



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

JULIANA BASTOS WILSON DAS CHAGAS

EXPRESSÃO DO COLÁGENO TIPO I E TIPO III NA BANDA ANTERIOR DO
LIGAMENTO GLENOUMERAL INFERIOR DE FETOS HUMANOS

FORTALEZA

2018

JULIANA BASTOS WILSON DAS CHAGAS

EXPRESSÃO DO COLÁGENO TIPO I E TIPO III NA BANDA ANTERIOR DO
LIGAMENTO GLENOUMERAL INFERIOR DE FETOS HUMANOS

Dissertação apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Médico-Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Alberto Dias Leite

Coorientador: Prof. Dr. José Atualpa Pinheiro Júnior

Fortaleza

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C424e Chagas, Juliana Bastos Wilson das.
Expressão do colágeno tipo I e tipo III na banda anterior do ligamento glenoumeral inferior de fetos humanos / Juliana Bastos Wilson das Chagas. – 2018.
38 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas, Fortaleza, 2018.
Orientação: Prof. Dr. José Alberto Dias Leite.
Coorientação: Prof. Dr. José Atualpa Pinheiro Júnior.
1. Colágeno. 2. Fetos. 3. Ligamento glenoumeral inferior. I. Título.

CDD 617

JULIANA BASTOS WILSON DAS CHAGAS

EXPRESSÃO DO COLÁGENO TIPO I E TIPO III NA BANDA ANTERIOR DO
LIGAMENTO GLENOUMERAL INFERIOR DE FETOS HUMANOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Médico-Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará para obtenção do grau de Mestre.

Aprovada em 27/11/2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Alberto Dias Leite
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa.Dra. Ana Paula Negreiros Nunes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva
UNICHRISTUS

Agradeço à Deus por toda benção recebida, por sempre iluminar e guiar meu caminho, por colocar anjos em minha vida e por tornar possível que meus sonhos se realizem, toda graça vem do Senhor e toda graça vai para o Senhor. A ti Senhor, entrego meu coração e minha gratidão sempre.

Ao meu esposo George pela confiança,
paciência e amor.

Às minhas filhas, Lara e Letícia, pois são minha
motivação diária.

Aos meus pais por toda dedicação, amor e
ensinamentos.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Alberto Dias Leite, pela oportunidade de continuar aprendendo, o que é muito importante para minha vida pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues, Coordenador do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Médico-Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará.

Ao Prof. Dr. José Atualpa Pinheiro Júnior, pelo apoio, dedicação, incentivo, ensinamentos, disponibilidade e total colaboração no solucionar das dúvidas e problemas que foram surgindo ao longo do trabalho.

À Prof. Dra. Ana Paula Negreiros Nunes, pela disponibilidade, atenção, competência, sem sua ajuda não teria conseguido obter os resultados deste trabalho.

À Elisa Lima Verde por toda disponibilidade e ajuda na obtenção dos resultados.

À Prof. Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante e ao Dr. Adson do Socorro Sá pela participação na banca de qualificação desta dissertação.

À Sr^a Magda Maria Gomes Fontenele e a Sr^a Luciene Vieira Oliveira, secretárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas, pela amizade e disponibilidade demonstradas no trato com os alunos.

RESUMO

A luxação glenoumeral é uma afecção frequente e incapacitante, que acomete principalmente jovens, e tem no ligamento glenoumeral inferior (LGUI) um importante estabilizador. Segundo Neer, nas luxações recidivantes do ombro, pequenos traumas acarretam uma deformidade plástica no LGUI. O objetivo deste estudo é obter a expressão do colágeno tipo I que apresentam fibras mais espessas, menos uniformes e menos extensíveis e do tipo III que tem fibras finas, uniformes e mais extensíveis, na banda anterior do ligamento glenoumeral inferior em fetos humanos sem qualquer alteração biomecânica. Avaliou-se a composição destes colágenos na banda anterior do ligamento glenoumeral em quatro ligamentos de fetos humanos, de idade gestacional que variou entre 23 a 31 semanas. Os ligamentos foram divididos em três porções. Utilizou-se o picrossirius red para estudo histológico, sendo as imagens mensuradas através da porcentagem de área de colágeno com birrefringência amarelo-avermelhado compatível com colágeno tipo I e a área verde-esbranquiçada relativa ao colágeno tipo III. O colágeno tipo I foi mais frequente em todos os campos estudados: Na porção I, próximo ao úmero, apresentou uma composição uma média de 77,20% enquanto a composição de colágeno tipo III apresentou uma média de 22,80%; na porção II, intermediária, apresentou uma composição de colágeno tipo I apresentou uma média de 74,89% e o colágeno III uma média de 25,11% e na porção III, parte medial do ligamento, uma composição média de 53,82% e o colágeno tipo III uma média de 46,18%. A parte periférica, mais proximal ao úmero, apresentou uma relação maior entre os colágenos tipo I e tipo III quando comparada com a parte medial do LGUI. Desta forma a parte periférica do LGUI é mais resistente e a porção medial mais elástica. Estes resultados estão de acordo com trabalhos biomecânicos e reforça a teoria de Neer.

Palavra-chave : Colágeno . Fetos . Ligamento glenoumeral inferior.

ABSTRACT

Glenohumeral dislocation is a frequent and disabling condition, affecting mainly young people, and has a significant stabilizer in the inferior glenohumeral ligament (LGUI). According to Neer, in recurrent shoulder dislocations, minor trauma causes a plastic deformity in the LGUI. The aim of this study is to obtain the expression of type I collagen that presents thicker, less uniform and less extensible fibers and type III that has thin, uniform and more extensible fibers in the anterior band of the inferior glenohumeral ligament in human fetuses without any alteration biomechanics. The composition of these collagens in the anterior band of the glenohumeral ligament was evaluated in four ligaments of human fetuses of gestational age ranging from 23 to 31 weeks. The ligaments were divided into three portions. Picrosirius red was used for histological study, and the images were measured by percentage of collagen area with reddish-yellow birefringence compatible with type I collagen and the whitish-green area relative to type III collagen. Type I collagen was more frequent in all studied fields: In the portion I, near the humerus, presented a composition average of 77.20% while the composition of type III collagen presented a mean of 22.80%; in the intermediate portion II, presented a composition of type I collagen presented a mean of 74.89% and the collagen III a mean of 25.11% and in portion III, medial part of the ligament, a mean composition of 53.82% and type III collagen an average of 46.18%. The peripheral part, more proximal to the humerus, had a higher ratio between type I and type III collagens when compared to the medial part of the LGUI. In this way the peripheral part of the LGUI is more resistant and the medial portion more elastic. These results are in accordance with biomechanical work and reinforce Neer's theory.

Keyword: Collagen. Fetuses. Inferior glenohumeral ligament.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Via de acesso deltopeitoral.....	21
Figura 2 –Identificação das 03 porções no ligamento : : 1- próximo ao úmero, 2-porção medial e 3- próximo a glenóide.....	21
Figura 3 – Quantificação do colágeno (Software ImajeJ).....	23
Tabela 1 -Identificação , lado , peso e idade do feto.....	25
Figura 4 _ Imagem corada em pricosirius sem polarização Colágeno total.....	26
Figura 5 _Imagem corada pricosirius polarizada com predomínio de Colágeno I.....	26
Figura 6 - Imagem corada pricosirius polarizada com predomínio do Colágeno III.....	27
Tabela 2 – Percentual colágeno I e III na porção 1.....	27
Tabela 3 – Percentual colágeno I e III na porção 2.....	28
Tabela 4 – Percentual colágeno I e III na porção 3.....	28
Tabela 5 – Percentual colágeno I e III considerando as três porções.....	29
Gráfico I- Quantificação dos colágenos I e III entre as porções.....	29
Gráfico II- Relação entre os colágenos I e III nas .porções.....	30

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVO.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Obtenção das amostras.....	20
3.2 Confeção de lâminas histológicas.....	22
3.3 Coloração de pricosirius red.....	22
3.4 Análise estatística.....	24
4. RESULTADOS.....	25
5. DISCUSSÃO.....	31
6. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35

1. INTRODUÇÃO

A luxação glenoumeral é a mais freqüente de todas, perfazendo um total de 45% dos casos (KAZAR, RELOVSKY, 1969), dos quais 85% são do subtipo anterior (ITOI; TABATA,1993).

