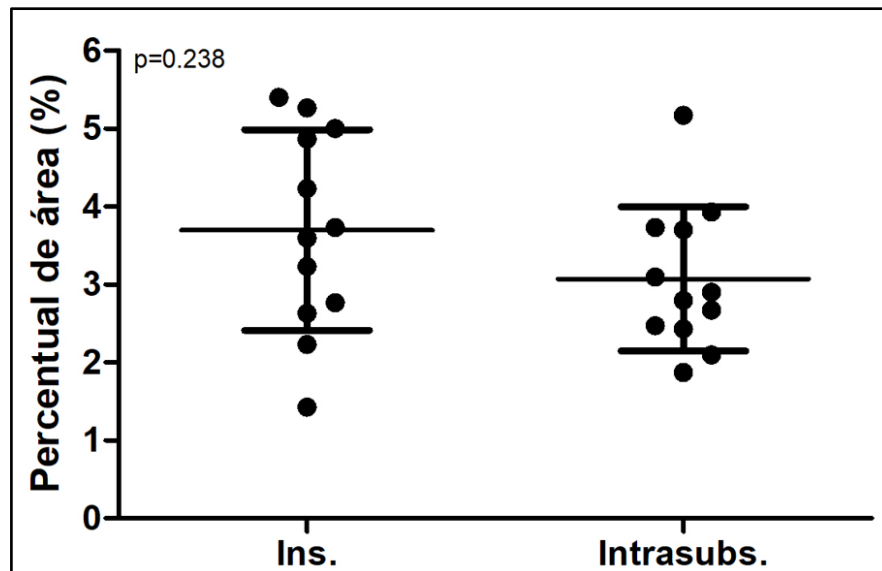
Gráfico 5: Área total marcada por meio de imuno-histoquímica com CD31 na porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial



Fonte: De autoria própria

Legenda: Ins.: porção de inserção meniscal; Intrasubs.: porção intrasubstancial.
 $p=0,247$, teste t pareado

Gráfico 6: Percentual de área marcada por meio de imuno-histoquímica com CD31 na porção de inserção meniscal e intrasubstancial do ligamento meniscotibial medial



Fonte: De autoria própria

Legenda: Ins.: porção de inserção meniscal; Intrasubs.: porção intrasubstancial.
 $p<0,238$, teste t pareado

5 DISCUSSÃO

O principal achado desta pesquisa refere-se ao aumento da densidade microvascular na região de inserção meniscal quando comparada a porção intrasubstancial do ligamento. A descrição detalhada da anatomia macro e microscópica de um ligamento permite inferir sobre o comportamento biomecânico bem como sobre o resultado esperado diante de uma intervenção cirúrgica. Por conseguinte, a descrição da composição de matriz de colágeno e microvascularização do LMTM possibilita a discussão sobre as condutas tomadas atualmente em relação a lesão deste ligamento e permite refinar a técnica cirúrgica utilizada.

A anatomia do Ligamento Meniscotibial foi abordada de maneira pioneira em 1984 por El-khoury; Usta; Berger (1984), neste estudo o LMTM foi identificado em todas as amostras dissecadas, com o relato de fácil identificação do ligamento. O LMTM também foi identificado em todas as amostras em outros estudos anatômicos realizados nos últimos anos (ALENCAR NETO, 2022; CAVAINAC et al., 2021; DEPHILLIPO et al., 2019; LAPRADE et al., 2007; ALENCAR NETO et al., 2023b; ŚMIGIELSKI et al., 2015). No entanto, o ligamento meniscotibial medial estava presente em somente 23,5% dos 85 joelhos examinados por Bezerra et al., (2007) e houve um estudo realizado em 2020 que não encontrou estrutura correspondente ao LMTM em nenhum dos dez joelhos estudados (DI FRANCIA et al., 2020). Nossos achados corroboram com a presença do LMTM em 100% das amostras dissecadas.

Na maior parte dos estudos anatômicos realizados a técnica de dissecação não é citada (DEPHILLIPO et al., 2019; EL-KHOURY; USTA; BERGER, 1984; LAPRADE et al., 2007; ŚMIGIELSKI et al., 2015). A dissecação do LMTM é outrora citada como difícil por se tratar de uma estrutura de limites e dimensões imprecisas (BEZERRA et al., 2007). Di Francia et al (2020), optaram por técnica de dissecação com paciente em prona e acesso cirúrgico posterior no joelho sendo realizada dissecação por planos até ser encontrada a região posterior do menisco medial que foi retirada em bloco. Cavaignac et al (2021) optaram por extenso acesso anterior para que, após dissecação por planos, a região posteromedial do joelho fosse retirada em bloco. Por fim, em 2023, Alencar Neto et al. descreveram técnica por meio de acesso posteromedial ao joelho de forma detalhada com objetivo de alcançar uma ótima reprodutibilidade para fins de pesquisa. Neste estudo foi utilizada a técnica de dissecação descrita por Alencar Neto et al (2023) que proporcionou identificação fácil, rápida e assertiva do LMTM, com curva de aprendizado satisfatória para o desenvolvimento da pesquisa. É possível que a técnica de dissecação utilizada tenha influência nos resultados encontrados, proporcionando a identificação do LMTM em 100% das dissecações neste estudo.

Convém citar que à semelhança do estudo desenvolvido por ALENCAR NETO et al., 2023b os joelhos dissecados nesta pesquisa foram provenientes de cadáveres frescos possibilitando maior facilidade na identificação de tecidos por não terem passado por processo de embalsamento. A dissecação realizada sem processo de embalsamento permite que a técnica seja executada em tecidos mais maleáveis e viçosos além de menos ressecados e aderidos as estruturas subjacentes. Todos os outros trabalhos encontrados na literatura foram realizados com cadáveres congelados o que pode ter contribuído para a não identificação do LMTM na totalidade das amostras como também influenciado na dificuldade técnica encontrada.

Laprade et al (2007) não descreve o Ligamento meniscotibial como uma estrutura independente e sim como um afilamento do ligamento colateral tibial. No que se refere a inserção meniscal, ŚMIGIELSKI et al. (2015) e Cavaignac et al (2021) descrevem inserção própria e isolada do LMTM, porém há também na literatura referência a uma inserção única do LMTM e do Ligamento meniscocapsular no corno posterior do menisco após essas estruturas se fundirem em localização justainsercional (DEPHILLIPO et al., 2019; DI FRANCIA et al., 2020). Nossos achados durante a dissecação corroboram com a afirmação de o LMTM ser uma estrutura independente com uma inserção isolada no corno posterior do menisco.

