



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

DIEGO ARIEL DE LIMA

ESTUDO DAS TERMINAÇÕES NERVOSAS E MECANORRECEPTORES DO
LIGAMENTO ANTEROLATERAL DO JOELHO

FORTALEZA

2019

DIEGO ARIEL DE LIMA

ESTUDO DAS TERMINAÇÕES NERVOSAS E MECANORRECEPTORES DO
LIGAMENTO ANTEROLATERAL DO JOELHO

Tese 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 Doutor.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Luzete Costa Cavalcante

Co-orientador: Prof. Titular José Alberto Dias Leite

FORTALEZA

2019

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)

A746e Ariel de Lima, Diego.
ESTUDO DAS TERMINAÇÕES NERVOSAS E MECANORRECEPTORES DO LIGAMENTO
ANTEROLATERAL DO JOELHO / Diego Ariel de Lima. – 2019.
87 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação
em Ciências Médico-Cirúrgicas, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante.

Coorientação: Prof. Dr. José Alberto Dias Leite.

1. Ligamento. 2. Joelho. 3. Mecanorreceptores. 4. Terminações nervosas. 5. Imunofluorescência. I.
Título.

CDD 617

DIEGO ARIEL DE LIMA

ESTUDO DAS TERMINAÇÕES NERVOSAS E MECANORRECEPTORES DO
LIGAMENTO ANTEROLATERAL DO JOELHO

Tese 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 Doutor.

Aprovada em: 31/07/2019

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Titular José Alberto Dias Leite (Co-orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Camilo Partezani Helito
Universidade de São Paulo (USP)

Prof. Dr. Miguel Ricardo Barbosa Moraes
Clínica de Reabilitação Traumatológica (CRT)

Prof. Dr. Emanuel Kennedy Feitosa Lima
Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA)

Ao cadáver desconhecido.

AGRADECIMENTOS

À Prof^ª. Dr^ª. Maria Luzete Costa Cavalcante, que aceitou me orientar, me acolheu e me guiou.

Ao Prof. Titular José Alberto Dias Leite, que me abriu as portas da pós-graduação, desde a residência médica até o doutorado, sempre me incentivando e me apontando os caminhos corretos a seguir.

Ao Prof. Dr. Camilo Partezani Helito, que me apresentou a ideia do tema dessa tese.

Aos funcionários do Hospital Walter Cantídio – Universidade Federal do Ceará, os quais também me acompanham desde a residência médica, em especial a Sr^ª. Lúcia Maria do Vale Ribeiro e o Sr. Bento Francisco de Oliveira.

Aos estudantes de iniciação científica, pela grande contribuição e dedicação ao desenvolvimento desse trabalho, em destaque Francisco Magalhães Monteiro Neto, Daniel de Castro Silva e Matheus Baçal Pires dos Santos. Tenho certeza que serão profissionais brilhantes.

Aos professores e demais funcionários do Departamento de Cirurgia, os quais sempre estiveram de prontidão para ajudar, sobretudo Sr^ª. Maria Luciene Vieira Oliveira e a Sr^ª. Magda Fontenele de Sousa.

Aos servidores da Perícia Forense do Estado do Ceará, que me auxiliaram durante as dissecações, particularmente o Prof. Esp. Sângelo André Ribeiro Abreu e o Prof. Me. Victor Hugo Medeiros Alencar.

Aos funcionários da Central Analítica da Universidade Federal do Ceará, que sempre me receberam e tiveram toda a paciência para me atender, principalmente a Prof^ª Dr^ª. Rosemayre Souza Freire.

Aos colegas da turma de doutorado, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas

Aos amigos e familiares, que sempre estão prontos para ajudar.

Enfim, a ela que se tornou o pilar onde sei que posso me apoiar em quaisquer circunstâncias, minha esposa e companheira: Lana.

“Alegrai-vos porque em toda parte é aqui e tudo é agora” (frase budista).

RESUMO

O Ligamento Anterolateral (LAL) do joelho é considerado um estabilizador secundário do Ligamento Cruzado Anterior (LCA), afetando principalmente a estabilidade rotacional na falha do LCA. Contudo, o papel do LAL na estabilidade dinâmica e na propriocepção do joelho ainda não foi bem elucidado. Assim, visando compreender esse papel, o objetivo do presente estudo é descrever a morfologia e a distribuição das terminações nervosas e mecanorreceptores do LAL. Vinte Ligamentos Anterolaterais foram obtidos de cadáveres congelados. Os ligamentos foram medidos, pesados e cortados. As secções de 10µm foram preparadas em lâminas coradas com hematoxilina-eosina (HE), para analisar a integridade tecidual, e as secções de 50µm foram submetidas à imunofluorescência com *protein gene product* (PGP) 9.5 como anticorpo primário e Alexa Fluor 488 como anticorpo secundário, seguido por análise microscópica (Zeiss® LMS 710). O LAL foi identificado em 100% das dissecações, exibindo comprimento médio de $4,0 \pm 0,4$ cm, largura média de $5,5 \pm 0,8$ mm e peso médio de $0,9 \pm 0,2$ g. As secções histológicas em HE evidenciaram fibras colágenas densas e bem organizadas, além da presença de tecido vascular. Em todos os espécimes analisados foram identificados mecanorreceptores do tipo I (*Ruffini-like*) e do tipo IV (terminações nervosas livres), variando desde fibras paralelas até fibras em formato enovelado. Foram encontradas ainda terminações nervosas não classificadas, com formatos diversos e irregulares. Os elementos neurais ocuparam $0,6 \pm 0,3\%$ da área do ligamento, sendo a maioria encontrada próximo da origem femoral e das inserções tibial e meniscal. Dessa forma, concluiu-se que o LAL é uma estrutura ligamentar distinta no aspecto anterolateral do joelho e apresenta estrutura nervosa periférica, primariamente mecanorreceptores tipo I e IV. Tais achados levam a crer que o LAL apresenta importância para a propriocepção e estabilização anterolateral do joelho.

Palavras-chave: Ligamento. Joelho. Mecanorreceptores. Terminações nervosas. Imunofluorescência.

ABSTRACT

The Anterolateral Ligament (ALL) of the knee is considered a secondary stabilizer of the Anterior Cruciate Ligament (ACL), mainly affecting the rotational stability in ACL failure. However, the role of LAL in dynamic stability and knee proprioception has not been well elucidated. Thus, aiming to understand this role, the aim of the present study is to describe the morphology and distribution of the ALL mechanoreceptors and nerve ending. Twenty ALL were obtained from fresh frozen cadavers. The ligaments were measured, weighed and cut. The 10 μ m sections were prepared in hematoxylin-eosin (HE) stained slides in order to analyze tissue integrity, and the 50 μ m sections were subjected to immunofluorescence with the protein gene product (PGP) 9.5 as primary antibody and Alexa Fluor 488 as secondary antibody, followed by microscopic analysis (Zeiss[®] LMS 710). The ALL was identified in 100% of the dissections, exhibiting a mean length of 4.0 ± 0.4 cm, a mean width of 5.5 ± 0.8 mm and a mean weight of 0.9 ± 0.2 g. The histological sections in HE showed dense well-organized collagen and the presence of vascular tissue. All the specimens analyzed contained type I (Ruffini-like) mechanoreceptors and type IV (free nerve endings), varying from parallel to intertwined fibers. Unclassified nerve endings with different irregular shapes were also found. The neural elements occupied $0.6 \pm 0.3\%$ of the ligament area and most were observed near the origin of ALL insertions. Thus, it was concluded that ALL is a distinct ligament structure in the anterolateral aspect of the knee and exhibits a peripheral nerve structure, primarily type I and IV mechanoreceptors. These findings suggest that the ALL is important for the proprioception and anterolateral stabilization of the knee.

Keywords: Ligament. Knee. Mechanoreceptors. Nerve endings. Fluorescent Antibody Technique.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Fratura de Segond	16
Figura 2	– Ligamento Anterolateral do joelho	17
Figura 3	– <i>Lateral Femoral Notch</i>	18
Figura 4	– Ligamento Anterolateral do joelho (LAL) identificado em exame de ressonância magnética (RM)	23
Figura 5	– Fluoroscopia do joelho em perfil demonstrando os pontos de inserção femoral e tibial do Ligamento Anterolateral do joelho	25
Figura 6	– Classificação de Freeman e Wyke	33
Tabela 1	– Classificação de Freeman e Wyke	34
Figura 7	– PGP 9.5 e anticorpos primário e secundário	38
Figura 8	– Dissecção anterógrada do Trato Iliotibial (ITB)	42
Figura 9	– Dissecção anterior ao Bíceps Femoral	42
Figura 10	– Isolamento do ligamento colateral lateral	43
Figura 11	– Isolamento do Ligamento Anterolateral do joelho	43
Figura 12	– Isolamento e medidas do Ligamento Anterolateral (LAL) do joelho	44
Figura 13	– Secção em criostato do Ligamento Anterolateral do joelho	45
Figura 14	– Secção em criostato do Ligamento Anterolateral do joelho	46
Figura 15	– Microscópio confocal a <i>laser</i> dos cortes de 50µm do Ligamento Anterolateral	47
Tabela 2	– Dados dos Ligamentos Anterolaterais obtidos	49
Figura 16	– Coloração em HE dos Ligamentos Anterolateral, Cruzado Anterior e Colateral Lateral	50
Figura 17	– Mecanorreceptor <i>Ruffini-like</i> (tipo I de Freeman e Wyke) identificado no Ligamento Anterolateral (LAL)	51
Figura 18	– Terminações nervosas livres identificadas no Ligamento Anterolateral (LAL)	

.....	51
Figura 19 – Densidade de elementos neurais identificados no Ligamento Anterolateral (LAL)	52
Figura 20 – Zonas de maior concentração de elementos neurais no Ligamento Anterolateral do joelho	52
Figura 21 – Imunofluorescência dos Ligamentos Anterolateral, Cruzado Anterior e Colateral Lateral e do Nervo Mediano	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACL	<i>Anterior Cruciate Ligament</i>
ALL	<i>Anterolateral Ligament</i>
AP	Anteroposterior
BF	Bíceps Femoral
BV	Vaso Sanguíneo
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CF	Cabeça da Fíbula
HE	Hematoxilina-Eosina
Inc.	<i>Incorporation</i>
ITB	Trato Iliotibial
LAL	Ligamento Anterolateral
LCA	Ligamento Cruzado Anterior
LCL	Ligamento Colateral Lateral
LCP	Ligamento Cruzado Posterior
LFV	Côndilo Femoral Lateral
LM	Menisco Lateral
Ltda	Limitada
LTP	Platô Tibial Lateral
ML	Menisco Lateral
NFP	<i>Neurofilament protein</i>
PB	Tampão Fosfato
PBS	<i>Phosphate Bbuffered Saline</i>
PGP	<i>Protein Gene Product</i>
RM	Ressonância Magnética
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TG	Tubérculo de Gerdy
TX-100	Triton-100