O relato do primeiro registro de luxação glenoumeral é encontrado no livro de Edwin Smith situando-se no período compreendido entre 3000 e 2500 a.C. (ZIMMERMAN; VEITH, 1961). Hussain (1968) reportou a existência de uma escultura datada de 1200 a.c, que apresentava a técnica de redução, semelhante à de Kocher, utilizada nas luxações glenoumerais.

As descrições mais detalhadas sobre a doença surgiram a partir dos relatos de Hipócrates, que nasceu em 460 a .C, na ilha de Cos. É dele a descrição da anatomia do ombro e ainda a classificação dos tipos de luxação em dois grupos: traumática e atraumáticas. Nesse documento descreveu o primeiro procedimento cirúrgico para evitar recidiva de luxação do ombro utilizando ferro em brasa para criar um tecido cicatricial (MATSEN III; THOMAS; ROCKWOOD,1990).

Neer e Foster (1980) acrescentaram à classificação de Hipócrates um terceiro tipo, a luxação adquirida, causada por microtraumas repetitivos, quando ocorre um aumento do volume da articulação glenoumeral.

A articulação glenoumeral apresenta estabilizadores estáticos e dinâmicos, sendo estes formados pelos músculos do manguito rotador, como descreveram Cain e Mutscheler (1987), ao observar que, durante a rotação externa, os músculos infraespinhal e redondo menor exercem importante função na estabilidade articular, conseqüentemente diminuindo a força submetida ao complexo ligamentar, e aqueles relacionados à geometria articular, como anteversão da escápula, retroversão da glenóide e retroversão da cabeça do úmero. Somam-se aos estabilizadores os fatores físico-químicos tais como volume articular limitado e pressão articular negativos (MATSEN III; THOMAS; ROCKWOOD,1990), e ainda as estruturas capsuloligamentares, como a cápsula (GALENUS, 1968) reforçada pelos ligamentos coracoumeral, glenoumeral superior, glenoumeral médio e ligamento glenoumeral inferior (MATSEN III; THOMAS; ROCKWOOD, 1990).

Na posição de abdução de 90° graus e rotação externa, o ligamento glenoumeral inferior é o principal responsável pela estabilidade do ombro (TURKEL et al.,1981; WARNER et al.,1992; O'BRIEN et al.,1990), tendo em vista ser nessa posição que a

luxação glenoumeral ântero-inferior ocorre com mais frequência. O ligamento glenoumeral inferior (LGUI) é uma estrutura complexa composta das bandas anterior e posterior e uma bolsa axilar, onde sua origem parte da glenóide, do *labrum* ou do colo da glenóide. A banda anterior se origina de uma área variável entre 2 e 4 horas, quando se avalia a glenóide como um mostrador de relógio, ou 330° e 30°, quando se compara a glenóide com uma circunferência, considerando também sua inserção ao nível do úmero nos mesmos parâmetros (O'BRIEN et al.,1990; BIGLIANE et al.,1992). Esse ligamento passou a ser mais bem estudado a partir dos ensaios biomecânicos de Bigliane et al. (1992). Nesse trabalho, o autor observou que o rompimento ocorre em 45% dos casos na origem da glenóide, em 35%, na porção central do ligamento e em 25%, na inserção no úmero. Até a sua falência, o ligamento sofreu um alongamento entre 7,23 +/-2,25% do comprimento, com uma variação de 3,36 a 10,68% (STEFKO et al.,1997). O LGUI, quando submetido a ciclos repetitivos de alongamento sofre um aumento no seu comprimento (POLOCK et al. 2000).

Pinheiro Junior et al. (2003) estudaram-se 20 ligamentos glenoumerais, mais especificamente a sua banda anterior, divididos em dois grupos; Grupo I, ligamento com origem e inserção óssea, e Grupo II, parte média do ligamento. Realizou-se tração uniaxial em máquina desenvolvida no Departamento de Física da UFC, quando se propôs um modelo para explicar o comportamento dos ligamentos, a partir da associação de molas em série, utilizando-se a Lei de Hooke para avaliação na fase elástica e a Lei Exponencial *stress-strain*, para a fase de rigidez. Todas as curvas apresentaram o mesmo padrão, isto é, após avaliação da fase elástica, utilizando a lei de Hooke, as constantes do ligamento foram 10,507 N/mm para o grupo I e 13,80 N/mm para o Grupo II, enquanto na fase de rigidez, obtiveram os valores de 511,56 N/mm para o Grupo I que apresentavam origem e inserção óssea e de 156,84 N/mm para o Grupo II na parte medial do ligamento.

A banda anterior do ligamento glenoumeral inferior fixa-se a glenóide através do mecanismo: fibras de colágeno, que correm preferencialmente no eixo longitudinal e aumentam a espessura e densidade na margem articular, fixando-se diretamente ao lábio da glenóide e ao longo do colo, com algumas fibras correndo paralelamente à superfície e incorporando-se ao perióstio. A banda anterior do ligamento glenoumeral inferior realiza trajeto no terço médio da região anterior da articulação glenoumeral durante a abdução em 90 graus e rotação externa e impede translação anterior e inferior do úmero na glenóide, ou seja com a abdução do braço, as funções de sustentações dos músculos,

cápsulas e ligamentos glenomeriais desviam-se das estruturas superiores para estruturas inferiores, com a aproximação dos 90 graus de abdução, o ligamento glenoumeral inferior traciona-se numa densa faixa fibrosa, que cruza os aspectos anterior e inferior das articulações, sendo assim o ligamento glenoumeral inferior (LGUI) o principal estabilizador estático quando o ombro está abduzido.(BURKART; DEBSI, 2002).

A elastina foi encontrada esporadicamente no ligamento glenoumeral inferior, o que pode sugerir um papel nas propriedades elásticas do LGUI, permitindo que o ligamento retorne rapidamente sua forma original depois que uma força é removida. Na banda anterior, banda posterior e bolsa axilar do ligamento glenoumeral inferior foram encontrados feixes de fibras organizados longitudinalmente, esses feixes de fibras também pareciam mais uniformes na substância intermediária, enquanto eram menos uniformemente e de maior feixe de fibras entrelaçando perto das inserções. A banda superior parecia ter o feixe de fibras mais entrelaçado na substância intermediária, bem como os locais de inserção em contraste, a bolsa axilar demonstrou menor quantidade de feixes de fibras entrelaçadas em comparação com as outras duas regiões(TICKER et al, 2006).

Os ligamentos são estruturas resistentes, entretanto, pouco elásticas, que se situam nas paredes das cápsulas articulares, são formados por tecido viscoelástico, tecidos conjuntivo denso, composto por água, diversas proteoglicanas, pouca elastina, fibroblastos, matriz extracelular, colageno tipo I e tipo III e fibras de substância fundamental, onde aproximadamente 80% é composta de fibras de colágeno. Os ligamentos desempenham um papel vital na manutenção da estabilidade e função normal das articulações musculoesqueléticas, eles cruzam as articulações com amplas amplitudes de movimento, bem como articulações com pouco movimento e podem aparecer como folhas longas de tecido opaco ou tiras espessas e curtas nas cápsulas articulares, tendo um papel de aumentar a estabilidade mecânica das articulações, guiar movimento e prevenir movimento excessivo. (JUNQUEIRA ; CARNEIRO, 1999).

As fibras colágenas são predominantes do tecido conjuntivo, sendo constituídas por uma escleroproteína denominada colágeno, essas fibras colágenas encontram-se intimamente entrelaçados na derme, a qual é um dos principais tecidos de suporte da pele e servem para fornecer elasticidade e resistência. (VIEIRA, 2006). As fibras colágenas são elásticas e mais resistentes que fios de aço de mesmo diâmetro, são grossas e possuem estrias transversais devido as lacunas formadas durante a sobreposição de moléculas de tropocolágeno. São acidófilas, de coloração branca, possuem afinidade à eosina corando-

se de rosa, proporcionam ao tecido resistência à tração (GARTNER ; HIATT, 2017) Estas fibras começam a aparecer durante o desenvolvimento embrionário no processo inicial de diferenciação dos tecidos (FRIESS, 1998), onde há uma diversidade na sua estrutura e função podendo ser observada nas diferentes formas de ocorrência do colágeno. (DUARTE, 2011).