Poucos estudos fazem referência à anatomia macroscópica do LMTM, na dissecação realizada em 2015 por Smigielski et al. o comprimento do ligamento foi estimado entre 7 – 10 mm, Dephillipo et al. (2019) encontraram o comprimento com uma média de 5.9 mm \pm 1.3 mm (variando de 3.7-8.0 mm), sem menção a outras grandezas de medidas. Recentemente o LMTM foi avaliado macroscopicamente em relação a todas as dimensões apresentando comprimento médio de 7,07 \pm 1,34 mm, largura de 32,25 \pm 3,09 mm, espessura de 3,53 \pm 0,27 mm e peso de 0,672 \pm 0,134 g (ALENCAR NETO et al., 2023). Quanto ao comprimento, nossos achados corroboram com os estudos anteriores, com uma média de 7,10 mm (\pm 1,11). Em relação as outras unidades de medida, nossos achados são de mensurações ligeiramente menores que as encontradas por Alencar Neto et al. (2023) sendo encontradas médias de largura de 30,2 mm (\pm 1,18), espessura de 3,44 mm (\pm 0,25) e peso 0,62 gramas (\pm 0,10).

A análise histológica por meio da coloração de HE foi realizada em todos os estudos que se propuseram a descrever o LMTM histologicamente. A descrição inicial foi de um tecido fibroso que conecta o menisco medial a tibia. (EL-KHOURY; USTA; BERGER, 1984) Em 2015, Smigielski et al. descreveram como uma estrutura formada por tecido conjuntivo frouxo que liga o menisco a tibia. Posteriormente houve análises mais detalhadas, demonstrando fibras longas organizadas linearmente (CAVAIGNAC et al., 2021; DEPHILLIPO et al., 2019) Em 2020, Di Francia et al. descreveram fibras colágenas soltas parcialmente orientadas, mas não

paralelas citando também uma rede com alguns fibroblastos com núcleos redondos e adipócitos entre o segmento posterior do menisco medial e a borda posterior do planalto tibial medial além de observarem vários capilares na junção meniscosinovial. Finalmente em 2022, Alencar Neto descreve fibras colágenas densas e bem organizadas, típico de estrutura ligamentar, além da presença de tecido vascular. Nossa casuística discorda da organização tecidual descrita por Di Francia et al, pois evidenciamos estrutura formada por fibras colágenas orientadas e paralelas, possuindo baixa celularidade em sua porção intrasubstancial e com aumento desta celularidade próximo à inserção meniscal sobretudo pela maior presença de microvasos nesta região. O aumento da densidade vascular observada na inserção meniscal corrobora com o citado por Di Francia et al. (2020) e Alencar Neto (2022).

Somente DePhillipo et al (2019) utilizaram outra coloração além de Hematoxilina e Eosina na análise histológica do LMTM, por meio da coloração de Alcian Blue visualizaram a expressão de glicosaminoglicanos nas inserções meniscocapsulares e meniscotibiais sugerindo que, devido expressão semelhante, não haveria diferença qualitativa na composição de suas matrizes de colágeno. Até a finalização desta pesquisa, não foi encontrada na literatura descrição da composição da matriz de colágeno do LMTM.

Em 2018, a composição de colágeno da banda anterior do ligamento glenoumeral inferior foi estudada por Chagas. Por meio do método de coloração por Picrosirius Red foram analisados quatro ligamentos provenientes de cadáveres de fetos concluindo haver uma maior presença de colágeno tipo I em relação ao tipo III, descritos percentuais médios de colágeno tipo I (51,12% a 80,75% com uma média de 67,93%) e colágeno tipo III (19,25% a 48,88% com média de 32,07%). Por meio da mesma técnica histológica observou-se em nossa casuística a predominância de colágeno Tipo I em relação ao colágeno tipo III nos ligamentos meniscotibiais mediais, em uma razão colágeno I/III de 3,86 (\pm 3,07). Os percentuais encontrados por Chagas foram mais amplos dos que os encontrados em nossa amostragem, cuja média de colágeno tipo I foi 35,92% (\pm 6,60%) e colágeno tipo III 11,89% (\pm 3,30%). O fato de o estudo ter sido realizado com ligamentos provenientes de fetos pode contribuir para uma variabilidade maior nos achados além disso a ausência de relação colágeno tipo I/tipo III dificulta uma comparação mais fidedigna.

Leitão Júnior (2024) analisou a histomorfometria do colágeno em dez ligamentos cruzado anterior provenientes de fetos humanos. O ligamento foi dividido em três porções e encontraram prevalência de colágeno tipo I em relação ao tipo III em todas com razão tipo I/III de 5,87, 3,38 e 4,63 em cada porção estudada. A razão entre os tipos de colágeno encontradas em nosso estudo ($3,86 \pm 3,07$) assemelha-se a proporção encontrada no LCA.

Em estudo realizado em 2019, um dos objetivos era avaliar a estrutura de colágeno do tendão no músculo fibular longo em diferentes grupos etários, sendo assim foram analisados um total de 60 ligamentos, e apesar da predominância do colágeno tipo I em relação ao tipo III prevalecer em todos os grupos etários, houve aumento significativo da presença do colágeno tipo III com o avançar da idade (RIBEIRO, 2019). No presente estudo a proporção de colágeno tipo I/ tipo III nas amostras foi mantida apesar de haver grande variabilidade de idade entre os cadáveres (20 – 72 anos). Quando analisadas somente amostras provenientes de cadáveres nos extremos de idade de nossa casuística (> 60 anos e < 25 anos), não foi observada diferença estatisticamente significativa na composição de matriz colágena entre os grupos. É possível que para esta avaliação quanto a idade seja necessário um espaço amostral maior semelhante ao utilizado por Ribeiro (2019).

Em relação a microvascularização do LMTM, DI FRANCIA et al., (2020) encontraram muitos capilares na junção meniscosinovial concluindo que devido os numerosos capilares e o colágeno que encontramos nesta área a cicatrização das lesões em rampa é teoricamente possível e a fixação cirúrgica destas lesões pode não ser necessária. CAVIGNAC et al., (2021) não citaram vascularização específica em relação ao LMTM, porém descreveram existir atrás do corno posterior do menisco medial e na frente do tecido capsular uma área particularmente bem vascularizada de tecido adiposo constituindo um plano intermediário entre as estruturas. Alencar Neto (2022) citou qualitativamente a presença de tecido vascular durante análise histológica do LMTM.

Neste estudo foi avaliada a microvascularização do LMTM, evidenciando presença de maior concentração de vasos em região de inserção meniscal, associada a presença de tecido adiposo, quando comparada à região intrasubstancial ligamentar. Apesar do número crescente de publicações sobre o Ligamento Meniscotibial medial devido sua relação com as lesões em rampa, até a data de finalização deste estudo a análise quantitativa da microvascularização do ligamento não foi discutida na literatura.