LISTA DE SÍMBOLOS

μm	Micrômetro
®	Marca Registrada
%	Porcentagem
±	Mais ou Menos
cm	Centímetro
mm	Milímetro
mm ²	Milímetro Quadrado
T	Tesla
g	Gramma
Ca ²⁺	Íon Cálcio
M	MOL
pH	Potencial Hidrogeniônico
° C	Grau Celsius
™	<i>Trade Mark</i>
nm	Nanômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Contexto Clínico	16
1.2	O Ligamento Anterolateral	19
<i>1.2.1</i>	<i>Presença do Ligamento Anterolateral</i>	20
<i>1.2.2</i>	<i>Medidas do Ligamento Anterolateral</i>	20
<i>1.2.3</i>	<i>Trajetos e Inserções do Ligamento Anterolateral</i>	20
<i>1.2.4</i>	<i>Função e Biomecânica do Ligamento Anterolateral</i>	21
<i>1.2.5</i>	<i>Histologia do Ligamento Anterolateral</i>	21
<i>1.2.6</i>	<i>Vascularização do Ligamento Anterolateral</i>	22
<i>1.2.7</i>	<i>Inervação do Ligamento Anterolateral</i>	22
<i>1.2.8</i>	<i>Ultrassonografia do Ligamento Anterolateral</i>	22
<i>1.2.9</i>	<i>Ressonância Magnética do Ligamento Anterolateral</i>	23
<i>1.2.10</i>	<i>Artroscopia do Ligamento Anterolateral</i>	24
<i>1.2.11</i>	<i>Radiografia do Ligamento Anterolateral</i>	24
1.3	Neuroanatomia do Joelho	26
<i>1.3.1</i>	<i>Inervação Articular do Joelho</i>	26
<i>1.3.2</i>	<i>Inervação Cutânea do Joelho</i>	27
1.4	Propriocepção	27
<i>1.4.1</i>	<i>Terminações Nervosas</i>	28
<i>1.4.1.1</i>	<i>Terminações nervosas encapsuladas</i>	29
<i>1.4.1.1.1</i>	<i>Corpúsculos de Pacini</i>	29
<i>1.4.1.1.2</i>	<i>Corpúsculos de Meissner</i>	29
<i>1.4.1.1.3</i>	<i>Terminações de Ruffinni</i>	30
<i>1.4.1.2</i>	<i>Terminações nervosas não-encapsuladas</i>	30
<i>1.4.1.2.1</i>	<i>Terminações de Merkel</i>	30
<i>1.4.1.2.2</i>	<i>Terminações nervosas livres</i>	31
<i>1.4.1.3</i>	<i>Terminações nervosas musculotendíneas</i>	31
<i>1.4.1.3.1</i>	<i>Fusos Musculares</i>	31
<i>1.4.1.3.2</i>	<i>Corpúsculo tendinoso de Golgi</i>	31
<i>1.4.1.4</i>	<i>Terminações nervosas articulares</i>	32
1.5	Mecanorreceptores	32

1.6	Estudo microscópico das terminações nervosas	34
1.6.1	<i>Coloração com sais de ouro e prata</i>	35
1.6.2	<i>Imunohistoquímica</i>	35
1.6.2.1	<i>Substance P</i>	36
1.6.2.2	<i>Calcitonin gene-related peptide</i>	36
1.6.2.3	<i>Proteínas S100</i>	37
1.6.2.4	<i>Neurofilament protein (NFP)</i>	37
1.6.2.5	<i>Protein gene product 9.5 (PGP 9.5)</i>	37
1.6.3	<i>Imunofluorescência e microscopia confocal</i>	38
1.7	Relevância e justificativa	39
2	OBJETIVO	40
2.1	Objetivo principal	40
2.2	Objetivos secundários	40
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS	41
3.1	Dissecação	41
3.2	Secção criostática	44
3.3	Histologia	45
3.4	Imunofluorescência	46
3.5	Microscopia confocal	47
3.6	Análise morfométrica	48
3.7	Análise estatística	48
4	RESULTADOS	49
5	DISCUSSÃO	54
5.1	Limitações	58
5.2	Perspectivas futuras	59
6	CONCLUSÃO	60
	REFERÊNCIAS	61
	ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	72
	ANEXO B – AUTORIZAÇÃO LOCAL PARA DISSECAÇÃO DOS CADÁVERES	76
	ANEXO C – PROTOCOLO DE JEW MODIFICADO PARA PREPARO DAS PEÇAS PARA IMUNOFLUORESCÊNCIA	77
	ANEXO D – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA BRASILEIRA DE	

ORTOPEDIA	82
ANEXO E – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA ARTHROSCOPY: THE JOURNAL OF ARTHROSCOPIC & RELATED SURGERY	83
ANEXO F – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA BMC MUSCULOSKELETAL DISORDERS	85
ANEXO G – ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA ARTHROSCOPY: THE JOURNAL OF ARTHROSCOPIC & RELATED SURGERY	86
ANEXO H – PRÊMIO CIENTÍFICO DE CATEGORIA ORAL NO 50º CONGRESSO BRASILEIRO DE ORTOPIEDIA E TRAUMATOLOGIA	87

1 INTRODUÇÃO

1.1 Contexto Clínico

Mesmo antes de Wilhelm Conrad Röntgen (1896) descobrir o Raio-X, Paul Segond (1879) descreveu um padrão de fratura-avulsão na região anterolateral proximal da tíbia. Essa fratura-avulsão, conhecida como “fratura de Segond” (Figura 1), foi descrita como resultado da rotação interna forçada do joelho. Posteriormente, essa fratura foi considerada um sinal patognomônico de lesão do Ligamento Cruzado Anterior (LCA). Embora exista descrição da fratura de Segond sem a lesão do LCA, principalmente em crianças, essa fratura é considerada um possível preditor de instabilidade rotacional do joelho (GOLDMAN; PAVLOV; RUBENSTEIN, 1988; HESS *et al.*, 1994; VUNDELINCKX *et al.*, 2017; ARIEL DE LIMA *et al.*, 2018).

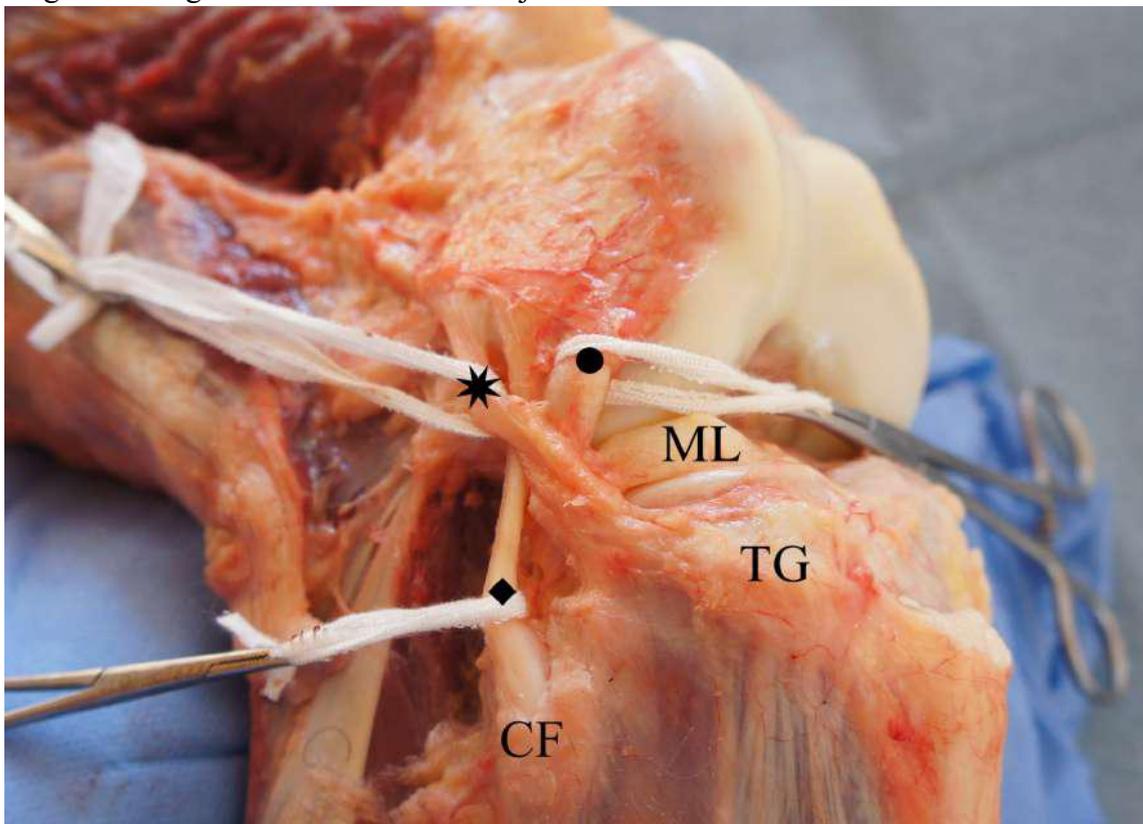
Figura 1 – Fratura de Segond



Círculo vermelho evidencia Fratura de Segond em radiografia de joelho em incidência anteroposterior. Fonte: arquivo pessoal do autor.

Alguns anos depois, Claes *et al.* (2013, 2014), em estudos de dissecação de cadáveres, concluíram que a fratura de Segond era na verdade ocasionada por uma estrutura ligamentar na região anterolateral do joelho. Essa estrutura foi denominada Ligamento Anterolateral (LAL) do joelho (Figura 2). Após esse estudo inicial, o interesse e o número de artigos sobre o LAL cresceram de forma exponencial (VINCENT *et al.*, 2012; HELITO *et al.*, 2013a; POMAJZL *et al.*, 2015; VAN DER WATT *et al.*, 2015; ARIEL DE LIMA *et al.*, 2019a).

Figura 2 – Ligamento Anterolateral do joelho



Aspecto anterolateral do joelho direito, mostrando relação entre o Ligamento Anterolateral (* - estrela), o Ligamento Colateral Lateral (◆ - losango) e o Tendão Poplíteo (● - círculo). CF: Cabeça da Fíbula; TG: Tubérculo de Gerdy; ML: Menisco Lateral. Fonte: arquivo pessoal do autor.