Mahasen e Sadek (2002) relataram que nenhum ligamento pode ser detectado na idade fetal de 9 semanas, porém com 12 semanas, o exame morfológico das estruturas interiores da articulação do ombro revelou que os ligamentos glenoumerais superiores foram desenvolvidos como uma faixa espessa, enquanto os ligamentos médios e inferiores foram mal desenvolvidos, aparecendo como dois indistintos espessamentos. Na idade fetal de 16 semanas, o ligamento glenoumeral médio e inferior foram desenvolvidos, o ligamento médio apareceu abaixo e paralelo ao ligamento superior e separado dele pela abertura da bolsa subescapular, o ligamento inferior tinha uma ampla ligação as partes anteriores e inferiores do labrum, a densidade celular, bem como o conteúdo colágeno do tecido sinovial foram aumentados nesta idade, assim como nas fases subsequentes que continuou a mostrar um aumento de colágeno. No entanto com 23 semanas, todas as estruturas interiores atingiram a forma adulta, exceto o tendão do bíceps que ainda estava em forma de cordão, o ligamento glenoumeral inferior apareceu bem desenvolvido e formado de duas bandas que tinham uma ampla fixação nas partes anterior e inferior do labrum e sobrepondo a parte medial do meio ligamento e com 40 semanas revelou que o tamanho da articulação progressivamente aumentou em comparação com a idade, toda a estrutura interior se assemelhava à forma adulta, os ligamentos glenoumerais obtiveram um aumento em tamanho significativo, o tendão do bíceps sobreposto a maior parte do ligamento superior, o ligamento inferior também se sobrepôs ao ligamento médio, com exceção: o tendão do bíceps apareceu de forma triangular, Então a partir do estudo morfológico da articulação do ombro em desenvolvimento, observou-se que mudanças importantes ocorreram por volta da 12^a semana de vida pré-natal.

A ruptura do ligamento e as propriedades mecânicas mudam com a idade, onde as mudanças de colágeno tipo I e tipo III durante a maturação de ligamentos saudáveis são semelhantes à variação no conteúdo de colágeno durante a fase precoce da cicatrização do ligamento; este achado é potencialmente atribuído à diminuição do crescimento ligamentar observado com o envelhecimento, a medida que a idade aumenta o colágeno

tipo I aumenta e o colágeno tipo III diminui, isso indica que os ligamentos se tornam mais rígidos a proporção que o colágeno tipo III reduz, existindo assim uma correlação significativa entre o conteúdo de colágeno (incluindo colágeno tipo I e tipo III) e as propriedades mecânicas dos ligamentos. A alteração na razão da produção de colágeno tipo I e colágeno tipo III está altamente relacionada à idade cronológica, sendo assim, a maior concentração de colágeno tipo III em tendões e ligamentos de jovens, tornam essa população mais predisposta à instabilidade recorrente do que populações mais velhas. (HAYES et al., 2002).

O colágeno é uma glicoproteína da matriz extracelular, composta de três cadeias polipeptídicas (denominadas de cadeias alfa) enroladas em uma configuração helicoidal, formando uma tripla hélice, cada molécula de colágeno, é um bastão pequeno formado por esta tripla hélice, é também o principal componente estrutural de vários tecidos moles encontrados no tecido conjuntivo ao longo do corpo, como nos ossos, tendões, cartilagens, veias, pele, dentes e músculos, que forma o principal tipo de fibra extracelular, sendo a proteína mais abundante no organismo representando cerca de 25% a 30% de toda proteína corporal. (ROSS ; PAWLINA, 2016).

A molécula de colágeno mede cerca de 300nm de comprimento e 1,5nm de diâmetro, e ela se associa lateralmente a outra molécula com um deslocamento de 67nm, quase $\frac{1}{4}$ da molécula. São categorizadas como heterotípicas, consistindo em até três cadeias alfa distintas, como as de colágeno tipo I ou homotrimérico, e em três cadeias alfa idênticas como os do colágeno tipo III. (GOLDBERG ; RABINOVITCH, 2017)

O colágeno forma fibras insolúveis com alta força elástica, com características de resistência e tensão, fornecendo assim integridade estrutural a diversos tecidos, com capacidade de hidratação, reabsorção e baixa antigenicidade. (FRIESS, 1998).

O colágeno do tipo I é formado por três cadeias polipeptídicas, ricas nos aminoácidos glicina, prolina e lisina, sendo que a prolina e a lisina são hidroxiladas, e as hidroxilisinas são ainda glicosiladas pela adição de glicose e galactose. Pontes de hidrogênio entre as hidroxiprolinas unem as cadeias polipeptídicas, que se enrolam umas nas outras em uma tripla hélice. Após a liberação para o meio extracelular, as extremidades amino e carboxila das cadeias são clivadas por peptidases, permitindo a polimerização das moléculas de colágeno em fibrilas (GARTNER ; HIATT, 2017).

O colágeno tipo I é a forma predominante na pele tanto fetal quanto adulta, porém, na pele humana fetal o colágeno tipo III representa 30% a 60% do total, enquanto que na

pele de adultos representa somente 10% a 20%. À medida que o feto se desenvolve, a proporção de colágenos vai se modificando até chegar àquela existente no adulto.

O colágeno tipo I forma fibras espessas, mecanicamente estáveis, com pouca flexibilidade e responsáveis pela resistência do tecido às forças de tensão, estando presente em estruturas rígidas como tendões, ossos e cartilagens, enquanto o tipo III está amplamente presente nos tecidos contendo colágeno tipo I, com exceção do osso, e se mostra em abundância em órgãos relacionados com elasticidade e maior flexibilidade, como pulmão e vasos sanguíneos, é caracterizado como um tipo de colágeno imaturo, considerado jovem, pois as fibras reticulares são constituídas de uma única camada, uma certa quantidade deste colágeno é necessário para manter desenvolvimento normal de tensão e contração do órgão, estando também bem expressos na fase de cicatrização de feridas, devido à sua capacidade de formar ligações cruzadas rápidas e estabilizar precariamente o local de reparo, havendo uma diminuição do colágeno tipo I e um aumento do tipo III cicatrizante, à medida que o tecido de granulação se expande e o remodelamento progride. Durante o processo de cicatrização de feridas, as células de tecido nativas migram para repovoar o local da lesão e iniciam a produção de proteínas de matriz extracelular específicas de tecido (SANTANA; SATO; CUNHA, 2012)

O colágeno tipo I é a principal fibra constituinte das aponeuroses e fâscias, seguido de menor quantidade do tipo II. As fibrilas do tipo I são geralmente mais grossas e longas, (20 a 100nm de diâmetro) agregam-se, por intermédio dos colágenos do tipo XII e XIV e de proteoglicanas, em fibras colágenas (cerca de 2 μ m de diâmetro, portanto, visíveis ao microscópio de luz), de trajeto ligeiramente ondulado. As fibras podem ainda ser agrupadas em feixes (10 a 20 μ m de diâmetro), a do tipo III tem apresentação de 0,5 a 2 μ m de diâmetro

(ROSS ; PAWLINA, 2016)

A falta de colágeno sobre os tecidos pode gerar efeitos drásticos ao seu desenvolvimento, como a redução na espessura, resistência e tensão da pele, ocasionando diversas complicações nível estrutural, tais como: musculatura flácida, diminuição da densidade óssea, perda da elasticidade e força motora das articulações e ligamentos (TRUBIAN; CAMPOS; MATIS, 2004).

As propriedades tensionais dos tecidos têm relação íntima com os tipos de colágeno, o que depende da interação entre as moléculas e os seus substratos de formação. O arranjo helicoidal das fibras fornece a estrutura físico-químico-mecânica adequada para um tecido de sustentação maleável às forças a que ele é submetido. As interações entre

os principais tipos de colágeno são associadas pelas uniões covalentes a partir da síntese que ocorre no nível intracelular; por conseguinte, a procura do método de identificação dos tipos de colágeno pode ser feita com bases na imuno-histoquímica. (ROBBINS,2000).

A finalidade da coloração é dar cor a diferentes estruturas que compõem os tecidos, permitindo assim a visualização de suas estruturas. Por meio das técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas, vários aspectos biológicos das macromoléculas de colágenos podem ser evidenciados. As técnicas de coloração histológica conseguem diferenciar de maneira geral as fibras musculares das fibras de colágeno. A coloração de hematoxilina eosina (HE) é a mais comum, provavelmente a técnica mais utilizada na coloração dos tecidos, devido à sua simplicidade e à sua capacidade de permitir observar uma grande quantidade diferente de estruturas teciduais. A hematoxilina cora em azul ou violeta o núcleo das células e outras estruturas ácidas (como porções do citoplasma rica em RNA e matriz da cartilagem hialina). A eosina cora o citoplasma e o colágeno em cor de rosa, laranja ou vermelho. As técnicas que são utilizadas para a coloração do tecido conjuntivo são as tricrômicas, técnicas que seletivamente evidenciam o músculo, fibras de colágeno, fibrina e eritrócitos. São usados três corantes, um dos quais é nuclear. Um dos mais usados corresponde ao Tricrômio de Masson, que cora de vermelho o músculo e a fibrina e de azul esverdeado o colágeno. (JUNQUEIRA ; COSSERMELLI ; BRENTANI, 1978.)