Um dos primeiros estudos acerca da microvascularização de tendões por meio de imuno-histoquímica com CD31 foi realizado em 2003. Nesta pesquisa, o tendão flexor profundo dos dedos foi avaliado em diferentes áreas sendo o index vascular calculado com base na área média do vaso em relação a área de campo óptico observada. Concluíram este método ser reprodutível e bastante eficiente para avaliar a microcirculação de tendões (HARRISON et al., 2003).

Butt et al., (2020) analisaram por meio de método imuno-histoquímico com CD34 a microvascularização do Ligamento Cruzado Anterior sem lesão, com ruptura parcial e ruptura

total. Descreveram qualitativamente a presença de microvasos em abundância nos ligamentos lesionados e ausência de marcação pelo CD34 no ligamento hígido, concluindo haver possibilidade de maximizar o potencial de cicatrização do ligamento se o reparo cirúrgico for realizado de forma precoce. Em nossa casuística foram analisados somente ligamentos hígidos, nos quais foi possível observar aumento da vascularização na porção relativa à inserção meniscal, porém diferente do descrito para o LCA também foi encontrada presença de microvasos – ainda que em menor quantidade – em porção intrasubstancial do LMTM.

Sabe-se que o processo cicatricial de variados tendões e ligamentos não depende apenas dos fatores intrínsecos das estruturas. Por meio de imuno-histoquímica com CD34 e outros marcadores o epi ligamento do LCA e do Ligamento colateral tibial foram estudados e ratificaram o papel essencial da estrutura microvascular do epi ligamento no processo de cicatrização do Ligamento colateral tibial e provável influência na falha de cicatrização do LCA (GEORGIEV et al., 2022). O LMTM por outro lado, é um ligamento que não possui epi ligamento, de modo que não pode ter seu processo de cicatrização relacionado diretamente com outros ligamentos do joelho que o possuem.

MÁRQUEZ et al., (2015) com objetivo de avaliar a microvascularização do tendão do glúteo médio por meio de imuno-histoquímica com CD31 estudaram 12 tendões e identificaram haver microvascularização mais densa em região de inserção musculotendínea (87.2 ± 25.5 vasos/mm²) e inserção osteotendínea ($68,6 \pm 18,9$ vasos/mm²) em relação à porção intrasubstancial do tendão ($57,9 \pm 20,1$ vasos/mm²). Dentre os achados desta pesquisa, a densidade capilar na região de inserção meniscal foi de $74,14 \pm 23,85$ vasos/mm² enquanto na região intrasubstancial a densidade capilar foi de $33,71 \pm 8,7$ vasos/mm², quando comparada a microvascularização encontrada no tendão do glúteo médio observamos que o LMTM tem densidade vascular elevada em região de inserção meniscal, porém em região intrasubstancial a vascularização é escassa. Infere-se então que o potencial de cicatrização destas estruturas, no que se refere as lesões em rampa, é elevado já que estas lesões ocorrem em área de inserção meniscal.

Apesar da densidade vascular elevada nesta porção ligamentar, estudos biomecânicos em cadáveres relativos à lesão do LMTM associada a lesão do LCA concluem haver aumento da instabilidade do joelho quando as duas lesões ocorrem juntas o que sustenta a conduta atual de reparo das lesões em rampa diagnosticadas durante artroscopia de joelho. (DEPHILLIPO et al., 2018; MEHL et al., 2019; SMITH et al., 2021) É necessário então compreender se a provável cicatrização macroscópica do LMTM devido elevada densidade microvascular ocorre sem restituir totalmente a função biomecânica do ligamento, pois isto

ratificaria a necessidade de reparo para reestabelecer a função completa do LMTM e consequentemente diminuir o número de re-rupturas de LCA. Caso contrário, a busca ativa pela lesão em rampa e reparo cirúrgico realizados atualmente durante a reconstrução do LCA estariam sendo procedimentos que acarretam maior tempo cirúrgico - e todas as possíveis complicações que o aumento de tempo cirúrgico gera - sem necessariamente mudar a história natural da doença que evoluiria para cicatrização e restituição biomecânica.

Como possível limitação aos resultados encontrados tem-se o número de amostras estudadas, no entanto acreditamos ter um espaço amostral – 12 ligamentos - semelhante a maioria dos estudos anatômicos encontrados na literatura. Laprade et al. (2007) Realizaram o estudo com oito amostras. El Khoury et al (1984) utilizaram dez joelhos, sendo quadro provenientes de adultos e seis de fetos. Outras pesquisas também utilizaram 10 amostras para desenvolver suas análises. (DI FRANCIA et al., 2020; PELTIER et al., 2015), dois estudos com 14 amostras (CAVAIGNAC et al., 2021; DEPHILLIPO et al., 2019) e finalmente Alencar Neto et al. (2023) que coletaram 20 Ligamentos para desenvolver seu estudo. O único estudo com número de amostras que está bastante acima da média foi o de Bezerra et al. (2007) com 85 joelhos examinados.

A principal limitação apresentada pela pesquisa refere-se ao fato de haver poucos estudos na literatura atual abordando a estrutura de matriz de colágeno de ligamentos e nenhum estudo relacionado a microvascularização dos LMTM, somando-se ao fato de que grande parte dos estudos disponíveis acerca dos referidos temas terem sido realizados em tendões e não em ligamentos, o que dificulta a discussão dos resultados encontrados.

Diante dos achados dessa pesquisa é desejável que no futuro sejam realizados estudos que busquem avaliar a evolução clínica de pacientes que, na presença de lesão do LMTM, foram submetidos a reconstrução do LCA com reparo do LMTM e sem reparo do LMTM. Desta forma os achados anatômicos aqui explicitados poderão ser confrontados com a repercussão clínica de optar pelo reparo ou não do LMTM, presença de instabilidade residual no joelho, taxa de re-ruptura do LCA, incidência de dor pós-operatória entre outros dados que possam contribuir para estabelecer uma conduta assertiva em relação à necessidade de reparo cirúrgico da lesão do LMTM bem como refinar a técnica cirúrgica utilizada caso seja mantida a necessidade de reparo das lesões.