As lesões do Ligamento Cruzado Anterior são muito frequentes em nosso meio, principalmente em decorrência da prática de esportes (GIUGLIANO; SOLOMON, 2007; ASTUR *et al.*, 2016). Só nos Estados Unidos mais de 100.000 lesões de LCA são reportadas anualmente (DAGGETT *et al.*, 2017).

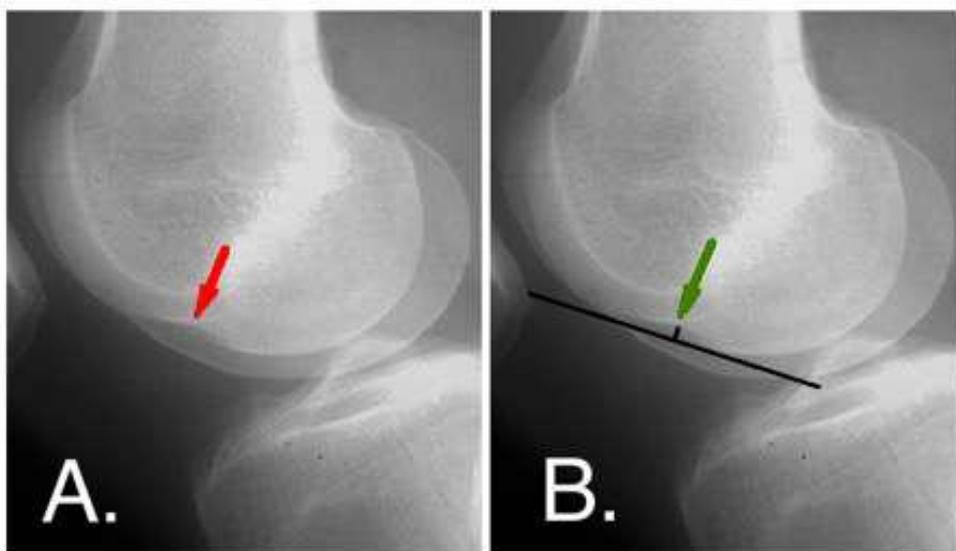
A instabilidade perceptível pelo paciente após a ruptura do LCA é geralmente provocada pelo *pivot shift* do joelho. O teste do *pivot shift* avalia a instabilidade, combinando a rotação interna e a translação anterior tibiofemoral. A especificidade do teste é muito alta,

chegando em média a 98% (HUANG *et al.*, 2016). Tal teste é usado não só para diagnosticar a insuficiência do LCA como também para avaliar se ainda existe instabilidade pós-reconstrução. O teste pode ser dividido em quatro graus: nenhuma instabilidade (Grau 0), *glide* ou “deslizamento” (Grau 1), *clunk* ou “pancada” (Grau 2) e *gross* ou “explosivo” (Grau 3), de acordo com a magnitude do fenômeno subjetivamente determinada pelo examinador (KURODA; HOSHINO, 2016).

Estima-se que até 25% das reconstruções do LCA evoluem com um *pivot* residual, revelando a incapacidade das atuais técnicas reconstrutivas isoladas do LCA de restaurar a cinemática normal do joelho em muitos casos (KERNKAMP; LI; VAN DE VELDE, 2016; KOSY *et al.*, 2016).

Além do *pivot shift* e da fratura de Segond, outro sinal útil no diagnóstico da instabilidade rotacional e translacional do joelho é o aprofundamento do sulco condilopatelar lateral. Tal sulco, conhecido como *Lateral Femoral Notch*, geralmente é um sulco raso, não muito profundo, no centro do côndilo femoral lateral. Esse sulco pode ser visto nas radiografias em perfil (Figura 3A) e nos cortes sagitais de ressonância magnética (RM) do joelho. O aumento da profundidade desse *notch* está intimamente relacionado à ruptura do LCA (JONES; FINLAY; LEARMONTH, 1993). Um sulco com mais de 1,5 mm de profundidade é um sinal indireto confiável de ruptura do LCA e instabilidade do joelho (Figura 3B) (COBBY; SCHWEITZER; RESNICK, 2014).

Figura 3 – *Lateral Femoral Notch*



Radiografia de joelho em incidência perfil. A. seta vermelha indica localização do *notch*; B. seta verde indica como medir a profundidade do *notch*. Fonte: arquivo pessoal do autor.

Muitos autores defendem que o LAL contribui de forma efetiva para a estabilidade do joelho, tendo uma ação sinérgica ao LCA, principalmente na estabilidade rotacional (SONNERY-COTTET *et al.*, 2015a; DAGGETT *et al.*, 2017). De tal maneira, a lesão combinada do LCA e do LAL pode ser responsável por uma porcentagem de pacientes que não evoluem de maneira satisfatória após a reconstrução intra-articular isolada do LCA, sendo que a reconstrução do LAL poderia restaurar a estabilidade do joelho (HUSSEIN *et al.*, 2012; DAGGETT *et al.*, 2017).

Estudos biomecânicos comprovaram a importância do LAL na estabilização anterolateral do joelho (SONNERY-COTTET *et al.*, 2015a, 2015b; IMBERT *et al.*, 2016). Mais recentemente, estudos clínicos reportaram os resultados funcionais da reconstrução combinada do LCA e do LAL, demonstrando uma melhora em escores clínicos e um menor índice de falha, além de um número baixo de complicações (SONNERY-COTTET *et al.*, 2017; THAUNAT *et al.*, 2017; HELITO *et al.*, 2018). Assim, com o intuito de restaurar a estabilidade do joelho, a reconstrução do LAL, quando combinada com a reconstrução do LCA, pode ser benéfica para alguns grupos de pacientes (KOSY *et al.*, 2016; DAGGETT *et al.*, 2017; ARIEL DE LIMA *et al.*, 2018).

Dentre as principais indicações cirúrgicas descritas para reconstrução do LCA combinada com reconstrução do LAL, podemos citar: cirurgia de revisão do LCA, exame físico com *pivot shift* grau 2 ou 3, prática de esporte com mecanismo de *pivot* e/ou de alto nível, frouxidão ligamentar e fratura de Segond; secundariamente também podem ser indicações: lesão crônica do LCA, idade menor do que 25 anos e sinal radiológico de afundamento do côndilo femoral lateral (SONNERY-COTTET *et al.*, 2015a; ARIEL DE LIMA *et al.*, 2018).

Ou seja, em poucos anos, o LAL passou de uma estrutura desconhecida à estrutura importante na estabilização do joelho. Contudo, ainda não é bem compreendido como o LAL atua na estabilidade estática e dinâmica do joelho e como sua lesão poderia comprometer o papel proprioceptivo do compartimento lateral dessa articulação (ARIEL DE LIMA *et al.*, 2019a).

1.2 O Ligamento Anterolateral

Desde os trabalhos de Vincent *et al.* (2012), Claes *et al.* (2013) e Helito *et al.* (2013b), os estudos do LAL e do compartimento lateral do joelho ganharam força. Muitos

trabalhos foram realizados na tentativa de provar (ou não) a existência do LAL e sua possível função na estabilidade rotacional do joelho.

Apesar de ainda existirem poucos estudos sobre a inervação desse ligamento, a estrutura macroscópica, a histologia básica e a biomecânica do LAL já são bem definidas na literatura médica.

1.2.1 Presença do Ligamento Anterolateral

Em estudo de revisão sistemática sobre a anatomia do LAL, Ariel de Lima *et al.* (2019a) identificaram 53 artigos, publicados entre 2012 e 2017. Desses 53 artigos, em 29 o LAL foi encontrado em 100% dos casos. Dentre tais 29 artigos, a presença do ligamento foi evidenciada principalmente por dissecação de cadáver fresco e em estudos de Ressonância Magnética. Em 13 artigos a incidência do LAL foi observada entre 80% e 100% dos casos. Em 4, a incidência ficou entre 60% e 80% dos casos. Em outros 3 artigos ficou entre 40% e 60%. E em mais 3 artigos ficou entre maior que 0% e 40%. Em 2 estudos de dissecação o LAL não foi evidenciado, sendo que um dos estudos foi realizado através de dissecação de cadáver fresco de feto e o outro através de dissecação de cadáver adulto preservado em solução de formalina a 4%, metodologia que se mostrou de menor acurácia na caracterização precisa do LAL.

1.2.2 Medidas do Ligamento Anterolateral

A maioria dos trabalhos demonstra um LAL com comprimento entre 33,0 mm e 42,0 mm, sendo que esse comprimento aumenta com a flexão do joelho e com a rotação interna da tíbia. A largura varia entre 4,0 mm e 7,0 mm e a espessura entre 1,0 mm e 2,0 mm (HELITO *et al.*, 2013b; KOSY *et al.*, 2016; STIJAK *et al.*, 2016; DAGGETT *et al.*, 2017; FARHAN; SUDHAKARAN; THILAK, 2017; PARKER; SMITH, 2018)

Segundo Daggett *et al.* (2017), em um amplo estudo com mais de 160 espécimes, a espessura média do LAL no homem é o dobro da espessura do LAL na mulher.

1.2.3 Trajeto e Inserções do Ligamento Anterolateral

O LAL é descrito possuindo 3 inserções: a Femoral, a Tibial e a Meniscal. Após sua origem no fêmur, próximo ao epicôndilo lateral, apresenta um trajeto anteroinferior em direção à região anterolateral da tíbia (ARIEL DE LIMA *et al.*, 2019a).

A inserção meniscal é descrita como localizada entre o corpo e o corno anterior do Menisco Lateral, existindo um espraiamento do LAL antes do contato com o menisco, aumentando a área dessa inserção (HELITO *et al.*, 2016a, 2017; TORO-IBARGUEN *et al.*, 2017)

A inserção tibial está localizada no ponto médio entre a Cabeça da Fíbula e o Tubérculo de Gerdy na tíbia, aproximadamente entre 4,0 mm e 7,0 mm abaixo do platô tibial (POMAJZL *et al.*, 2015).

A origem femoral é a que mais sofre variações nas descrições dos estudos. Como referências anatômicas para localizar a inserção femoral, são citados principalmente o Epicôndilo Lateral do Fêmur e a origem do Ligamento Colateral Lateral (LCL). Utilizando o Epicôndilo como referência, a maioria dos artigos descreve o LAL inserido posterior e proximal (HELITO *et al.*, 2016b, 2017; FARHAN; SUDHAKARAN; THILAK, 2017).

1.2.4 Função e Biomecânica do Ligamento Anterolateral

A função primária do LAL é fornecer estabilidade anterolateral ao joelho, evitando a subluxação da tíbia anterior e lateralmente em relação ao fêmur distal (VAN DER WATT *et al.*, 2015). Em parte essa estabilidade pode ser explicada pela inserção relativamente anterior do LAL em comparação com o LCL (POMAJZL *et al.*, 2015).