A coloração por Picrosirius é um procedimento específico para o colágeno, uma vez que não cora fortemente as glicoproteínas. Nos experimentos ocorrem aumento de pelo menos 700% na intensidade da luz devido a birrefringência do colágeno corado pelo picrosirius, quando comparados com controle, essa característica é responsável pelas imagens claras, que permitem a observação acurada do colágeno em diferentes tecidos. (JUNQUEIRA; BIGNOLAS ; BRENTANI, 1978).

A diferenciação das cores deve-se a espessura das fibras, o espectro das diferentes cores de polarização, obtidas depois da coloração por picrosirius, e é útil na diferenciação dos vários tipos de colágeno. (JUNQUEIRA ; MONTES; SANCHEZ, 1982)

O fenômeno de birrefringência, que se refere ao grau de retardamento da luz polarizada linear, é natural nas fibras de colágeno. Isso ocorre pelo ordenamento paralelo das moléculas de colágeno nas fibrilas, bem como pela orientação das próprias fibras. (PICKERING ; BOUGHNER, 1990).

Um método histoquímico utilizado para a avaliação do tecido conjuntivo é o Picrosirius Red, que diferencia os tipos de colágeno pela birrefringência das fibras em microscópio óptico de luz polarizada. Assim, diferentes tonalidades são observadas conforme o tipo de arranjo molecular presente (Junqueira et al., 1978). Entretanto, no início do desenvolvimento desse método, ficou evidente que a espessura do corte histológico é de grande importância na cor e intensidade da birrefringência exibida pelo colágeno. (JUNQUEIRA; COSSERMELI; BRENTANI, 1978).

A coloração com Picrosirius Red sob luz polarizada permite uma análise qualitativa das fibras colágenas do tecido conjuntivo, através da diferente interferência de cores, intensidade e birrefringência dos tecidos corados, diferenciando principalmente fibras do tipo I e III. As fibras tipo I (maduro) se apresentam como fibras grossas, com maior entrelaçamento e maior espessura, altamente birrefringentes e na cor laranja-avermelhada, enquanto que as fibras do tipo III (imaturado) se apresentam em feixes finos, mais afilados e menos entrelaçados com fraca birrefringência e na cor amarelo-esverdeado. Em suma esse método é bastante sensível e eficaz para o estudo da biologia do colágeno, correlacionando as características histoquímicas e morfológicas no processo de reparo tecidual, assim como para analisar a quantificação, disposição e organização do colágeno em tecidos normais e patológicos. (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1978).

Em virtude da grande número de luxações do ombro descritos na literatura e observados nas emergências traumatológicas e importância da banda anterior do ligamento glenoumeral inferior na estabilidade desta articulação, realizou-se um estudo sobre a expressão do colágeno neste ligamento, através da técnica de coloração Picrosirius Red sob luz polarizada com quantificação de colágeno onde mostra claramente as imagens de colágeno tipo I e tipo III, se faz necessário para compreender melhor a composição deste ligamento em fetos que não sofreram qualquer lesão traumática ou degenerativa, assim como relacionar com a biomecânica já amplamente conhecida.

2. OBJETIVO

Avaliar e descrever quantitativamente a expressão do colágeno tipo I e do tipo III na banda anterior do ligamento glenoumeral inferior em fetos humanos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para utilização das amostras de fetos não reclamados e destinados a este estudo, nos experimentos, foi obtida a autorização do Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará, sob protocolo N^o 199/01. Trata-se de um estudo quantitativo e qualitativo, onde foram obtidas quatro bandas anteriores dos ligamentos glenoumerais inferiores em sua porção anterior, provenientes de três fetos congelados, sendo que em um feto foi utilizado os ombros bilateralmente e nos outros dois fetos foram escolhidos os ombros direito ou esquerdo. Os fetos eram um do sexo masculino e dois do sexo feminino. O feto denominado como 50 pesava 800g, idade gestacional de 23 semanas e 4 dias e era do sexo feminino; o feto denominado como 51, pesava 880g, idade gestacional de 25 semanas e 0 dias, era do sexo feminino: o feto denominado como 52, pesava 1350g, idade gestacional de 31 semanas e 5 dias, do sexo masculino. Os fetos não apresentavam sinais de lesão traumática e degenerativa. Todos os cadáveres encontravam-se congelado a uma temperatura de -20° C, sendo descongelados à temperatura ambiente.

3.1 Obtenção da Amostra

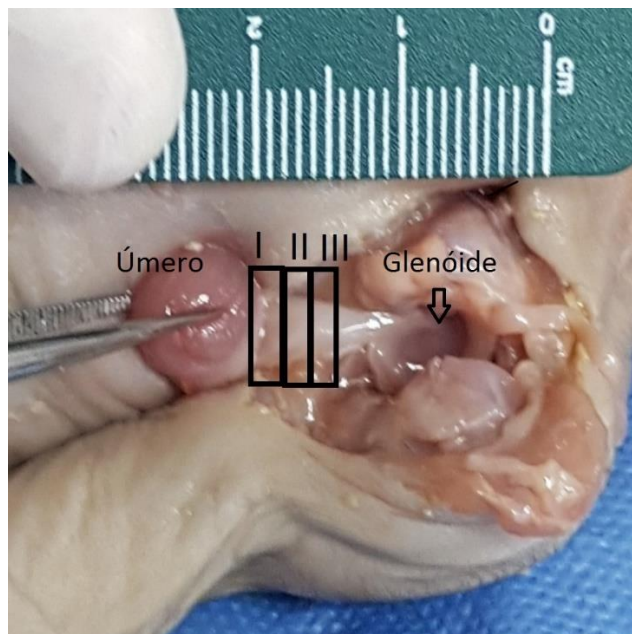
A dissecação do cadáver, posicionado em decúbito dorsal, após medição inicial, fez-se medição na região do ombro e depois iniciou-se uma incisão no sulco deltopeitoral de aproximadamente 2,5 cm e, em seguida, realizou-se a abertura do espaço articular através da tenotomia do músculo subescapular e da cápsula com visualização direta do espaço (Figura 1). Foi visualizado e individualizado a banda anterior do ligamento glenoumeral inferior com ressecção do mesmo junto a cartilagem umeral associado com parte medial do ligamento, onde foram identificados as três porções, onde a porção 1 foi representada pela área proximal a inserção do úmero, a porção 2 foi representada pela área intermediária, e a porção 3 a área próximo a inserção da glenóide, as porções foram avaliadas tendo como ponto de referência a cartilagem umeral (Figura 2). Posteriormente, as amostras foram colocadas em formol e encaminhadas para o Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, sob protocolo de N 199/01.

Figura 1- Via de acesso deltopeitoral.



Fonte: Próprio autor

Figura 2- Identificação das 03 porções estudadas: 1- próximo ao úmero, 2- porção medial e 3- próximo a glenóide.



Fonte: Próprio autor

3.2 Confeção de lâminas histológicas

Os fragmentos do tecido foram imersos em formol neutro a 10% por 24 horas. Quarenta e oito horas depois, os mesmos foram lavados em água corrente e analisados macroscopicamente, sendo examinadas alterações na forma, coloração e consistência. Posteriormente, as peças foram colocadas em cassetes e seguidas para processamento histotécnico automatizado PT05 LupTec® passando por desidratação em série alcoólica crescente, diafanização em xilol, impregnação em parafina, fundição a 60°C e inclusão dos espécimes formando blocos parafinados à temperatura ambiente.

Os fragmentos foram seccionados com cortes de 5 µm de espessura e corados utilizando a coloração de rotina para histologia hematoxilina-eosina e montadas em bálsamo de Canadá (JUNQUEIRA,1983) para análise em microscópio de luz convencional e verificação das estruturas microscópicas, com o intuito de afastar possíveis processos patológicos no ligamento glenoumeral inferior.