6 CONCLUSÃO

Diante dos achados desta pesquisa, conclui-se que:

- a) O LMTM é uma estrutura fibrosa presente em todos os indivíduos, que se insere no corno posterior do menisco medial e na face posterior da tibia, possuindo largura maior que o comprimento.
- b) Quanto a histologia, o ligamento meniscotibial medial é formado por fibras colágenas densas e bem organizadas, com presença de microvasos em maior quantidade junto a inserção meniscal.
- c) A análise da matriz de colágeno por meio do Método de coloração por Picrosirius Red é satisfatória, evidenciando que o LMTM apresenta predominância de colágeno Tipo I em relação ao Tipo III.
- d) A avaliação da microvascularização por meio de método Imuno-histoquímico com anticorpo CD31 é eficaz em identificar a densidade vascular de um ligamento. Por meio deste método o LMTM exibiu microvascularização mais densa em região de inserção meniscal e escassa em porção intrasubstancial.

REFERÊNCIAS

ABREU, F. G. et al. Incidência de lesões da rampa meniscal nas reconstruções do ligamento cruzado anterior. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 57, n. 03, p. 422–428, 20 jun. 2022.

ALENCAR NETO, J. B. DE. **ANÁLISE DOS MECANORRECEPTORES E TERMINAÇÕES NERVOSAS LIVRES DO LIGAMENTO MENISCOTIBIAL MEDIAL DO JOELHO COM IMUNOFLUORESCÊNCIA E MICROSCOPIA CONFOCAL**. Fortaleza: UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, 2022.

ALVES, V. A. F.; BACCHI, C. E.; VASSALLO, J. Manual de imuno-histoquímica. **Sociedade Brasileira de Patologia**, 1999.

AMAN, Z. S. et al. Quantitative and Qualitative Assessment of Posterolateral Meniscal Anatomy: Defining the Popliteal Hiatus, Popliteomeniscal Fascicles, and the Lateral Meniscotibial Ligament. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 47, n. 8, p. 1797–1803, 28 jul. 2019.

ARLIANI, G. G. et al. Lesão do ligamento cruzado anterior: tratamento e reabilitação. Perspectivas e tendências atuais. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 47, n. 2, p. 191–196, abr. 2012.

BEZERRA, F. S. et al. **Quantitative and descriptive analysis of the meniscotibial ligament in human corpses** *Braz. J. Morphol. Sci.* [s.l.: s.n.].

BIKKINA, R. S. et al. The “Floating” Meniscus: MRI in Knee Trauma and Implications for Surgery. **American Journal of Roentgenology**, v. 184, n. 1, p. 200–204, jan. 2005.

BUTT, U. et al. Histological and cellular evaluation of anterior cruciate ligament. **Knee**, v. 27, n. 5, p. 1510–1518, 1 out. 2020.

CAVAIGNAC, E. et al. What Is the Relationship Between the Distal Semimembranosus Tendon and the Medial Meniscus? A Gross and Microscopic Analysis From the SANTI Study Group. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 49, n. 2, p. 459–466, 17 fev. 2021.

CHAGAS, J. B. W. DAS. **EXPRESSÃO DO COLÁGENO TIPO I E TIPO III NA BANDA ANTERIOR DO LIGAMENTO GLENOUMERAL INFERIOR DE FETOS HUMANOS**. Fortaleza: UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, 2018.

CHANG, S.-M. et al. Posterior Coronal Plating of Bicondylar Tibial Plateau Fractures Through Posteromedial and Anterolateral Approaches in a Healthy Floating Supine Position. **Orthopedics**, v. 35, n. 7, p. 583–588, jul. 2012.

DEPHILLIPO, N. N. et al. Effect of Meniscocapsular and Meniscotibial Lesions in ACL-Deficient and ACL-Reconstructed Knees: A Biomechanical Study. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 46, n. 10, p. 2422–2431, 30 ago. 2018.

DEPHILLIPO, N. N. et al. Quantitative and Qualitative Assessment of the Posterior Medial Meniscus Anatomy: Defining Meniscal Ramp Lesions. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 47, n. 2, p. 372–378, 7 fev. 2019.

DI FRANZIA, R. et al. Ramp Lesions of the Posterior Segment of the Medial Meniscus: What Is Repaired? A Qualitative Histological Study of the Meniscocapsular and Meniscotibial Attachments. **Clinical Orthopaedics & Related Research**, v. 478, n. 12, p. 2912–2918, dez. 2020.

EL-KHOURY, G. Y.; USTA, H. Y.; BERGER, R. A. Meniscotibial (Coronary) ligament tears. **Skeletal Radiology**, v. 11, n. 3, p. 191–196, mar. 1984.

FENWICK, S. A.; HAZLEMAN, B. L.; RILEY, G. P. The vasculature and its role in the damaged and healing tendon. **Arthritis Research**, v. 4, n. 4, p. 252, 2002.

GEORGIEV, G. P. et al. A comparative study of the epiligament of the medial collateral and anterior cruciate ligaments in the human knee: Immunohistochemical analysis of CD 34, α -smooth muscle actin and vascular endothelial growth factor in relation to epiligament theory. **Knee**, v. 39, p. 78–90, 1 dez. 2022.

GUIMARÃES, M. V.; CARVALHO JUNIOR, L. H. DE; TERRA, D. L. Reconstrução do ligamento cruzado anterior com o terço central do tendão do músculo quadríceps: análise de resultados após 10 anos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 44, n. 4, p. 306–312, 2009.

GUY, S. et al. Isolated Meniscotibial Ligament Rupture: The Medial Meniscus “Belt Lesion”. **Arthroscopy Techniques**, v. 11, n. 2, p. e133–e138, fev. 2022.

HARRISON, R. K. et al. Mapping of Vascular Endothelium in the Human Flexor Digitorum Profundus Tendon. 2003.

HUANG, T.-F.; PERRY, S. M.; SOSLOWSKY, L. J. The Effect of Overuse Activity on Achilles Tendon in an Animal Model: A Biomechanical Study. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 32, n. 3, p. 336–341, mar. 2004.

JUNQUEIRA, L. C. U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R. R. A simple and sensitive method for the quantitative estimation of collagen. **Analytical Biochemistry**, v. 94, n. 1, p. 96–99, abr. 1979.

JUNQUEIRA, L. C. U.; COSSERMELLI, W.; BRENTANI, R. R. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. **Archivum Histologicum Japonicum**, v. 41, p. 267–274, 1978.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas Básicas de Citologia e Histologia**. [s.l.] Livraria e Editora São Paulo, 1983.

KANDEMIR, U.; MACLEAN, J. **Surgical approaches for tibial plateau fractures**. **The journal of knee surgery**, 2014.

LAPRADE, R. F. et al. The Anatomy of the Medial Part of the Knee. **The Journal of Bone & Joint Surgery**, v. 89, n. 9, p. 2000–2010, set. 2007.

LEITÃO JÚNIOR, A. F. **AVALIAÇÃO DA HISTOMORFOMETRIA DO COLÁGENO DO LIGAMENTO CRUZADO ANTERIOR DE FETOS**. FORTALEZA: UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, 2024.