A maioria dos estudos descreve que o comprimento e a tensão do LAL aumentam com a flexão, com a rotação interna e com o varo do joelho (DAGGETT *et al.*, 2016; CORBO *et al.*, 2017). Claes *et al.* (2013) relataram que a tensão máxima do LAL ocorria em flexão de aproximadamente 90° do joelho, sendo isométrico entre 0° e 60° de flexão (DODDS *et al.*, 2014).

1.2.5 Histologia do Ligamento Anterolateral

As seções histológicas do LAL apresentaram fibras colágenas densas e bem organizadas (predominantemente colágeno tipo I), com média de 121 fibroblastos/mm² no adulto e 1.631 fibroblastos/mm² no feto, com a presença de tecido vascular, exibindo morfologia tipicamente ligamentar (HELITO *et al.*, 2013b, 2017; CATERINE *et al.*, 2015;

POTU; SALEM; ABU-HIJLEH, 2016). Helito *et al.* (2016a) e Vincent *et al.* (2012), entre outros autores, observaram uma nítida relação do LAL com o Menisco Lateral, com inserções de fibras de colágeno do LAL no menisco e sem um plano de clivagem evidente.

Macchi *et al.* (2016) descreveram o LAL composto principalmente por colágeno I (90%), colágeno III (5%), colágeno VI (3%) e escassas fibras elásticas (1%). O colágeno I estava organizado em paralelo, com fibrilas onduladas e cercadas por colágeno VI.

1.2.6 Vascularização do Ligamento Anterolateral

O LAL localiza-se na terceira camada do aspecto anterolateral do joelho, em íntima relação com os vasos geniculares inferiores laterais, sendo separado por uma fina camada de tecido adiposo (MACCHI *et al.*, 2016). Os vasos geniculares inferiores laterais ficam situados entre o LAL e o Menisco Lateral, servido inclusive de parâmetro anatómico para a identificação do LAL (HELITO *et al.*, 2014a; PARKER; SMITH, 2018).

1.2.7 Inervação do Ligamento Anterolateral

Poucos estudos focaram na avaliação histológica da inervação do LAL. Catherine *et al.* (2015) demonstraram a detecção de proteína neurofilamentar no LAL, indicando uma inervação nervosa periférica. Seu estudo evidenciou estruturas circulares que podem ser identificadas como pequenos nervos periféricos ou mecanorreceptores. Macchi *et al.* (2016) verificaram a presença de estruturas nervosas, semelhante a pequenos nervos e mecanorreceptores tipo I.

1.2.8 Ultrassonografia do Ligamento Anterolateral

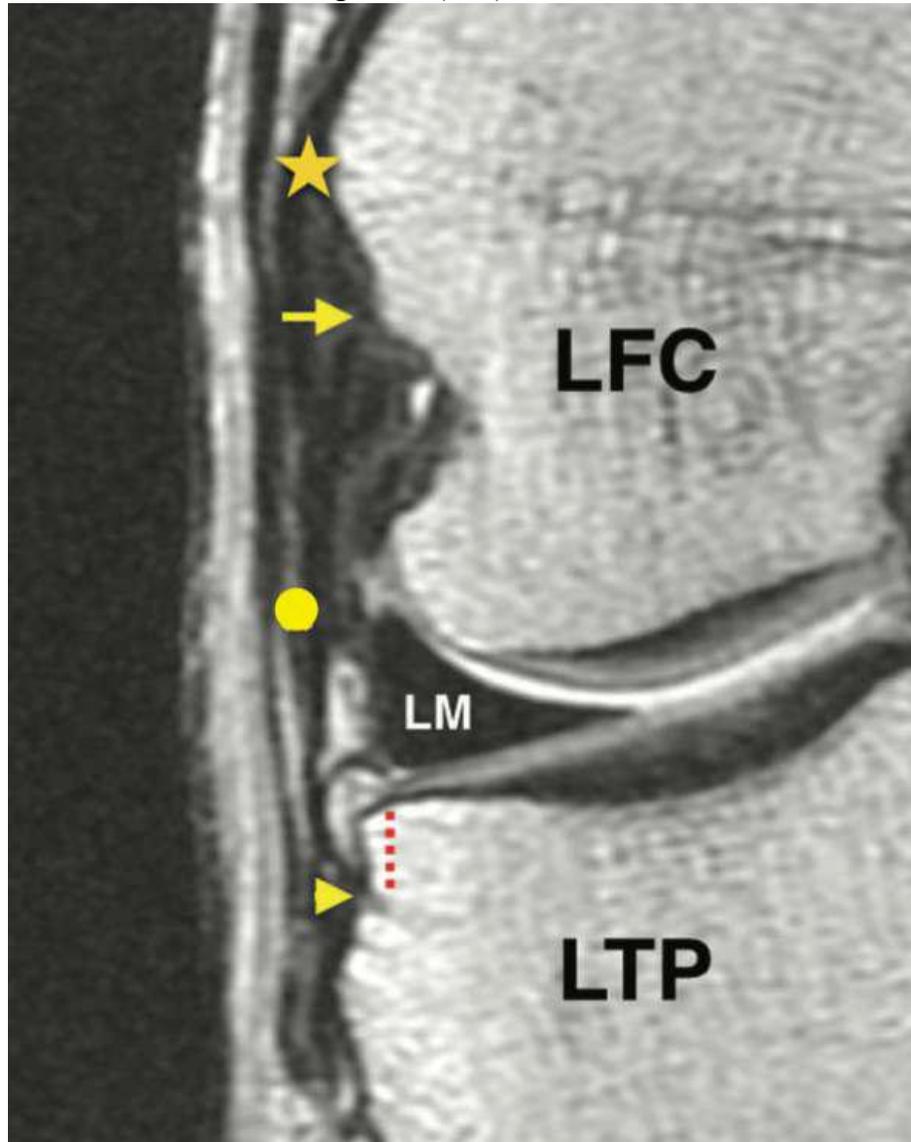
Cavaignac *et al.* (2016, 2017) e Cianca *et al.* (2014), utilizando ultrassonografia, obtiveram uma taxa de visualização do LAL de 100%. Oshima *et al.* (2016) descreveram que a maioria das partes do LAL pode ser identificada, fazendo da ultrassonografia um exame útil para o diagnóstico de lesão do LAL.

Todavia, Capo *et al.* (2017), que obtiveram taxa de visualização do LAL de 75%, relataram que o ultrassom foi incapaz de identificar de forma confiável as origens femoral a tibial.

1.2.9 Ressonância Magnética do Ligamento Anterolateral

O LAL pode ser visualizado em exames de ressonância magnética convencional 1.5 T, principalmente no corte coronal e na ponderação T2 com saturação de gordura (Figura 4). A taxa de visualização do LAL pode chegar a 97,8%, sendo a porção meniscal a mais comumente visualizada (94,8%) (HELITO *et al.*, 2014a).

Figura 4 – Ligamento Anterolateral do joelho (LAL) identificado em exame de ressonância magnética (RM)



RM de joelho direito em corte coronal e ponderada em densidade de prótons. Exame evidenciando a origem do Ligamento Colateral Lateral (★ - estrela); a origem do LAL (→ - seta); o ponto de bifurcação do LAL (● - círculo); a inserção tibial do LAL (► - cabeça de seta); a distância da inserção tibial ao platô lateral (linha pontilhada). LFC: côndilo femoral lateral; LM: Menisco Lateral; LTP: platô tibial lateral. Fonte: Helito *et al.* (2015).

Caterine *et al.* (2015), em estudo de RM 3.0 T em cadáveres, obtiveram 100% de visualização do LAL. Nesse estudo, as imagens obtidas no plano coronal revelaram que a origem femoral não foi claramente visível em muitos dos espécimes estudados, principalmente devido ao relacionamento íntimo do LAL com as outras estruturas ligamentares. Entretanto, as inserções meniscal e tibial puderam ser identificadas, principalmente essa última.

Helito *et al.* (2015) e Kosy, Mandalia e Anaspure (2015), em estudo de RM 1.5 T, tiveram bons resultados na identificação da porção meniscal do LAL. Diferentemente, Taneja *et al.* (2015), em estudo de RM 1.5 e 3.0 T, não conseguiram identificar a inserção meniscal do LAL.

Porrino *et al.* (2015), ao estudarem 20 RM de pacientes com fratura de Segond, observaram que em 19 casos o LAL exibia inserção no fragmento destacado da tibia, correspondente à fratura de Segond.

Em seu estudo, Coquart *et al.* (2016) concluíram que o LAL pode ser identificado em imagens de rotina de RM 1.5T e ainda sugerem que uma melhor descrição radiológica desta estrutura anatômica pode ser benéfica no planejamento pré-operatório de lesões do LCA.

1.2.10 Artroscopia do Ligamento Anterolateral

Zein (2015) descreveu uma técnica artroscópica na qual a inserção meniscotibial do LAL pode ser vista e palpada com *probe* sob o Menisco Lateral. Sonnery-Cottet *et al.* (2014) publicaram uma técnica artroscópica que permite a identificação do LAL. Nela, um *shaver* é introduzido através de um portal acessório superolateral e usado para desbridar o tecido sinovial entre a fáscia lata e o córtex lateral do fêmur, definindo, assim, o LAL. Isso permite que o cirurgião examine a integridade do LAL, em particular a inserção femoral.

1.2.11 Radiografia do Ligamento Anterolateral

Em seu estudo de revisão, Ariel de Lima *et al.* (2019a) identificaram 4 artigos que descreveram as referências anatômicas radiográficas das inserções femoral e tibial do LAL (Figura 5).

Heckmann *et al.* (2016) descreveram uma origem femoral, no perfil, $18,4 \pm 4,3$ mm do bordo posterior do côndilo femoral, ao longo da linha de Blumensaat, e $8,4 \pm 2,6$ mm

distal à mesma linha. Na tíbia, em perfil, a inserção foi descrita $32,6 \pm 4,9$ mm da borda posterior e $13,0 \pm 4,1$ mm inferior ao planalto tibial lateral.

Kennedy *et al.* (2015a, 2015b) relataram uma origem femoral, na incidência anteroposterior (AP), 22,3 mm proximal à linha articular e, no perfil, 8,4 mm posterior e proximal ao epicôndilo lateral. A inserção tibial, no AP, 13,1 mm distal ao platô tibial lateral e, no perfil, 19,0 mm posterior e superior do Tubérculo de Gerdy.

Figura 5 – Fluoroscopia do joelho em perfil demonstrando os pontos de inserção femoral e tibial do Ligamento Anterolateral do joelho



Inserções descritas por Kennedy *et al.* (2015b, 2015a) - (1, vermelho); Heckmann *et al.* (2016) - (2, preto); Helito *et al.* (2014b) - (3, azul); e Rezansoff *et al.* (2015) - (4, amarelo). Fonte: Lima *et al.* (2019).