3.3 Coloração de Picrosirius Red

As lâminas foram confeccionadas através de cortes de 3µm dos blocos parafinados selecionados. Foi realizada a desparafinização em estufa a 60°C por 3h, seguida de 3 (três) banhos de 5 minutos em xilol, reidratação em solução de etanol decrescente (90%, 85% e 70%), com posterior lavagem com água, incubação em solução de picrosirius (ScyTek®) por 30 minutos e realização de dois banhos de ácido clorídrico 5%. A contra-coloração dos espécimes foi feita com hematoxilina de Harris por 45 segundos e, em seguida, realizou-se a montagem com Enthellan®.

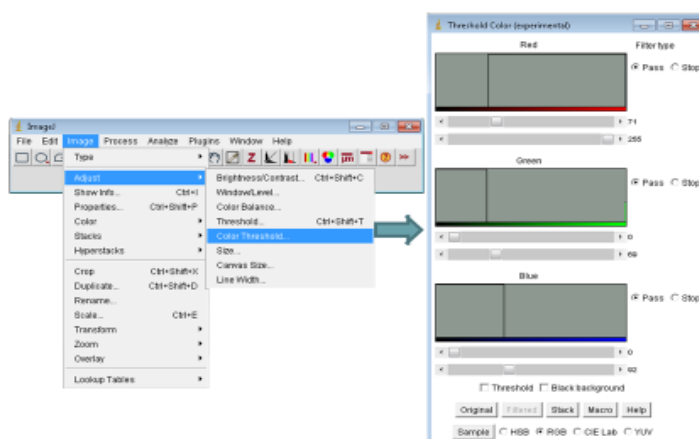
A avaliação dos resultados foi realizada primeiramente pela identificação dos três campos das lâminas em um aumento de 400x, os quais foram fotografados com uso de câmera DFC 295, acoplada ao Microscópio Leica® DM 2000, seguida pelas análises das fotomicrografias pelo *software* Image J® (RSB) (Figura 2). As fotomicrografias foram tomadas em luz convencional e em luz polarizada em cada campo no maior aumento (200x).

Após a tomada da fotomicrografia em luz convencional, foi realizada a calibração 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 0 e Máximo de 69) e azul (Mínimo de 0 e Máximo de 92).

Após a calibração, as imagens foram convertidas para a escala de cor de 8-bits (Image>Type> 8-bit), binarizadas (Process>Binary>MakeBinary) e mensuradas através da porcentagem de área de colágeno marcada em vermelho (Analyse>AnalyseParticles).

As imagens em luz polarizada seguiram o mesmo protocolo na função RGB para Vermelho (Mínimo de 0 e Máximo de 255), Verde (Mínimo de 0 e Máximo de 255) e azul (Mínimo de 0 e Máximo de 32). Após ajuste, as imagens foram convertidas para a escala de cor de 8-bits (Image>Type> 8-bit), binarizadas (Process>Binary>MakeBinary), e mensuradas através da porcentagem de área de colágeno com birrefringência amarelo avermelhado (compatível com colágeno tipo I). Em seguida, do total da área marcada em vermelho, foi separado um percentual da região ocupada somente pela birrefringência amarelo avermelhada. A área verde-esbranquiçada, relativa ao colágeno tipo III, foi obtida pela subtração da região total marcada em vermelho e o percentual marcado unicamente pela cor amarelo avermelhada.

Figura 3- Quantificação do colágeno (Software ImajeJ).



Fonte: Próprio autor

3.4 Análise estatística

Os dados foram tabulados no Microsoft Excel, exportados para o software GraphPadPrism 5.0 no qual as análises foram realizadas adotando uma confiança de 95%. Após avaliação da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, foi expressa a média e os erros padrão de cada grupo, comparados por meio do teste ANOVA seguido do pós-teste de Tukey (dados paramétricos), para avaliação dos resultados do colágeno tipo I e tipo III entre as porções. Também foram avaliadas a relação de colágeno I / III (divisão de colágeno I pelo colágeno III) em cada uma das porções de cada amostra da banda anterior do ligamento glenoumeral inferior perfazendo um total de 12 porções analisadas estatisticamente.

4. RESULTADOS

Em todos os casos de dissecação, observou-se que a banda anterior do ligamento glenoumeral inferior encontrava-se entre 330° e 30° graus do posicionamento da glenóide, inserindo-se no úmero entre 330° e 30°, quando comparado com uma circunferência.

Os quatro ligamentos glenoumerais inferiores avaliados provenientes de fetos foram dois ombros direito e dois ombros esquerdos, com peso gestacional entre 800 g e 1350 g e idade gestacional que variava entre 23 semanas e 4 dias e 31 semanas e 5 dias. (Tabela 1)

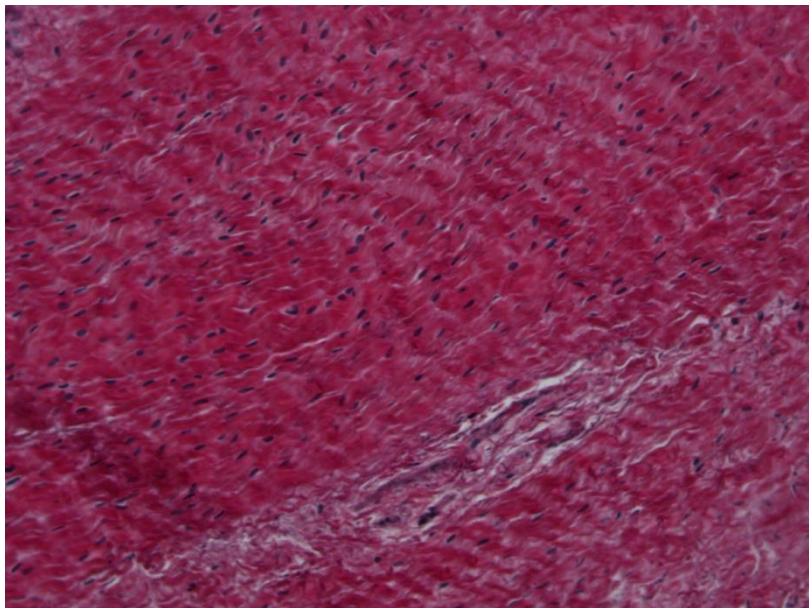
Tabela 1- Identificação, lado, peso e idade do feto.

Identificação do feto	Lado ombro	Peso	Idade gestacional
50	Direito	800g	23s4d
51	Esquerdo	880g	25s0d
52	Direito	1350g	31s5d
52	Esquerdo	1350g	31s5d

Fonte: Próprio autor.

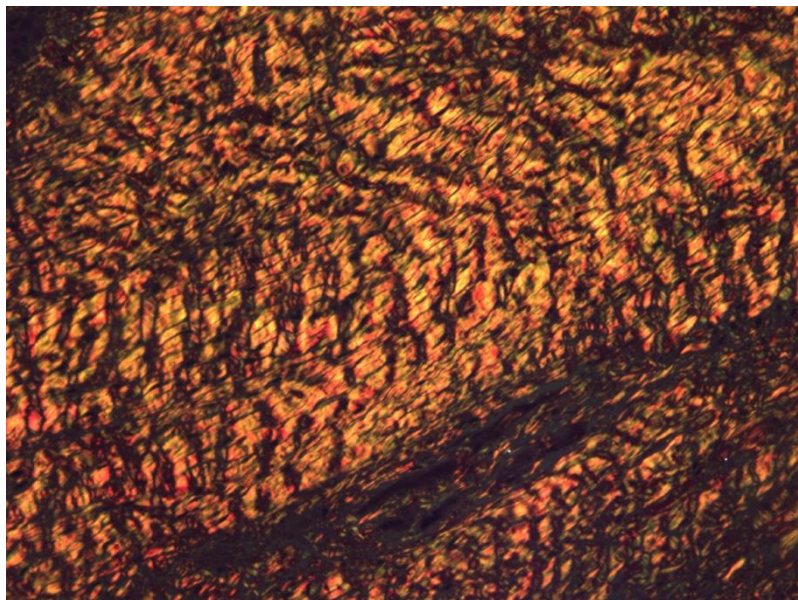
Foram obtidas imagens das lâminas para posteriormente serem analisadas e quantificadas nas três porções: 1, 2 e 3, onde a porção 1 representa a área mais próxima a inserção do úmero, a porção 2 representa a área intermediária e a porção 3 representa a parte próxima a inserção da glenóide. Inicialmente, foram analisadas as lâminas em HE, seguida das imagens em picrosirius inicialmente sem polarização (Figura 4), onde mostra o colágeno total, seguido de imagens com polarização onde observou-se predomínio do colágeno tipo I (Figura 5) ou do colágeno III (Figura 6).