LIU, J. et al. Picrosirius-Polarization Method for Collagen Fiber Detection in Tendons: A Mini-Review. **Orthopaedic Surgery**, v. 13, n. 3, p. 701–707, 10 maio 2021.

LOUGHER, L.; SOUTHGATE, C. R. W.; HOLT, M. D. Coronary ligament rupture as a cause of medial knee pain. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 19, n. 10, p. e157–e158, dez. 2003.

LUO, C.-F. et al. **Three-Column Fixation for Complex Tibial Plateau Fractures**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.jorthotrauma.com>.

MAFFULLI, NICOLA.; RENSTRÖM, PER.; LEADBETTER, W. B. **Tendon injuries : basic science and clinical medicine**. [s.l.] Springer, 2005.

MAGANARIS, C. N.; NARICI, M. V.; MAFFULLI, N. Biomechanics of the Achilles tendon. **Disability and Rehabilitation**, v. 30, n. 20–22, p. 1542–1547, 2008.

MALL, N. A. et al. Incidence and Trends of Anterior Cruciate Ligament Reconstruction in the United States. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 42, n. 10, p. 2363–2370, 1 out. 2014.

MARIANI, P. P. Posterior horn instability of the medial meniscus a sign of posterior meniscotibial ligament insufficiency. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 19, n. 7, p. 1148–1153, 11 jul. 2011.

MARINHO, E. R. **Avaliação imuno-histoquímica da densidade microvascular em adenocarcinoma gástrico**. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo , 2003a.

MÁRQUEZ, W. H. et al. The Regional Microvascular Density of the Gluteus Medius Tendon Determined by Immunohistochemistry with CD31 Staining: A Cadaveric Study. **HIP International**, v. 25, n. 2, p. 168–171, 30 mar. 2015.

MEHL, J. T. et al. Posteromedial Ligament Repair of the Knee With Suture Tape Augmentation: A Biomechanical Study. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 47, n. 12, p. 2952–2959, 27 out. 2019.

MICHALITSIS, S. et al. Meniscal and articular cartilage lesions in the anterior cruciate ligament-deficient knee: correlation between time from injury and knee scores. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 23, n. 1, p. 232–239, 18 jan. 2015.

MILLAR, A. P. Meniscotibial ligament strains: a prospective survey. **British Journal of Sports Medicine**, v. 25, n. 2, p. 94–95, 1 jun. 1991.

NETO, J. B. DE A. et al. Study of the nerve endings and mechanoreceptors of the medial meniscotibial ligament of the knee: A structural and distribution analysis. **Knee**, v. 42, p. 28–36, 1 jun. 2023a.

NETO, J. B. DE A. et al. Ligamento meniscotibial medial do joelho: Uma dissecação passo a passo. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 58, n. 05, p. e755–e759, 30 out. 2023b.

NETTER, F. H. **Atlas of human Anatomy**. 7^o ed. [s.l: s.n.].

NORDENVALL, R. et al. A Population-Based Nationwide Study of Cruciate Ligament Injury in Sweden, 2001–2009. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 40, n. 8, p. 1808–1813, 8 ago. 2012.

PELTIER, A. et al. The role of the meniscotibial ligament in posteromedial rotational knee stability. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 23, n. 10, p. 2967–2973, 12 out. 2015.

PRAT-FABREGAT, S.; CAMACHO-CARRASCO, P. Treatment strategy for tibial plateau fractures: An update. **EFORT Open Reviews**, v. 1, n. 5, p. 225–232, 1 maio 2016.

RIBEIRO, H. C. T. **ESTUDO ANATOMOHISTOLÓGICO DO TENDÃO DO MÚSCULO FIBULAR LONGO NO TÚNEL DO OSSO CUBOIDE: CORRELAÇÃO COM AS DIMENSÕES DO TÚNEL E A PRESENÇA DO OS PERONEUM**. Foratelza: UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, 2019.

RITTIÉ, L. Method for Picrosirius Red-Polarization Detection of Collagen Fibers in Tissue Sections. Em: [s.l: s.n.]. p. 395–407.

SILVA, R. D. et al. Achilles tendinosis: a morphometrical study in a rat model. **International journal of clinical and experimental pathology**, v. 4, n. 7, p. 683–91, 2011.

ŚMIGIELSKI, R. et al. Medial meniscus anatomy—from basic science to treatment. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 23, n. 1, p. 8–14, 1 jan. 2015.

SMITH, J. P.; BARRETT, G. R. Medial and Lateral Meniscal Tear Patterns in Anterior Cruciate Ligament-Deficient Knees. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 29, n. 4, p. 415–419, 30 jul. 2001.

SMITH, P. A. et al. Impact of Medial Meniscotibial Ligament Disruption Compared to Peripheral Medial Meniscal Tear on Knee Biomechanics. **The Journal of Knee Surgery**, v. 34, n. 07, p. 784–792, 8 jun. 2021.

STEWIEN, E. T. DE M.; CAMARGO, O. P. A. DE. Ocorrência de entorse e lesões do joelho em jogadores de futebol da cidade de Manaus, Amazonas. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 13, n. 3, p. 141–146, 2005.

THAUNAT, M. et al. Ramp Lesion Subtypes: Prevalence, Imaging, and Arthroscopic Findings in 2156 Anterior Cruciate Ligament Reconstructions. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 49, n. 7, p. 1813–1821, 21 jun. 2021.

WAN, C.; HAO, Z.; WEN, S. A quantitative comparison of morphological and histological characteristics of collagen in the rabbit medial collateral ligament. **Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger**, v. 195, n. 6, p. 562–569, dez. 2013.

WOLFF, K. S. et al. The avascular plane of the Achilles tendon: A quantitative anatomic and angiographic approach and a base for a possible new treatment option after rupture. **European Journal of Radiology**, v. 81, n. 6, p. 1211–1215, jun. 2012.

ZHANG, J. et al. Combined lateral peripatellar and posteromedial approaches for Schatzker type IV tibial plateau fractures involving posteromedial plane: a prospective study. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v. 21, n. 1, p. 229, 13 dez. 2020.

ANEXO I – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -
IJF/ PREFEITURA DE
FORTALEZA



Ativar o V

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo anatômico dos ligamentos meniscotibiais medial e lateral do joelho

Pesquisador: Amanda Progênio dos Santos

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 40066820.4.0000.5047

Instituição Proponente: Instituto Dr. José Frota - IJF/ Prefeitura de Fortaleza

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.502.888

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas de arquivo Informações Básicas da Pesquisa" (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1654261.pdf de 20/12/2020.