No estudo de Rezansoff *et al.* (2015), a origem femoral do LAL é descrita como uma intersecção entre a linha cortical femoral posterior e entre uma linha paralela à linha de Blumensaat, na “altura” da borda articular condilar posterior. A inserção tibial do LAL é descrita como uma intersecção entre a linha cortical tibial posterior e entre uma linha perpendicularmente à linha cortical tibial posterior, na “altura” do ápice posterior dos côndilos

tibiais.

Helito *et al.* (2014b) descreveram uma origem femoral, na incidência AP, $15,8 \text{ mm} \pm 1,9 \text{ mm}$ da linha bicondilar posterior e, no perfil, $47,5\% \pm 4,3\%$ da borda anterior do côndilo femoral e cerca de $3,7 \pm 1,1 \text{ mm}$ abaixo da linha de Blumensaat. A inserção tibial, no AP, $7,0 \pm 0,5 \text{ mm}$ abaixo do planalto tibial lateral e, no perfil, $53,2\% \pm 5,8\%$ da borda anterior do planalto tibial lateral.

1.3 Neuroanatomia do Joelho

Embora exista uma considerável variação individual, a inervação da articulação do joelho humano é notavelmente constante. Didaticamente, a inervação do joelho pode ser dividida em: Inervação Cutânea e Inervação Articular (HORNER; DELLON, 1994; DELLON, 2014).

A Inervação Articular pode ser dividida em: Tibiofemoral, Patelofemoral e Tibiofibular proximal. A Inervação Tibiofemoral é formada pelos nervos Retinacular lateral, Retinacular medial, Ramo terminal do vasto intermédio e Plexo poplíteo do nervo ciático. A Inervação Articular Patelofemoral é formada pelos nervos Retinacular lateral, Retinacular medial e Ramo terminal do vasto intermédio. Já a Inervação Tibiofibular proximal é realizada pelos ramos geniculares recorrentes do nervo fibular comum (FRANCO *et al.*, 2015; TRAN *et al.*, 2018).

A Inervação Cutânea basicamente é composta pelos seguintes ramos: Nervo cutâneo femoral lateral, Nervo cutâneo femoral anterior, Nervo cutâneo medial da coxa, Ramo infrapatelar do nervo safeno e Nervo cutâneo femoral posterior (KERVER *et al.*, 2013; DELLON, 2014).

1.3.1 Inervação Articular do Joelho

No aspecto medial, o ramo do nervo femoral que inerva o vasto medial continua e emerge profundo e distalmente. Nesse ponto, esse ramo se encontra profundamente ao retináculo medial e se relaciona com a artéria e veia geniculares recorrentes mediais. Este nervo é denominado nervo retinacular medial. Essas estruturas, nervos e vasos, continuam adjacentes ao vasto medial e superficial à sinóvia, adentrando nas estruturas ligamentares mediais do joelho. Essas fibras também continuam em direção à linha mediana do joelho para inervar a parte inferior da patela (DELLON, 2014; KENDIR *et al.*, 2018).

No aspecto lateral do joelho, um ramo do nervo ciático deixa a fossa poplíteia, percorrendo lateral e anteriormente, para emergir profundamente ao tendão do bíceps e entrar no espaço abaixo do retináculo lateral. Nesta localização, o nervo está adjacente à artéria e à veia geniculares recorrentes laterais. Este nervo é denominado nervo retinacular lateral. Essas estruturas, nervos e vasos, são imediatamente distais ao vasto lateral e superficiais à sinóvia. O nervo penetra nas estruturas ligamentares laterais do joelho e percorre até a linha mediana para inervar a face inferior da patela (DELLON, 2014; SUTARIA *et al.*, 2017).

Anteriormente, a principal fonte de inervação é derivada de ramos do nervo femoral. O ramo que inerva o vasto intermédio, continua na superfície do perióstio para inervar os tecidos ao redor da bursa pré-patelar. Esse nervo pode ser chamado de nervo para o espaço pré-patelar (SHARMA *et al.*, 2010).

Posteriormente, ramos do nervo ciático entram na cápsula articular do joelho. Tais ramos ajudam a compor o plexo poplíteo, que é basicamente derivado do nervo tibial e do ramo posterior do nervo obturador (RUNGE *et al.*, 2018).

O espaço articular tibiofibular proximal é inervado pelos ramos geniculares recorrentes do nervo fibular comum. À medida que o nervo fibular comum se desloca da fossa poplíteia em direção à fíbula, ele emite um pequeno nervo que pode entrar nesse espaço, posteriormente à Cabeça da Fíbula. O nervo fibular comum irá liberar um segundo ramo para este espaço, imediatamente após se curvar anteriormente à Cabeça da Fíbula, na junção com o colo fibular. Mais distalmente, o ramo seguinte do nervo fibular comum vai para o músculo tibial anterior, ou seja, um ramo motor (DELLON, 2014).

1.3.2 Inervação Cutânea do Joelho

O nervo safeno é um ramo proximal do nervo femoral, sendo seus ramos cutâneos para a pele na região do joelho bem descritos. A inervação da pele adjacente à patela vem de ramos do nervo femoral, podendo incluir a contribuição sensorial do nervo obturador no interior do canal de Hunter, denominado nervo cutâneo medial da coxa. A pele lateral à patela é inervada por ramos terminais do nervo cutâneo femoral lateral (KAPOOR *et al.*, 2012; DELLON, 2014; MALESSY; EEKHOF; PONDAAG, 2019).

1.4 Propriocepção

Sir Charles Bell, no início do século 19, descreveu o “sexto sentido”, referindo-se

ao sentido de posição e ação dos membros: a propriocepção (MCCLOSKEY, 1978). A palavra propriocepção vem do latim *proprius*, significando “próprio”, combinada com o conceito de percepção: assim, uma tradução literal é a “percepção de si próprio”. Essa noção de autopercepção reflete a capacidade de se ter um senso de orientação/posição do corpo e uma sensação da movimentação corporal e dos membros (HILLIER; IMMINK; THEWLIS, 2015).

A propriocepção pode ser considerada um dos subsistemas dentro do sistema somatossensorial (juntamente com a sensação de dor, tato e sensação térmica) e alguns autores citam a propriocepção como tendo 3 submodalidades: cinestesia, senso de posição articular e sensação de força (NIESSEN; VEEGER; JANSSEN, 2009; HILLIER; IMMINK; THEWLIS, 2015).

A propriocepção é um sistema complexo que envolve os sistemas nervosos periféricos e central, compreendendo os mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos músculos, ligamentos e articulações. A propriocepção está relacionada principalmente com sinais aferentes que determinam a posição, detectam movimentos e protegem contra mobilizações excessivas (MCCLOSKEY, 1978).

Resumindo, a propriocepção é baseada em um conjunto de sinais sensoriais que servem para detectar, produzir, prever e simular a posição da articulação, movimento articular (velocidade e direção) e especificação de força (SPARKS, 2001). Quando a propriocepção é combinada com os sistemas visual e vestibular na detecção de movimento e orientação espacial, há um considerável aumento na especificidade e sensibilidade nesse arranjo conjunto, do qual a mais básica das tarefas de controle postural, como ficar “de pé”, depende da coordenação harmônica desse arranjo (HILLIER; IMMINK; THEWLIS, 2015).

1.4.1 Terminações Nervosas

Os nervos são feixes de fibras nervosas, reforçadas por tecido conjuntivo, que unem o sistema nervoso central aos órgãos periféricos. Eles podem ser espinhais ou cranianos, conforme esta união se faça com a medula espinhal ou com o encéfalo, respectivamente. A função dos nervos é conduzir impulsos do sistema nervoso central para a periferia (impulsos eferentes) e da periferia para o sistema nervoso central (impulsos aferentes). Em suas extremidades periféricas, as fibras modificam-se, dando origem a terminações nervosas, que podem ser de dois tipos: sensitivas (aferentes) e motoras (eferentes) (MACHADO; HAERTEL, 2014).

As terminações nervosas periféricas são abundantes na pele, músculos e

articulações. Basicamente existem cinco terminações de receptores sensoriais no corpo humano: os Termorreceptores, que detectam mudanças na temperatura; os Mecanorreceptores, que respondem à deformação física; os Nociceptores, que respondem à dor, os Fotorreceptores, que são receptores eletromagnéticos responsáveis pelo estímulo visuais da retina; e os Quimiorreceptores, que detectam cheiro, sabor, estímulos internos, como pH e concentrações metabólicas (PARVIZI, 2010; MACHADO; HAERTEL, 2014).

As terminações nervosas podem ser classificadas como encapsuladas ou não-encapsuladas e por seus tempos de adaptação. Os receptores de adaptação lenta são aqueles que se modificam pouco em resposta a um estímulo, enquanto os receptores de adaptação rápida modificam muito (PARVIZI, 2010).

1.4.1.1 Terminações nervosas encapsuladas

1.4.1.1.1 Corpúsculos de Pacini

Os corpúsculos de Pacini são mecanorreceptores localizados em todo o corpo, incluindo a derme, o tecido subcutâneo, as cápsulas articulares, a pleura, o peritônio, os mamilos e a genitália externa. Morfologicamente, os corpúsculos de Pacini são formados por uma terminação nervosa recoberta por finas camadas de tecido conjuntivo, o que lhe confere o aspecto lamelar, como uma “cebola”. Estes corpúsculos podem ser classificados em pequenos e grandes. Nas articulações, os pequenos corpúsculos estão em áreas mecanicamente tensas, como entre as camadas sinovial e fibrosa, próximas à inserção da cápsula. Eles têm cápsulas perineurais finas e sem intervalo. Já os grandes corpúsculos estão no tecido adiposo da superfície da cápsula articular. As cápsulas dos grandes corpúsculos têm até 30 camadas de células perineurais planas. Uma fibra nervosa mielinizada termina dentro da cápsula do receptor. Esses receptores, muito sensíveis, são de adaptação rápida, percebendo rapidamente a mudança de estímulos mecânicos. Impulsos nos corpúsculos de Pacini são interpretados pelo corpo como vibração (LEPHART, 2000; HILLIER; IMMINK; THEWLIS, 2015).

1.4.1.1.2 Corpúsculos de Meissner

Essas terminações encapsuladas e alongadas são mecanorreceptores localizadas nas papilas dérmicas da pele sem pelos, logo abaixo da epiderme. Esses corpúsculos são de adaptação rápida e estão relacionados com a sensação tátil. Vale salientar que o número de

corpúsculos de Meissner diminui significativamente ao longo da vida de um indivíduo (PARVIZI, 2010).