Figura 4 – Imagem corada em picrosirius sem polarização (Colágeno total)
(x 200).



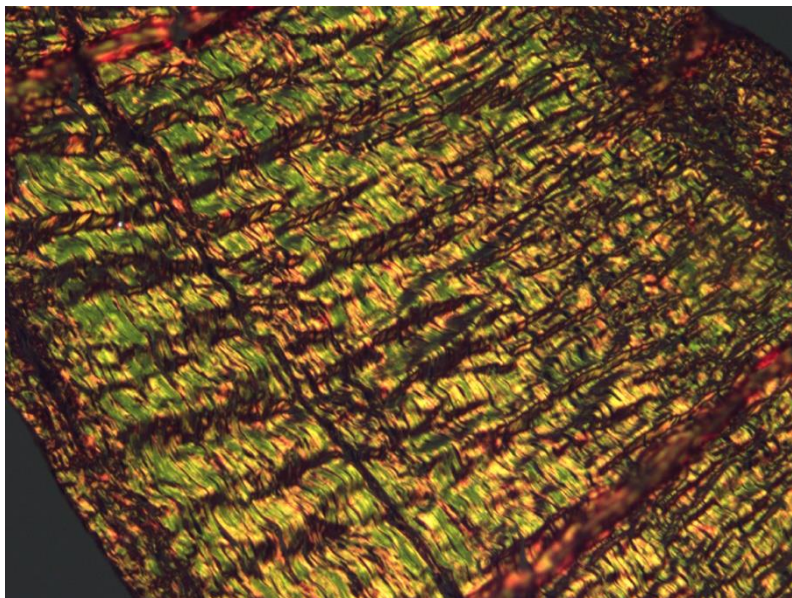
Fonte: Próprio autor.

Figura 5 – Imagem corada Picrosirius polarizada com predomínio de Colágeno I (x200).



Fonte: Próprio autor.

Figura 6 – Imagem corada Picrosirius polarizada com predomínio de Colágeno III (x200).



Fonte: Próprio autor.

A porção 1 que representa o campo da inserção ligamento glenoumeral inferior na cabeça do úmero apresentou uma composição de colágeno tipo I que variou entre 74,15% e 81,32%, com uma média de 77,20%, enquanto a composição de colágeno tipo III variou entre 18,68% e 25,85%, com uma média de 22,80%. (Tabela 2).

Tabela 2- Percentual colágeno I e III na porção 1.

Identificação fetos/ Porção	Percentual colágeno I	Percentual colágeno III
1		
51e	81,32%	18,68%
52e	74,15%	25,85%
52	77,50%	22,50%
50d	75,85%	24,15%
Média	77,20%	22,80%

Fonte: Próprio autor

A porção 2 que representa o campo intermediário entre a inserção do ligamento glenoumeral inferior na cabeça do úmero e a parte próxima a inserção da glenóide

apresentou uma composição de colágeno tipo I que variou entre 43,89% e 93,51%, com uma média de 74,89% , enquanto a composição de colágeno tipo III variou entre 6,49% e 56,11%, com uma média de 25,11%.(Tabela 3)

Tabela 3- Percentual colágeno I e III na porção 2.

Identificação fetos/ Porção	Percentual colágeno I	Percentual colágeno III
2		
51e	87,27%	12,73%
52e	43,89%	56,11%
52	74,87%	25,13%
50d	93,51%	6,49%
Média	74,88%	25,11%

Fonte: Próprio autor

A porção 3 que representa a parte próxima a inserção da glenóide apresentou uma composição de colágeno tipo I que variou entre 32,71% e 71,65 % , com uma média de 53,82%, enquanto a composição de colágeno tipo III variou entre 28,35% e 67,29%, com uma média de 46,18% .(Tabela 4)

Tabela 4- Percentual colágeno I e III na porção 3.

Identificação fetos/Porção	Percentual colágeno I	Percentual colágeno III
3		
51e	32,71%	67,29%
52e	40,07%	59,93%
52	70,86%	29,14%
50d	71,65%	28,35%
Média	53,82%	46,18%

Fonte: Próprio autor

A avaliação da quantificação total de colágenos I e III quando consideradas as três porções do ligamento glenoumeral inferior apresentaram um percentual de colágeno I que variou entre 51,12% e 80,75% com uma média de 67,93% e de colágeno tipo III que variou entre 19,25% e 48,88% com média de 32,07% (Tabela 5).

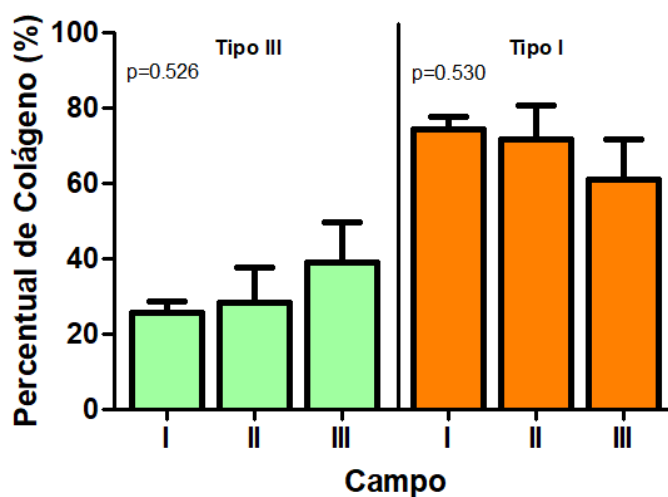
Tabela 5- Percentual colágeno I e III considerando as três porções.

Identificação fetos/ Porção 1,2,3	Percentual colágeno I	Percentual colágeno III
51e	65,55%	34,45%
52e	51,12%	48,88%
52	74,29%	25,71%
50d	80,75%	19,25%
Média	67,93%	32,07%

Fonte: Próprio autor

A análise estatística demonstrou que não há diferença da quantidade de colágeno tipo I e de colágeno tipo III quando se avalia o percentual médio desses colágenos nas porções 1, 2 e 3 (Gráfico I).

Gráfico I-Quantificação dos colágenos I e III entre as porções.

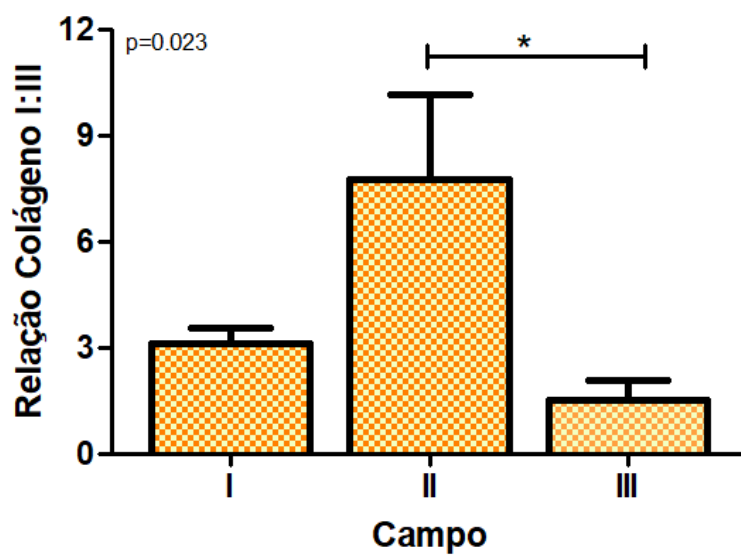


Fonte: Próprio autor

A relação do colágeno tipo I e III quando avaliados em cada porção de cada amostra, observou-se não existir diferença estatística entre as porções 1 e 3, entretanto a

diferença é estatisticamente significativa quando comparada a porção 2 em relação a porção 3 (Gráfico II).

Gráfico II- Relação entre os colágenos I e III nas porções.



Fonte: Próprio autor

5. DISCUSSÃO

A literatura apresenta poucos trabalhos de estudo de colágeno realizados em fetos humanos, assim como teve-se dificuldade em encontrar trabalhos comparativos entre ligamentos entre fetos e adultos, que demonstrem a modificação do tipo de colágeno com a avançar da idade.

Foram avaliadas 04 bandas anteriores do ligamento glenoumeral inferior em fetos humanos. Não foram encontrados muitos artigos na literatura sobre estudo de colágeno em ligamentos de fetos humanos, entretanto Asgari et al (2017) realizaram estudo com 20 joelhos de fetos e Ozen et al. (2015) realizaram um estudo comparativo entre 10 joelhos e cotovelos fetais e 02 joelhos humanos para avaliar alterações de colágeno. Segundo Alves et. al (2015) outro estudo com maior número de amostras foram encontrados, mas em estudo de animais como ratos, coelhos, bovinos, peixes.