Os ligamentos meniscotibiais, também conhecido como ligamentos coronários, são uma banda fibrosa que conecta periféricamente os meniscos à tibia. Atualmente, as lesões em rampa do menisco foram associadas à lesão concomitante dos ligamentos meniscotibiais, sendo causas de instabilidade em joelhos LCA-deficientes. O estudo dessa estrutura é fundamental para definirmos suas principais características e entendermos melhor seu funcionamento, para que possamos tratá-lo de forma adequado nos casos de ruptura do mesmo. 40 ligamentos meniscotibiais de joelho (20 mediais e 20 laterais), obtidos durante a doação de órgãos provenientes de 10 doadores de órgãos falecidos efetivados pela Comissão Intra-Hospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante (CIHDOTT) após confirmação de morte encefálica, todos adultos, sem preferência por sexo ou idade, serão cuidadosamente dissecadas para avaliação de seus aspectos anatômicos, buscando compreender a anatomia e interação mecânica do joelho.

Crterios de Inclusão

Serão incluídos no estudo 40 ligamentos meniscotibiais do joelho (20 LMT mediais e 20 LMT laterais), provenientes de 10 doadores de órgãos falecidos efetivados pela Comissão Intra-

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1816
Bairro: Centro **CEP:** 60.025-061
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3255-5093 **Fax:** (85)3255-5093 **E-mail:** cepij@outlook.com

INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -
IJF/ PREFEITURA DE
FORTALEZA



Ativista

Continuação do Parecer: 4.502.888

Hospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante (CIHDOTT) após confirmação de morte encefálica, todos adultos, sem preferência por sexo ou idade e após assinatura do TCLE (ANEXO 1) por representante legal.

A confidencialidade referente aos participantes do estudo será respeitada, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, identifica-lo, será mantido em sigilo.

Crterios de Exclusão

Serão excluídos os participantes que apresentavam sinais de lesão traumática e degenerativa que dificultem a dissecação do LMT e participantes esqueleticamente imaturos

METODOLOGIA

Aquisição das amostras de LMT

A escolha do joelho será de forma aleatória, atendendo aos critérios de inclusão e exclusão.

Para coleta dos LMT mediais, será realizado uma incisão posteromedial ao joelho em formato de "L" com início da parte posterior do epicôndilo medial do fêmur em direção à borda posteromedial da tibial. Será identificado os tendões do músculo sartório, semitendíneo e grácil (pata de ganso) os quais serão rebatidos distalmente. Será realizado uma incisão longitudinal ao LCM superficial, onde será identificado a cápsula articular e os LMT medias - ponto onde é realizado a artrotomia submeniscal para visualização da redução da fratura articular. (22-25) Para coleta dos LMT laterais, será realizado uma incisão em "L" de início 2 cm acima da cabeça da fibula cruzando o tubérculo de Gerdy (TG) em direção à margem lateral da crista tibial. O trato iliotibial será seccionado longitudinalmente e destacado anteriormente e posteriormente do TG. Será identificado a cápsula articular e os LMT laterais.(25-27)

A seguir, será realizado a medição dos ligamentos: medidas de pesos, em uma balança analítica eletrônica, e medidas de comprimento, largura e espessura. Serão utilizados a média e o desvio padrão para mensurar as dimensões dos ligamentos: comprimentos, largura e espessura dos LMT do joelho após a coleta.

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1816
Bairro: Centro **CEP:** 60.025-061
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3255-5093 **Fax:** (85)3255-5093 **E-mail:** cepijf@outlook.com

**INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -
IJF/ PREFEITURA DE
FORTALEZA**



Continuação do Parecer: 4.502.888

Objetivo da Pesquisa:

Identificar e avaliar a anatomia dos ligamentos meniscotibiais do joelho

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Redução dos Riscos

Como forma de reduzir esse risco, utilizaremos a menor incisão possível. Destacamos ainda que apenas será ressecado os ligamentos meniscotibiais do joelho, permanecendo o restante do cadáver inalterado. Os pesquisadores estarão à disposição dos familiares para fornecer esclarecimentos quanto ao procedimento, benefícios futuros ao tratamentos de outros pacientes e quanto a possibilidade de, a qualquer momento, desistir de realizar a doação.

Benefícios

O participante do estudo não receberá benefício direto com o estudo, a não ser contribuir para a realização de novos estudos que ajudem no avanço da medicina.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo do tipo intervenção, descritivo e quantitativo a ser realizado pelo Serviço de Traumatologia do Instituto Dr. José Frota.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Recomendações:

Vide "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se da análise de resposta ao parecer pendente nº4.456.635 emitido pelo CEP em 11/12/2020.

Estudo com necessidade de ajustes.

Pendências:

- 1) Fornecer o embasamento científico/justificativa para o uso de doadores das estruturas ligamentares em oposição a métodos de imagem (há lacuna na literatura nesse aspecto?);
- 2) Em Riscos: não foram descritos os riscos psicológicos possíveis, em se tratando de famílias sensibilizadas ou mesmo desestruturadas pelo processo de morte encefálica/doação de órgãos

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1816

Bairro: Centro

CEP: 60.025-061

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3255-5093

Fax: (85)3255-5093

E-mail: cepijf@outlook.com

INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -
IJF/ PREFEITURA DE
FORTALEZA



Continuação do Parecer: 4.502.888

(inclusive prevendo o risco de comprometimento da doação 2.2 Na Resolução 466/12 no item " V –DOS RISCOS E BENEFÍCIOS: Toda pesquisa com seres humanos envolve risco em tipos e gradações variados. Quanto maiores e mais evidentes os riscos, maiores devem ser os cuidados para minimizá-los e a proteção oferecida pelo Sistema CEP/CONEP aos participantes. Devem ser analisadas possibilidades de danos imediatos ou posteriores, no plano individual ou coletivo. A análise de risco é componente imprescindível à análise ética, dela decorrendo o plano de monitoramento que deve ser oferecido pelo Sistema CEP/CONEP em cada caso específico".

- 3) Ajustar o TCLE para que mantenha uma linguagem mais acessível às famílias e menos técnica ou crua;
3.3 No item "IV –DO PROCESSO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - b)prestar informações em linguagem clara e acessível, utilizando-se das estratégias mais apropriadas à cultura, faixa etária, condição socioeconômica e autonomia dos convidados a participar da pesquisa";
4) Apresentar o Instrumento de Coleta em uma folha anexa ao projeto com as variáveis a serem coletadas, data, etc.