1.4.1.1.3 Terminações de Ruffinni

As terminações de Ruffinni estão localizadas na derme, nos tecidos subcutâneos e nos tecidos conjuntivos. Nas articulações, elas estão localizadas na camada fibrosa e nos ligamentos da cápsula. As terminações de Ruffinni podem ser grandes ou pequenas, tendo uma de três variantes de cápsula: sem cápsula, uma cápsula de tecido conjuntivo ou uma cápsula perineural incompleta. As pequenas terminações de Ruffinni frequentemente não possuem cápsula perineural e são difíceis de distinguir das fibras não mielinizadas. Já as grandes terminações de Ruffinni frequentemente se apresentam em grupos de três ou mais (PARVIZI, 2010).

As terminações de Ruffinni são supridas por fibras nervosas aferentes mielinizadas, e os axônios destas fibras perdem sua bainha de mielina dentro. As terminações não respondem bem aos estímulos realizados no mesmo plano do tecido, mas são ativadas por estímulos aplicados perpendicularmente. São terminações de adaptação lenta, sendo estimuladas bem quando a pele é esticada. Na articulação, as terminações de Ruffinni são responsáveis pelos limites da excursão angular e pela detecção das mudanças na posição dos ossos, atuando de forma relevante na propriocepção (HILLIER; IMMINK; THEWLIS, 2015).

Por exemplo, na cápsula articular, nos ligamentos e nos meniscos, as terminações de Ruffinni, como mecanorreceptores de adaptação lenta, detectam a posição articular estática, a pressão intra-articular e, possivelmente, o movimento articular em termos de amplitude e velocidade (LEPHART, 2000).

1.4.1.2 Terminações nervosas não-encapsuladas

1.4.1.2.1 Terminações de Merkel

As terminações de Merkel são encontradas na pele sem pelos. Eles estão presentes em grupos conhecidos como discos de Merkel. As terminações de Merkel são inervadas por um único nervo e estão relacionadas com a percepção de tato e pressão (HILLIER; IMMINK; THEWLIS, 2015).

1.4.1.2 Terminações nervosas livres

As terminações nervosas livres são o tipo mais abundante de terminações nervosas. Elas ficam perto de vasos sanguíneos, entre as camadas epiteliais da pele, na córnea, no trato digestivo e nos tecidos conjuntivos. Nas articulações, elas são encontradas entre as camadas sinovial e fibrosa e dentro da própria camada fibrosa. Elas podem ser mielinizadas ou não-mielinizadas, embora mais frequentemente sejam embainhadas parcialmente pelas células de Schwann. As terminações nervosas livres são formadas por terminações ramificadas de fibras e são ligeiramente espessadas. Embora os mecanorreceptores, termorreceptores e nociceptores sejam todos exemplos de terminações livres, os nociceptores são o tipo mais comum (PROSKE; GANDEVIA, 2012).

Os nociceptores podem ser polimodais, ou seja, podem responder a mais de um estímulo. A maioria dos nociceptores responde ao calor e ao frio, a estímulos mecânicos e a estímulos químicos associados a danos ou doenças nos tecidos. Os nociceptores polimodais são mais comumente conhecidos como terminações nervosas livres não-mielinizadas. Eles também podem ficar em estado silencioso, isto é, “dormentes” até que o dano ou doença nos tecidos ative sua sensibilidade (GANDEVIA; BURKE, 1992; PARVIZI, 2010).

1.4.1.3 Terminações nervosas musculotendíneas

1.4.1.3.1 Fusos Musculares

Os Fusos musculares são receptores de estiramento dentro do próprio músculo, detectando principalmente mudanças no comprimento do músculo, atuando como importante via na propriocepção. As respostas dos fusos musculares às mudanças no comprimento também são importante na regulação da contração e do tônus muscular, ativando os neurônios motores através do reflexo de estiramento para resistir ao alongamento muscular excessivo (PARVIZI, 2010; PROSKE; GANDEVIA, 2012).

1.4.1.3.2 Corpúsculo tendinoso de Golgi

Os corpúsculos tendinosos de Golgi são mecanorreceptores proprioceptivo que detectam alterações na tensão muscular. Estruturalmente semelhantes às terminações de Ruffinni, os corpúsculos de Golgi são estrutura encapsulada e são cercados em diferentes

direções por fibras colágenas (PARVIZI, 2010; PROSKE; GANDEVIA, 2012).

Os corpúsculos de Golgi detectam a tensão muscular, principalmente pela compressão das fibras adjacentes a eles. Estão localizados na junção músculo-tendinosa, onde as fibras colágenas do tendão se juntam às extremidades das fibras musculares. Também podem ser encontrados nos ligamentos cruzados e colaterais e nos meniscos (LEPHART, 2000).

Os corpúsculos de Golgi são muito sensíveis a alterações na tensão do músculo, ao contrário dos fusos musculares, que são mais sensíveis a alterações do comprimento muscular. Ou seja, os corpúsculos de Golgi são bastante úteis na detecção de ângulos extremos articulares, enquanto os fusos musculares fornecem a maioria das informações dos ângulos intermediários do arco de movimento (PROSKE; GANDEVIA, 2012).

1.4.1.4 Terminações nervosas articulares

As articulações têm uma abundância de terminações nervosas. As articulações em “dobradiça”, por exemplo, possuem uma quantidade grande de terminações na superfície da cápsula. A aferência articular frequentemente corresponde a mais de um eixo de rotação. Geralmente três tipos de mecanorreceptores encapsulados estão presentes nas articulações: corpúsculos de Pacini, terminações de Ruffini e corpúsculos de Golgi. Além dos 3 encapsulados, há também a presença de um tipo de terminação nervosa livre não-encapsulada, que se acredita ser um nociceptor específico para a dor associada ao movimento (PARVIZI, 2010; PROSKE; GANDEVIA, 2012).

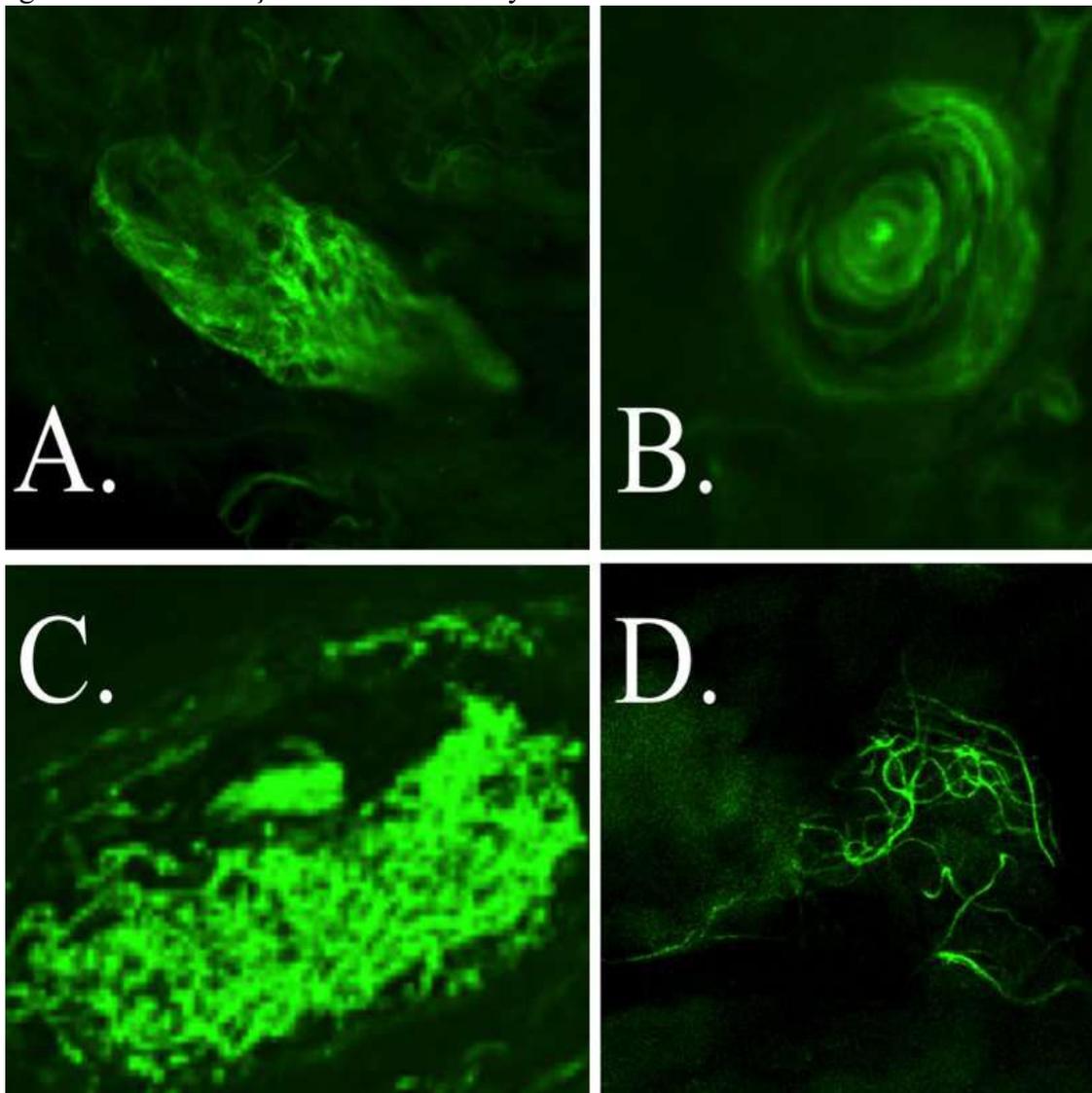
A maioria das terminações nervosas das articulações é de adaptação lenta e detecta a posição e o movimento. Apesar da existência das terminações nervosas nas articulações, os receptores musculares e da pele sobre a articulação também são importantes na detecção da posição e do movimento (LEPHART, 2000).

1.5 Mecanorreceptores

Os mecanorreceptores são os receptores mais variados encontrados no corpo, sendo encontrados principalmente nas interfaces entre os ossos (PARVIZI, 2010). Os mecanorreceptores são estruturas nervosas sensíveis a estímulos mecânicos, ou seja, vibração, pressão e toque. Apesar de serem um dos 5 tipos de terminações nervosas especializadas, em geral, apresentam uma estrutura simples (MACHADO; HAERTEL, 2014).