Utilizou-se os métodos de polarização por coloração picrosirius red para distinguir os colágenos tipo I e tipo III, estes métodos têm sido amplamente usados para determinar o conteúdo de colágeno em vários tecidos moles, pois mostrou-se um método confiável para avaliação dessas estruturas. O método de polarização por coloração do picrosirius red pode distinguir e determinar o nível de colágeno tipos I e III e tem sido usado em muitos tecidos, como pele, pulmão, cartilagem, ligamento periodontal, ligamento vocal e tendão (WAN; HAO; WEN, 2013). Este método mostrou resultados semelhantes aos obtidos com imuno-histoquímica na avaliação de colágeno (CUTTLE et al. 2005). Essa coloração contribui para a melhor compreensão da participação do colágeno na biologia dos tecidos e na patologia (JUNQUEIRA; MONTES; SANCHEZ 1982).

Encontrou-se os colágenos tipo I e tipo III em toda a estrutura do ligamento estudada, entretanto com diferença na relação de colágeno tipo I/III entre as porções, mas com predomínio do colágeno tipo I. Nordin, Frankel (2001) descreveu que os ligamentos são materiais compostos biológicos que geralmente consistem em fibras de substância fundamental, colágeno e elastina e que os tipos I e III de colágeno são os principais constituintes das fibras de colágeno, sendo que o colágeno tipo I representa aproximadamente 90% e o tipo III é responsável pelo restante. Junqueira, Bignolas e Brentani (1978) sugeriram que o colágeno tipo I é principalmente espesso e densamente acondicionado em fibrilas espessas, enquanto que o colágeno tipo III é principalmente

composto por finas fibras. A diferença entre o diâmetro das fibras do colágeno I e III foram estatisticamente significantes (WAN; HAO; WEN, 2013).

No presente estudo mostrou que a porção 1 das 4 amostras do ligamento glenoumeral inferior, a área mais proximal a inserção do úmero tem uma porcentagem superior de colágeno tipo I em relação ao colágeno tipo III, e que na porção 2, área intermediária e porção 3 área próxima à inserção da glenóide houve um gradativo aumento da porcentagem do colágeno tipo III, e uma diminuição do colágeno tipo I, o que se correlaciona com os achados de Ticker et al (2006), em regiões mais centrais do ligamento glenoumeral inferior, o alinhamento do feixe de fibras são mais finos e mais uniformes, característico do colágeno tipo III, em comparação com a área de inserção do úmero, que tem o alinhamento do feixe de fibras mais espessos e menos uniforme, característico do colágeno tipo I.

A relação do colágeno tipo I e tipo III foi alternando nas diferentes porções estudadas, entretanto entre as porções 1 e 2 não houve diferença estatisticamente significativa, mas esta diferença foi significativa quando se comparou as porções 2 e 3, mostrando que o percentual de colágeno I em relação ao colágeno III foi superior na porção 2, após análise estatística das 12 porções coletadas, o que demonstra um predomínio do colágeno I na estrutura do ligamento mais próxima da cartilagem umeral, semelhante ao estudo de Wan, Hao, Wen (2014) que mostraram que as distribuições de colágeno tipo I e tipo III em ligamentos colaterais mediais dos joelhos de coelhos o conteúdo de colágeno tipo I era significativamente menor na porção central dos ligamentos do que na periferia. Silver, Horvath e Foran (2002) mostraram que a molécula de colágeno tipo III é mais flexível que a molécula de colágeno tipo I; assim, fibras ricas em colágeno tipo III são mais extensíveis que aquelas ricas em colágeno tipo I (ou seja, o colágeno tipo III é menos rígido que o colágeno tipo I), portanto, as distribuições não homogêneas dos vários tipos de colágeno podem explicar parcialmente as propriedades de material heterogêneo dos ligamentos.

Pauly et al (2010) relataram um aumento da frequência de luxação recidivante em pacientes mais jovens, sendo um ponto de corte para o aumento dos casos, onde abaixo de 20 anos os pacientes apresentam um risco de 64% e acima de 40 anos, 6%.

Asgari et al (2017) obtiveram resultados que indicaram que as proporções de colágeno tipo I e tipo III variam entre as diferentes faixas etárias, onde à medida que a idade aumenta de 1,5 meses para 12 a 13 meses, a proporção de colágeno tipo I aumentou. Em contraste, a proporção de colágeno tipo III diminuiu. As alterações no colágeno tipo

I e tipo III durante a maturação de ligamentos saudáveis são similares à variação nos conteúdos de colágeno durante a fase inicial da cicatrização do ligamento.

A diminuição da frequência de luxação com a avançar da idade credita-se principalmente a menor exposição a traumas, mas com a tendência observada de aumento do colágeno I e com o conhecimento de suas propriedades, podemos aferir que o tipo de colágeno também possa ser um fator importante para aumentar a estabilidade do ombro, diminuindo assim a frequência de luxação (ASGARI,2017).

A banda anterior do ligamento glenoumeral inferior é a principal estrutura estabilizadora do ombro, sendo que devido esta importância foi realizado este estudo que mostrou uma relação colágeno I /III maior na parte mais proximal do úmero quando comparada com a parte próxima a inserção da glenóide , isto se deve as características do ligamento, pois como mostraram Pinheiro Junior et al (2003) , em estudo biomecânico que o ligamento glenoumeral inferior apresentava uma constante de força maior na parte proximal do ligamento em contraponto a parte mais próxima a glenóide, sendo necessário uma força de maior intensidade para romper o ligamento na origem umeral e força de menor intensidade na parte medial do ligamento, e que após avaliação da fase elástica, utilizando a lei de Hooke, as constantes do ligamento foram 10,507 N/mm para o grupo I e 13,80 N/mm para o Grupo II, enquanto na fase de rigidez, obtiveram os valores de 511,56 N/mm para o Grupo I que apresentavam origem e inserção óssea e de 156,84 N/mm para o Grupo II na parte próxima a inserção da glenóide. Comparando com os achados deste trabalho podemos verificar que na parte proximal que apresenta uma relação de Colágeno tipo I / III maior, se torna necessário uma força maior para ocasionar lesões e que na parte medial do ligamento uma força menor, já que nesta parte, a relação entre colágeno I /III é menor. Com estes achados podemos explicar a classificação de Neer para luxação recidivante do tipo adquirida, onde pequenos traumas causam uma deformidade plástica do ligamento (NEER; FOSTER,1980) .

Este trabalho apresentou uma amostra pequena, o que torna necessário aumentar esta amostra, assim como realizar este estudo em adolescente e adultos, para observar se realmente ocorre o aumento da relação colágena I/III com o avançar da idade e a importância dessa composição de colágeno nos ligamentos em diferentes faixas etárias e consequentemente buscar um melhor entendimento do comportamento biomecânico.