CARTA RESPOSTA AO PARECER DE NÚMERO 4.456.635

Pendências:

1) Apesar dos LMT terem sido descritos há bastante tempo, sua identificação e avaliação em função de seus aspectos anatômicos seria importante para planejamento cirurgico e estudos posteriores a fim de compreender sua função na biomecânica do joelho. Além disso, o estudo anatômico macroscópico é superior aos achados de exames de imagem com Ressonancia magnética, principalmente no que se refere a estruturas ligamentares (21) sendo indispensável o conhecimento fidedigno da estrutura anatômica para correlacionar com os achados de exames complementares.

Rezende et. Al.; Comparação entre estudos por imagem na identificação das estruturas anatômicas do punho. Rev Bras Ortop. 2005;40 (11/12):655-62

2) Riscos

Como risco, destacamos o comprometimento estético da pele presente na região do joelho devido a presença de fios de sutura em evidência e a reação psicológica dos familiares já sensibilizados pelo falecimento do familiar frente á doação dos LMT.

Redução dos Riscos

Como forma de reduzir esse risco, utilizaremos a menor incisão possível. Destacamos ainda que apenas será ressecado os ligamentos meniscotibiais do joelho, permanecendo o restante do

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1816

Bairro: Centro

CEP: 60.025-061

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3255-5093

Fax: (85)3255-5093

E-mail: cepijf@outlook.com

INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -
IJF/ PREFEITURA DE
FORTALEZA



Continuação do Parecer: 4.502.888

cadáver inalterado.

Os pesquisadores estarão à disposição dos familiares para fornecer esclarecimentos quanto ao procedimento, benefícios futuros ao tratamentos de outros pacientes e quanto a possibilidade de, a qualquer momento, desistir de realizar a doação.

3) TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado por Amanda Progenio dos Santos, médica, para participar da pesquisa intitulada "Estudo anatômico dos ligamentos meniscotibiais medial e lateral do joelho".

Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todas as suas dúvidas acerca desta pesquisa sejam esclarecidas.

Essa pesquisa tem como objetivo identificar e avaliar a anatomia dos ligamentos meniscotibiais do joelho. O principal benefício dessa pesquisa é contribuir para uma melhor compreensão da anatomia dos ligamentos meniscotibiais do joelho podendo esse conhecimento ser utilizado para aperfeiçoar o tratamento de lesões do joelho. Como risco, destacamos o comprometimento estético da pele presente na região do joelho devido a presença de fios de sutura em evidência. Como forma de reduzir esse risco, utilizaremos a menor incisão (corte) possível. Destacamos ainda que será retirado apenas os ligamentos meniscotibiais do joelho, permanecendo o restante do falecido inalterado.

Afirmamos a garantia do anonimato/privacidade do participante na pesquisa, onde não será preciso colocar o nome do mesmo. Além disso, será mantido o sigilo das informações e, na ocasião de uma publicação científica, não será divulgado dado que identifique o participante.

Caso decida aceitar o convite, o falecido pelo qual você é responsável será submetido ao seguinte procedimento:

- Será realizada uma incisão (corte) de cerca de 8 cm no joelho do falecido.
- Por essa incisão será retirado o ligamento meniscotibial lateral e medial.
- Após o termino do procedimento, a incisão será fechada com fios próprios para sutura.
- Todo o processo de coleta levará cerca de 50 minutos.

Você não deve participar contra a sua vontade. A presente pesquisa segue as recomendações das resoluções 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares. Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade

Você ficará com uma via original deste TCLE e toda a dúvida que você tiver a respeito desta

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1816
 Bairro: Centro CEP: 60.025-061
 UF: CE Município: FORTALEZA
 Telefone: (85)3255-5093 Fax: (85)3255-5093 E-mail: cepif@outlook.com

**INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -
IJF/ PREFEITURA DE
FORTALEZA**



Continuação do Parecer: 4.502.888

pesquisa poderá perguntar diretamente para a pesquisadora Amanda Progenio dos Santos, no endereço Rua Barão do Rio Branco, 1816 - Centro, Fortaleza – Ceará - CEP 60025-061 Tel. (91) 98237-3897.

Dúvidas a respeito da ética desta pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dr. José Frota pelo Tel/Fax. (85) 3255-5000, ou no endereço Rua Barão do Rio Branco, 1816 - Centro, Fortaleza - CE, 60025-061

Se para o participante houver gasto de qualquer natureza, em virtude da sua participação nesse estudo, é garantido o direito a indenização (Res. 466/12 II.7) – cobertura material para reparar dano – e/ou ressarcimento (Res. 466/12 II.21) – compensação material, exclusivamente de despesas do participante e seus acompanhantes, quando necessário, tais como transporte e alimentação – sob a responsabilidade do pesquisador responsável.

Não será efetuada nenhuma forma de gratificação por sua participação. Os dados coletados farão parte do nosso trabalho, podendo ser divulgados em eventos científicos e publicados em revistas nacionais ou internacionais. O pesquisador estará à disposição para qualquer esclarecimento durante todo o processo de desenvolvimento deste estudo. Após todas essas informações, agradeço antecipadamente sua atenção e colaboração.

Consentimento Livre

Pelo presente termo de consentimento eu, _____ (nome completo do familiar doador), _____ (nacionalidade), _____ (naturalidade), _____ (estado civil), _____ (profissão), residente e domiciliado à _____, bairro: _____ CEP: _____ cidade: _____ Estado: _____, portador do RG nº. _____ (nº - órgão expedidor), CPF nº. _____, em pleno gozo de minhas faculdades mentais, declaro para os devidos fins que autorizo a captação dos ligamentos meniscotibiais do joelho de _____ (nome do falecido), meu (minha) _____ (grau de parentesco), RG nº. _____ (nº - órgão expedidor), CPF nº. _____ para Fins de Estudo ou Pesquisas de Caráter Científico, em prol da Ciência e da Humanidade, com base na Lei nº 010.406-2002 em seu artigo 12 do Código Civil brasileiro. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. E declaro, ainda, estar recebendo uma via assinada deste termo.

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1816

Bairro: Centro

CEP: 60.025-061

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3255-5093

Fax: (85)3255-5093

E-mail: cepijf@outlook.com

**INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -
IJF/ PREFEITURA DE
FORTALEZA**



Continuação do Parecer: 4.502.888

Amanda Progenio dos Santos (Pesquisadora responsável) - Médica Residente de Traumatologia e Ortopedia do Instituto Dr. José Frota, no endereço R. Barão do Rio Branco, 1816 - Centro, Fortaleza - CE, 60025-061. Tel. (85) 3255 5205

Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dr. José Frota pelo Tel/Fax. (85) 3255-5000, ou no endereço Rua Barão do Rio Branco, 1816 - Centro, Fortaleza - CE, 60025-061

Instrumento de coleta de dados:

1. Identificação: nome, BE, sexo, altura, idade, data da coleta e data da preparação da peça.
2. Dados anatômicos: comprimento, largura, peso e distância da borda da inserção do menisco.