Freeman e Wyke (1967a, 1967b) classificaram os mecanorreceptores em quatro tipos, de acordo com a composição morfológica das células nervosas. Tipo I é conhecido como *Ruffini-like*. Essas terminações são de formato elíptico ou globular, apresentando função de adaptação lenta e são encapsuladas; Tipo II é conhecido como *Pacini-like*. São cônicos ou alongados, apresentando adaptação rápida e são encapsulados, com um aspecto lamelar, semelhante a uma “cebola”; Tipo III é conhecido como *Golgi-like*. São terminações fusiformes, apresentando adaptação lenta e são encapsuladas. Já os receptores do tipo IV são terminações indiferenciadas não corpusculares, compostas por filamentos amielínicos, divididos em terminações nervosas livres, responsáveis pela dor, e terminações eferentes amielínicas, responsáveis pela inervação motora (Figura 6 e Tabela 1).

Figura 6 – Classificação de Freeman e Wyke



A. Mecanorreceptor Tipo I (*Ruffini-like*); B. Mecanorreceptor Tipo II (*Pacini-like*); C. Mecanorreceptor Tipo III (*Golgi-like*); D. Mecanorreceptor Tipo IV (terminações nervosas livres). Fonte: A. e D. – arquivo pessoal do autor; B. e C. – Lin *et al.* (2006).

Os primeiros estudos sobre mecanorreceptores realizados por Freeman e Wyke foram realizados em joelhos (1967b) e tornozelos (1967a) de gatos. Todavia, o estudo dessas terminações ganhou destaque e logo a presença de mecanorreceptores foi identificada nas mais diversas regiões do corpo humano, como no joelho (ÇABUK; KUŞKU ÇABUK, 2016), no punho (CAVALCANTE; RODRIGUES; MATTAR JR, 2004), no ombro (VANGSNESS *et al.*, 1995; PINHEIRO JR, 2015), no quadril (MORAES *et al.*, 2011), no tornozelo (MORAES *et al.*, 2008) e também nas pregas vocais (LEITE, 2016). Tais achados confirmam a importância dos mecanorreceptores no sistema proprioceptivo.

Tabela 1 – Classificação de Freeman e Wyke

Tipo	Nome	Aspecto	Tamanho (μm)	Características
I	Ruffini	Formato elíptico ou globular, finamente mielinizado, conectado a fibra nervosa	100 x 40	Limiar baixo e adaptação lenta
II	Pacini	Formato cônico ou alongado, aspecto lamelar, como uma “cebola”	280 x 120	Limiar baixo e adaptação rápida
III	Golgi	Formato de fuso, finamente mielinizado, conectado a fibra nervosa mais grossa	600 x 100	Limiar baixo e adaptação lenta
IV	Terminação nervosa livre	Formato irregular e não mielinizado	Diâmetro 0,5 - 5	Transmissão de nocicepção

Fonte: Freeman e Wyke (1967a, 1967b).

1.6 Estudo microscópico das terminações nervosas

O microscópio óptico comum é um instrumento formado por um sistema de lentes com poder de resolução (capacidade de distinguir dois pontos muito próximos um do outro) cerca de 500 vezes maior que o do olho humano, sendo da ordem de 0,2 μm . Para que um objeto possa ser observado pelo microscópio óptico, este objeto precisa ser atravessado por um feixe de luz, sendo a imagem formada por transparência (JUNQUEIRA *et al.*, 2013).

No entanto, a maioria das células e suas estruturas internas é incolor e para que estas estruturas se tornem visíveis ao microscópio elas necessitam ser coradas. A coloração possibilita o contraste necessário para que as estruturas celulares possam ser visualizadas.

Cada corante reage apenas com determinadas estruturas da célula, fornecendo um contraste que facilita sua observação (JUNQUEIRA *et al.*, 2013).

Diversos métodos de coloração são empregados na identificação das terminações nervosas. Os primeiros estudos utilizaram sais de ouro e prata. Depois surgiram as técnicas de imunohistoquímica e mais recentemente as de imunofluorescência. Todavia, cada coloração tem suas vantagens e desvantagens, assim como limitações inerentes aos métodos utilizados (JUNQUEIRA *et al.*, 2013).

1.6.1 Coloração com sais de ouro e prata

O cloreto de ouro é uma das técnicas mais utilizada em pesquisas. Entretanto, além das terminações nervosas também são coradas outras estruturas como vasos, fibroblastos e tecido adiposo, dificultando a identificação precisa das estruturas neurais. Assim, a impregnação de vasos pode dificultar a identificação de mecanorreceptores, além de dificultar a diferenciação de sua morfologia (DE AVILA *et al.*, 1989; AMIR; LOWE; FINSTERBUSH, 1995; VANGSNESS *et al.*, 1995).

A coloração pela prata é de difícil manuseio e requer extensiva experiência para obter uma boa preparação tecidual. Por exemplo, para ser utilizada de forma adequada no estudo de nervos motores e sensitivos, a prata necessita de um controle rígido do nível de acidez para não impregnar outros tecidos (KENNEDY; ALEXANDER; HAYES, 1982).

1.6.2 Imunohistoquímica

O termo imunohistoquímica vem das palavras imunologia, histologia e química. Esse método surgiu na primeira metade do século XX e mostrou-se uma excelente e promissora técnica de coloração. A Imunohistoquímica é uma técnica imunoquímica que envolve anticorpos de espécies pré-definidas com sistema de alta sensibilidade de detecção, explorando o princípio da ligação específica de antígenos e anticorpos no tecido biológico, resultando numa reação com um produto colorido, facilitando a observação ao microscópio óptico (DABBS, 2013).

A Imunohistoquímica tem como objetivo a detecção de um determinado antígeno em um corte histológico. O exame imunohistoquímico tem revolucionado a prática da anatomia patológica e, além do auxílio ao diagnóstico de diferentes doenças, essa técnica tem permitido a identificação de diferentes tipos de marcadores (enzimas, receptores e produtos de

genes) (DABBS, 2013).

A visualização de uma interação antígeno-anticorpo pode ser obtida de diversas formas. Na situação mais comum, um anticorpo é conjugado a uma enzima, como uma peroxidase, que pode catalisar uma reação que produzirá coloração (BACH; BAKER, 2012).

Alternativamente, o anticorpo pode também ser marcado por um segundo anticorpo, o qual vem conjugado com um fluoróforo (componente de uma molécula que faz com que esta seja fluorescente). Respectivamente, esses anticorpos são conhecidos como anticorpo primário e anticorpo secundário. Como exemplo de fluoróforos podemos citar a fluoresceína, rodamina, *DyLight* Fluor e Alexa Fluor. Essa técnica de utilização de anticorpos e fluoróforos como coloração é conhecida como imunofluorescência (ALLEN, 2007; KATIKIREDDY; O'SULLIVAN, 2011; ROBERTSON; ISACKE, 2011).

Recentemente algumas técnicas de imunohistoquímica têm sido desenvolvidas para realçar especificamente as terminações nervosas e, conseqüentemente, melhorar a capacidade de análise das imagens. Dentre os principais marcadores de terminações nervosas podemos citar: *anti-substance P antibodies*, *calcitonin gene-related peptide*, S100, NFP e PGP 9.5 (ALLEN, 2007; KATIKIREDDY; O'SULLIVAN, 2011; ROBERTSON; ISACKE, 2011; BACH; BAKER, 2012)

1.6.2.1 Substance P

Muitos peptídeos fisiologicamente ativos foram descobertos nos sistemas nervoso central e periférico. A *substance P* foi descoberta como um peptídeo que tem a capacidade de contrair o músculo liso no intestino e é encontrada em neurônios sensitivos. Acredita-se que a *substance P* seja uma das substâncias transmissoras de sensações como dor, pressão e temperatura (RIBEIRO-DA-SILVA; HÖKFELT, 2000).

A utilização de anticorpos anti-*substance P* é uma técnica utilizada na imunohistoquímica para os estudos de tecido nervoso. Todavia, tal técnica não é suficientemente específica como marcador neural e possibilita a impregnação de outros tecidos (JEW *et al.*, 2003).

1.6.2.2 Calcitonin gene-related peptide

Assim como a *substance P*, o *Calcitonin gene-related peptide* é um neuropeptídeo bem conhecido. É um membro da família da calcitonina, podendo ser produzido em neurônios

periféricos ou centrais. Atua na transmissão nociceptiva e também é um potente vasodilatador. Esse neuropeptídeo pode ser produzido por neurônios motores no corno anterior e em gânglios da raiz dorsal da medula espinhal. Pode ser usado no estudo de tecido nervoso, contudo com pouca especificidade (JEW *et al.*, 2003; GIBSON *et al.*, 1984)

1.6.2.3 *Proteínas S100*

As proteínas S100 pertencem a uma família de proteínas de baixo peso molecular encontradas em vertebrados e caracterizadas pela presença de sítios de ligação ao cálcio. Essas proteínas estão normalmente presentes em células derivadas da crista neural, como células de Schwann e melanócitos, além de estarem presentes em condrócitos, adipócitos, células mioepiteliais, macrófagos, células de Langerhans, células dendríticas e queratinócitos. As proteínas S100 são implicadas em uma variedade de funções intra e extracelulares, como a regulação da fosforilação de proteínas, homeostase do Ca^{2+} , atividades enzimáticas, crescimento e diferenciação celular, resposta inflamatória, entre outros. Mesmo não sendo muito específicas, as proteínas S100 são utilizadas em imunohistoquímica na coloração de elementos neurais (GONZALEZ-MARTINEZ *et al.*, 2003).