6. CONCLUSÃO

O colágeno tipo I apresenta um percentual maior do que o colágeno III em toda estrutura estudada da banda anterior do LGUI, entretanto a relação do colágeno tipo I/ III é maior na parte proximal a inserção do úmero do que na parte próxima a inserção da glenóide.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A.P.N.N; LIMA VERDE,M.E.Q; FERREIRA JUNIOR,A.E ; SILVA,P.G.B; FEITOSA,V.P; LIMA JÚNIOR,E.M; MIRANDA,M.J.B;MORAES FILHO,M.O. Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de propriedades tensiométricas da pele de tilápia do Nilo, **Rev Bras Queimaduras**;14(3);203-10,2015.
- ASGARI, M; LAFITI, N; HERIS, H.K; VALI, H; MONGEAU, L. In vitro fibrillogenesis of tropocollagen type III in collagen type I affects its relative fibillar topology and mechanics. **Sci Rep**, May 3;7(1);1392, 2017.
- BANKART, A.S.B. The pathology and treatment of recurrent dislocation of the shoulder joint. **Br. J. Surg.**, v. 26, p.23-9, 1938.
- BIGLIANE, L.U; POLLOCK, G; SOSLOWSKY, L.J; FLATOW, E.L; PAWLUK, R.J; MOW V.C. Tensile properties of the inferior glenohumeral ligament . **J Orthop Res**, v. 10, p.187-197, 1992.
- BURKART, A; DEBSI, R. Anatomy and function of the glenohumeral ligaments in anterior shoulder instability. **Clinical orthopaedics and Related Research.**;400:32-39,2002.
- CAIN, P.R; MUTSCHELER, T.A. Anterior stability of the glenohumeral joint : A dynamic model. **Am J Sports Med** ,15: p.144-148. 1987.
- CUTTLE, L; NATAATMADJA, M.J; FRASER KEMPF, M; KIMBLE, R.M. Colágeno na pele ferida fetal sem cicatriz Detecção com polarização de Picrosirius . **Wound Repair and Regeneration** 13 : 198–204, 2005.
- DEBSKI, R.E ;WOOSL, E.K; SAKANEY;FU, F.H; WARNER, J.J. In Situ Force Distribution in the Glenoumeral Joint Capsule during Anterior-Posterior Loading. . **J Orthop Res**. v. 17, p. 769-776,1999
- DUARTE, F. O. S. **Propriedades funcionais do colágeno e sua função no tecido muscular**. Programa de Pós - Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2011.
- FRIESS, W. Collagen – biomaterial for drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, vol. 45, no. 2, p.: 113-136, 1998
- GALENUS: On the usefulness of the parts of the body, Vol. 2.Transled and edited by **M.T.May.Ithaca**, New York, Cornell University Press, 1968.
- GARTNER & HIATT. **Tratado de Histologia**. 4 edição in: LESLIE P.GARTINER. Op. cit., pp. 75-76, 138, 2017

GOLDBERG & RABINOVITCH. **Tratado de Histologia**. 4 edição Op. cit., pp 132, 134, 137-138, 2017

HAYES, K; CALLANAN, M; WALTON, J; PAXINOS, A; MURRELL, G.A. Shoulder instability: management and rehabilitation. **J Orthop Sports Phys Ther** ;32: 497-509,2002

HUSSEIN, M.K. Kocher's method is 3000 years old. **J Bone Joint Surg** , 50B: 669-671, 1968.

ITOI, E. ; TABATA ,S. Rotator cuff tears in anterior dislocation of the shoulder. **Int Orthop** (SICOT) 16: 240-244,1992.

JUNQUEIRA, L.C.U; BIGNOLAS, G; BRENTANI, R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy. A sensitive and specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochem. J**; 11:447-55,1978

JUNQUEIRA, L.C.U; CARNEIRO, J. Tecidos conjuntivos. In: JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.65-87, 1999.

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. Livraria e Editora São Paulo, 123 p, 1983

JUNQUEIRA, L.C.U; MONTES, G.S; SANCHEZ, E.M. The influence of tissue on the study of collagen by the picrosirius-polarization method. **Histochemistry**; 74:153-6, 1982

KAZAR , B; RELOVVSKY, E. Prognosis of primary dislocation of the shoulder. **Acta Orthop Scand** 40: 216,1969.

LEE, T.Q; DETTLING, J; SANDUSKY, M.D, MCMAHON, P.J. Age related biomechanical properties of the glenoid-anterior band of the inferior glenohumeral ligament-humerus complex. **J Biomech**, v. 14, p.471-476, 1999.

MAHASAN, L.M.A; SADEK,S.A. Developmental Morphological and Histological Studies on Structures of the Human Fetal Shoulder Joint . **Cells Tissues Organs** ,170:1–20, 2002.

MATSEN III, F.A; THOMAS, S.C; ROCKWOOD, C.A: Anterior glenohumeral instability .In Rockwood, C.A.; Matsen III, F.A.: **The Shoulder**. 1.ed. v.1. Philadelphia: Saunders, p. 526-551, 1990

NEER, C.S.II; FOSTER,C.R. Inferior capsular shift for involuntary inferior and multidirecional instability of the shoulder: a preliminary report. **J. Bone Joint Surg.** [Am], v. 62, p. 897-908, 1980.

NORDIN, M; FRANKEL, V.H. Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001

O'BRIEN, S.J; NEVES, M.C; ARNO CZKY, S.P; ROZBRUCK, S.R; DICARLO, E.F; WARREN, R.F; SCHWARTZ, R; WICKIEWICZ, T.L.The anatomy and histology of the inferior glenoumeral ligament complex of the shoulder. **Am J Sports Med** ,v.18, n.5, p. 449-456, 1990.

ÖZEN, Ü ; ANIL, A .; ÖMEROGLU, S ; PEKER, T; COSKUN, Z. K; LIMAN, A.F. Investigación comparativa del ligamento Conjunto de cadeiras e brinquedos para crianças em idade escolar e adultos. *Int. J. Morphol.*, 33 (4): 1491-1501, 2015.

PAULLY, S; KLATTE ,F; STROBEL, C; SCHMIDMAIER, G; GREINER, S; SCHEIBEL, M. Characterization of tendo cell cultures of the human rotator cuff. **Eur Cell Mater**;20:84-97, 2010.

PICKERING, J.G.; BOUGHNER, D.R. Cardiac allograft ischemic time: Assessment using polarized and digital image analysis. *Circulation*; 81:949-58,1990.

PINHEIRO JÚNIOR,J.A; LEITE,J.A.D ; MELO,F.E.A ; CAVALCANTE, J.S; CAMPOS,A.C.S; MOTA,C.W.C. Propriedades biomecânicas da banda anterior do ligamento glenoumeral inferior submetido a estresse, **Acta Ortop Bras**;11(2) 2003.

POLLOCK, R.G; WANG, V.M; BUCCHIERI, J.S; COHEN, N.P; HUANG, C.Y; PAWLUK, R.J; FLATOW, E.L; BIGLIANI, L.U; MOW, V.C. Effects of repetitive subfailure strain on the mechanical behavior of the Inferior Glenohumeral Ligament. **J Shoulder Elbow Surg**, v. 9, n. 5, p.427-448, September- October 2000.

ROBBINS. Patologia estrutural e funcional. c4 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

ROSS, M. H.; PAWLINNA, W. **Histologia- texto e Atlas- 7 Edição** op. cit., pp 170-175,2016

SANTANA, R.C; SATO, A.C.K; CUNHA, R.L. Emulsions stabilized by heat-treated collagen fibers. **Food Hydrocoll.** ;26(1):73-81.18,2012

SILVER, F.H; HORVATH, I; FORAN, D.J. Mechanical Implications of the Domain Structure of Fiber-Forming Collagens Comparison of the Molecular and Fibrillar Flexibilities of the $\alpha 1$ -Chains Found in Types I–III Collagen. **J Theor Biol** 216: 243–54, 2002

STEFKO, J.M; TIBONE, J.E; CAWLEY, P.W; ELATTRACHE, N.E; MCMAHON, P.J. Strain of the anterior band of the inferior glenohumeral ligament during capsule failure. **J Shoulder Elbow Surg.** v .6, n.5, p.473-9, Sep-Oct 1997.

TICKER, J.B; FLATOW, E.L, PAWLUK, R.J; SOSLOWSKY,L.J; RATCLIFFE; ARNOCKY,S.P; MOW,V.C; BIGLIANI,L.U. The inferior glenohumeral ligament: A correlative investigation. *J Shoulder Elbow Surg* ,November/December 2006.

TRUBIAN, P.S; CAMPOS, A.C.L; MATIAS, J.E.F. Influência do octreotide na cicatrização de sutura gástrica em ratos: Estudo tensiométrico e da morfometria do colágeno. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2004.

TURKEL, S.J; PANIO, M.W; MARSHALL, J.L, GIRGIS, F.G. Syabilizing Mechanics Preventing Anterior Dislocation of the Glenohumeral Joint. **J Bone Joint Surg** , v.63A, p. 1208-1217, 1981.

VIEIRA, G. B. Cosmiatria nos pacientes com sequelas de queimaduras. **Rev. Personalité**, v9, n. 48, p.9, 2006

WAN, C; HAO, Z.X; WEN, S.Z. Uma comparação quantitativa das características morfológicas e histológicas do colágeno no ligamento colateral medial de coelho . **Ann Anat** 195 (6) : 562-569, (2013)

WARNER, J.J; DENG, X.H; WARREN, R.F; TORZILLI, P.A Static capsuloligamentous restrains to superior-inferior translation of the glenohumeral joint. **Am J Sports Med**, v. 20, n.6, p.675-685, 1992.

ZIMMERMAN, L.M; VEITH I: Great Ideas in the History of Surgery: Clavicle, Shoulder, Shoulder Amputations. Baltimore: Williams & Wilkins, 1961.