Pendências atendidas. Estudo aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Solicita-se o (a) pesquisador (a) que ao término do estudo envie para o CEP/IJF, o relatório final da pesquisa (resultados, discussão e conclusão) via Plataforma Brasil como notificação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1654261.pdf	20/12/2020 17:53:30		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_amanda_20dez.docx	20/12/2020 17:53:03	Amanda Progênio dos Santos	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA20dez.docx	20/12/2020 17:50:11	Amanda Progênio dos Santos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_20dez.docx	20/12/2020 17:49:31	Amanda Progênio dos Santos	Aceito
Orçamento	orcamento.png	12/11/2020 22:33:33	Amanda Progênio dos Santos	Aceito
Outros	anuencia_cihdott.jpg	12/11/2020 22:29:59	Amanda Progênio dos Santos	Aceito

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1816

Bairro: Centro

CEP: 60.025-061

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3255-5093

Fax: (85)3255-5093

E-mail: cepijf@outlook.com

**INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -
IJF/ PREFEITURA DE
FORTALEZA**



Continuação do Parecer 4.502/000

Outros	anuencia_cc.jpg	12/11/2020 22:28:52	Amanda Progenio dos Santos	Aceito
Cronograma	cronograma.docx	09/11/2020 19:57:23	Amanda Progenio dos Santos	Aceito
Folha de Rosto	folhad.rosto.pdf	09/11/2020 19:54:00	Amanda Progenio dos Santos	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 19 de Janeiro de 2021

Assinado por:
Márcia Maria Pinheiro Dantas
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1816
Bairro: Centro CEP: 60.025-061
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3255-5093 Fax: (85)3255-5093 E-mail: cepjf@outlook.com

APÊNDICE I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado por **Amanda Progenio dos Santos**, médica, para participar da pesquisa intitulada “**Estudo anatômico do ligamento meniscotibial medial do joelho**”.

Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todas as suas dúvidas acerca desta pesquisa sejam esclarecidas.

Essa pesquisa tem como objetivo identificar e avaliar a anatomia dos ligamentos meniscotibiais do joelho. O principal benefício dessa pesquisa é contribuir para uma melhor compreensão da anatomia dos ligamentos meniscotibiais do joelho podendo esse conhecimento ser utilizado para aperfeiçoar o tratamento de lesões do joelho. Como risco, destacamos o comprometimento estético da pele presente na região do joelho devido a presença de fios de sutura em evidência. Como forma de reduzir esse risco, utilizaremos a menor incisão (corte) possível. Destacamos ainda que será retirado apenas os ligamentos meniscotibiais do joelho, permanecendo o restante do falecido inalterado.

Afirmamos a garantia do anonimato/privacidade do participante na pesquisa, onde não será preciso colocar o nome do mesmo. Além disso, será mantido o sigilo das informações e, na ocasião de uma publicação científica, não será divulgado dado que identifique o participante.

Caso decida aceitar o convite, o falecido pelo qual você é responsável será submetido ao seguinte procedimento:

- **Será realizada uma incisão (corte) de cerca de 8 cm no joelho do falecido.**
- Por essa incisão será retirado o ligamento meniscotibial medial.
- **Após o término do procedimento, a incisão será fechada com fios próprios para sutura.**
- **Todo o processo de coleta levará cerca de 50 minutos.**

Você não deve participar contra a sua vontade. A presente pesquisa segue as recomendações das resoluções 466/12 e 510/16 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares. Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade

Você ficará com uma via original deste TCLE e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa poderá perguntar diretamente para a pesquisadora Amanda Progenio dos Santos, no endereço Rua Barão do Rio Branco, 1816 - Centro, Fortaleza – Ceará - CEP 60025-061 Tel. (91) 98237-3897.

Dúvidas a respeito da ética desta pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dr. José Frota pelo Tel/Fax. (85) 3255-5000, ou no endereço Rua Barão do Rio Branco, 1816 - Centro, Fortaleza - CE, 60025-061

Se para o participante houver gasto de qualquer natureza, em virtude da sua participação nesse estudo, é garantido o direito a indenização (Res. 466/12 II.7) – cobertura material para reparar dano – e/ou ressarcimento (Res. 466/12 II.21) – compensação material, exclusivamente de despesas do participante e seus acompanhantes, quando necessário, tais como transporte e alimentação – sob a responsabilidade do pesquisador responsável.

Não será efetuada nenhuma forma de gratificação por sua participação. Os dados coletados farão parte do nosso trabalho, podendo ser divulgados em eventos científicos e publicados em revistas nacionais ou internacionais. O pesquisador estará à disposição para qualquer esclarecimento durante todo o processo de desenvolvimento deste estudo. Após todas essas informações, agradeço antecipadamente sua atenção e colaboração.

Consentimento Livre

Pelo presente termo de consentimento eu, _____ (nome completo do familiar doador), _____ (nacionalidade), _____ (naturalidade), _____ (estado civil), _____ (profissão), residente e domiciliado à _____, bairro: _____ CEP: _____ cidade: _____ Estado: _____, portador do RG nº. _____ (nº - órgão expedidor), CPF nº. _____, em pleno gozo de minhas faculdades mentais, declaro para os devidos fins que autorizo a captação **dos ligamentos meniscotibiais mediais do joelho** de _____ (nome do falecido), meu (minha) _____ (grau de parentesco), RG nº. _____ (nº - órgão expedidor), CPF nº. _____ para Fins de Estudo ou Pesquisas de Caráter Científico, em prol da Ciência e da Humanidade, com base na Lei nº 010.406-2002 em seu artigo 12 do Código Civil brasileiro. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. E declaro, ainda, estar recebendo uma via assinada deste termo.

Amanda Progenio dos Santos (Pesquisadora responsável) - Médica Residente de Traumatologia e Ortopedia do Instituto Dr. José Frota, no endereço R. Barão do Rio Branco, 1816 - Centro, Fortaleza - CE, 60025-061. Tel. (85) 3255 5205
Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dr. José Frota pelo Tel/Fax. (85) 3255-5000, ou no endereço Rua Barão do Rio Branco, 1816 - Centro, Fortaleza - CE, 60025-061

Fortaleza, ____ de _____ de 20 ____.

Nome do responsável pela doação

Assinatura do responsável pela doação

	Testemunhas 1	Testemunhas 2
Nome Legível		
Grau de Parentesco*		
RG e CPF		
Assinatura		

* Grau de Parentesco: pais, filhos, cônjuges, irmãos