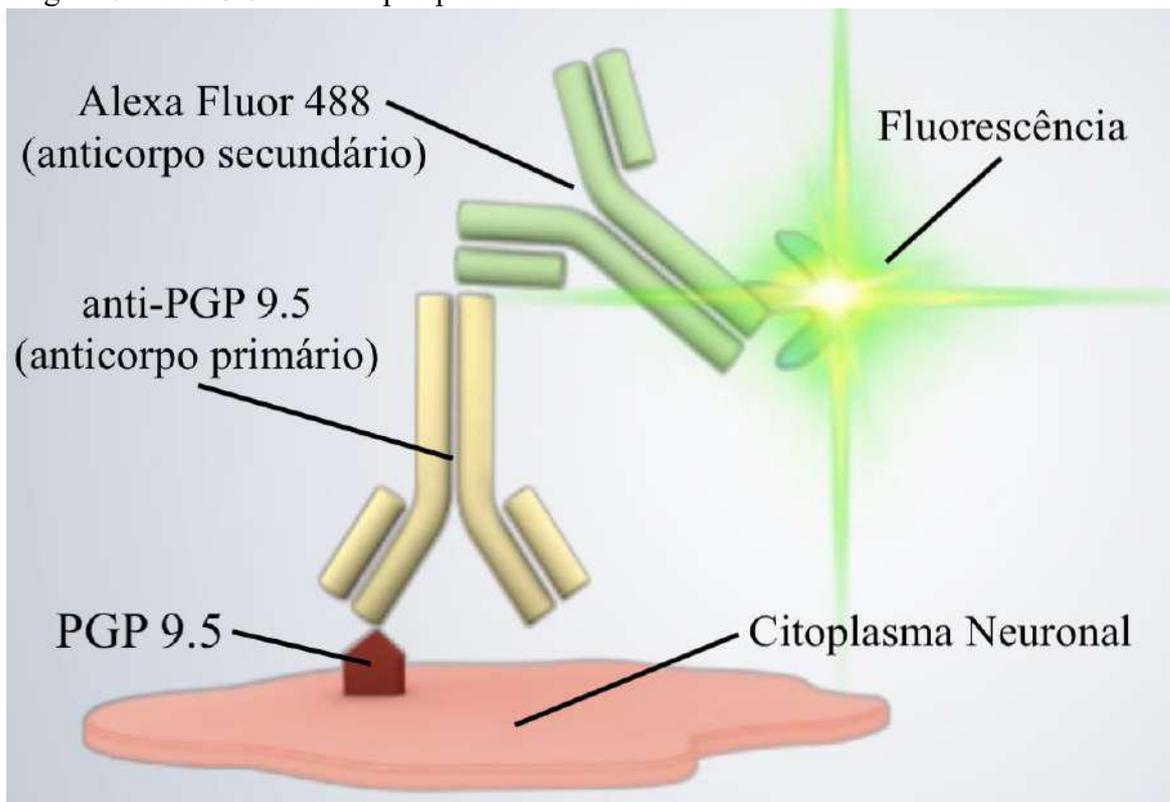
1.6.2.4 *Neurofilament protein (NFP)*

A *neurofilament protein* é sintetizada no pericário neuronal, sendo uma das proteínas citoesqueléticas mais importantes para os neurônios. A imunohistoquímica utilizando anticorpos contra NFP tem sido usada para distinguir neurônios de outras células, especialmente para detectar fibras nervosas finas nos diversos tecidos. Embora os neurofilamentos sejam específicos de neurônios, nem todos os neurônios parecem conter imunorreatividade à NFP. No cerebelo, por exemplo, as células granulares e outros pequenos neurônios são imuno-negativos para a NFP. Nos gânglios da raiz dorsal de ratos, apenas uma pequena população de neurônios foi marcada seletivamente com anticorpos anti-NFP. Ou seja, apesar de a NFP ser uma substância muito presente em tecido nervoso, a imunohistoquímica com coloração com anti-NFP tem o potencial de gerar vieses (IWANAGA; TAKAHASHI; FUJITA, 1989).

1.6.2.5 *Protein gene product 9.5 (PGP 9.5)*

A PGP 9.5, também conhecida como hidrolase do terminal carboxil da ubiquitina L1, é uma proteína citoplasmática neural específica. Isolada originalmente de extrato de cérebro humano, a PGP 9.5 é altamente expressa e localizada em neurônios e células neuroendócrinas em vertebrados, formando cerca de 5% a 10% de proteína citoplasmática dessas células. Todavia, sua expressão em outros tecidos, como no epitélio tubular renal distal e em células de Leydig, já é bem documentada. Devido à sua boa especificidade neuronal, o uso de anticorpos contra a PGP 9.5 é uma técnica imunohistoquímica notavelmente difundida na detecção de terminações nervosas em tecidos periféricos de muitas espécies de vertebrados. Um protocolo bastante aceito é a utilização da anti-PGP 9.5 como anticorpo primário e o fluoróforo Alexa Fluor 488 como anticorpo secundário, produzindo Imunofluorescência e, de tal maneira, facilitando o estudo microscópico das terminações nervosas (Figura 7) (JEW *et al.*, 2003).

Figura 7 – PGP 9.5 e anticorpos primário e secundário.



Fonte: arquivo pessoal do autor.

1.6.3 Imunofluorescência e microscopia confocal

Na microscopia de fluorescência, a amostra que se quer estudar é a própria fonte de luz. Essa técnica baseia-se no fenômeno que certos materiais emitem energia detectável

como luz visível quando irradiado com luz de um comprimento de onda específico. A amostra pode emitir fluorescência na sua forma natural, como a clorofila e alguns minerais, ou através de tratamento com químicos fluoróforos, geralmente conjugados a anticorpos. Essa fluorescência já é a própria coloração da amostra, o que permite o estudo em microscópio óptico (MATSUMOTO, 2003; KATIKIREDDY; O’SULLIVAN, 2011).

A microscopia confocal opera de forma semelhante à microscopia de fluorescência. Contudo, através da utilização de um pequeno orifício de abertura (*pinhole*), permite uma grande definição de imagem em amostras mais espessas que o plano focal. Assim, é possível aumentar o contraste da imagem microscópica e construir imagens tridimensionais. Na microscopia confocal a *laser*, um *laser* de comprimento de onda específico “varre” a amostra, sendo que um computador converte os pontos focados em *pixels* e monta uma imagem. Essa imagem pode ser tridimensional ou até mesmo em tempo real (MATSUMOTO, 2003; MIYASHITA, 2004).

1.7 Relevância e justificativa

O LAL é uma estrutura já descrita na literatura recente, sendo seus parâmetros anatômicos e histológicos relatados em alguns trabalhos. De acordo com estudos com ressonância magnética e com exploração clínica anterolateral nas lesões agudas do LCA, o índice de lesão do LAL é alto e sua reconstrução apresenta benefício em grupos específicos de pacientes.

Como justificativa do presente trabalho, a presença de elementos neurais do LAL, o seu papel dinâmico e sua função proprioceptiva ainda não foram estudados com detalhes. Assim, a relevância clínica desse estudo é descrever a estrutura nervosa do LAL, o que pode ser relevante na compreensão de como ele atua na estabilidade estática e dinâmica do joelho e como sua lesão poderia comprometer o papel proprioceptivo do compartimento lateral do joelho.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo principal

- Avaliar a presença de terminações nervosas no Ligamento Anterolateral.

2.2 Objetivos secundários

- Descrever a morfologia das terminações nervosas do Ligamento Anterolateral.
- Descrever a distribuição das terminações nervosas do Ligamento Anterolateral.
- Avaliar a anatomia do Ligamento Anterolateral.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 78798617.5.0000.5049) (Anexo A) e envolveu 20 joelhos provenientes de 20 cadáveres adultos congelados. O estudo foi realizado entre dezembro de 2017 e novembro de 2018.

Os critérios de inclusão foram cadáveres não reclamados, de acordo com a legislação local, sem preferência por sexo ou idade, com o antúmero selecionado aleatoriamente.

Os critérios de exclusão foram sinais de trauma e/ou lesão degenerativa que pudessem dificultar a dissecação do LAL, doença inflamatória, infecção prévia ou cirurgia prévia no joelho (esses critérios foram identificados com auxílio de radiografia e história clínica antes da dissecação e confirmados durante a dissecação). No entanto, nenhum dos 20 cadáveres inicialmente selecionados foi excluído de acordo com os critérios estabelecidos.

3.1 Dissecação

Todos os cadáveres foram dissecados 30 dias após a morte, de acordo com a lei vigente no local onde o estudo foi realizado (Anexo B). Todos foram mantidos congelados até o momento da dissecação. A técnica de dissecação utilizada foi semelhante à descrita por Ariel de Lima *et al.* (2019b) e Daggett, Busch e Sonnery-Cottet (2016).

A dissecação iniciou com a exposição ampla do Trato Iliotibial (ITB) após o rebatimento da pele e do tecido celular subcutâneo da face anterolateral do joelho. Uma incisão transversa foi realizada no ITB, cerca de 10 cm proximal à topografia do epicôndilo lateral do fêmur. A seguir, o ITB foi dissecado de forma anterógrada através de diérese romba até sua inserção no Tubérculo de Gerdy na tíbia.

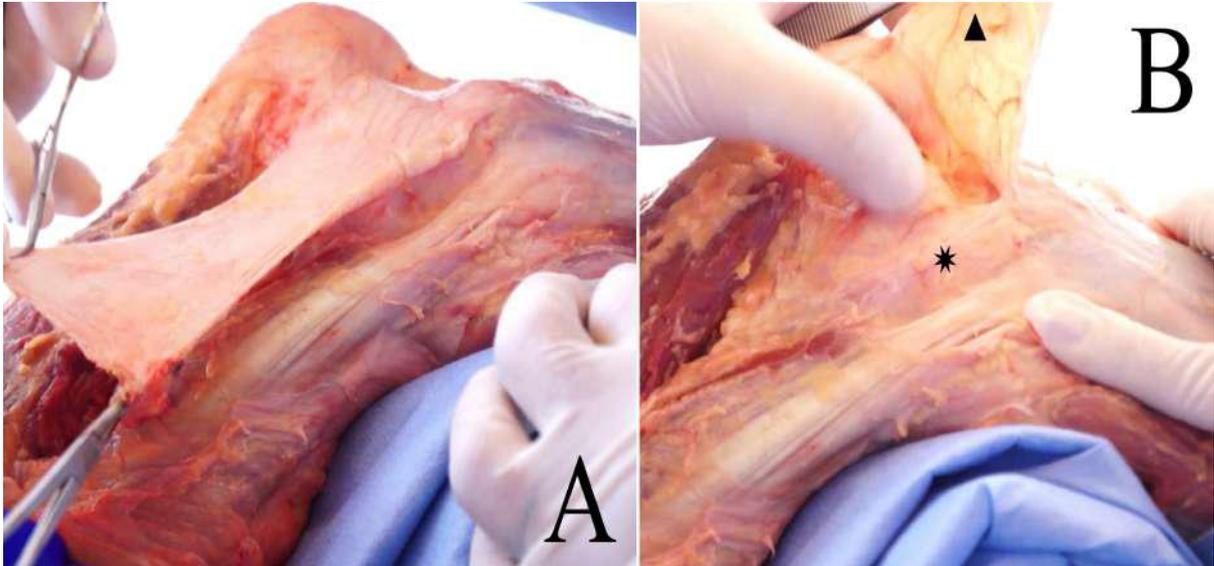
Após a reflexão do ITB, já foi possível observar algumas fibras do LAL, apresentando um trajeto anteroinferior em direção à região anterolateral da tíbia. Com a flexão do joelho entre 30 e 60°, o movimento de rotação interna tensiona o LAL e o torna mais facilmente visualizado (Figura 8).

A seguir foi realizada uma dissecação entre a face anterior do Bíceps Femoral e a face posterior do LAL recém visualizado. A diérese desse recesso foi efetuada até o LCL ser identificado (Figura 9).

Após o LCL ser identificado (Figura 10), a dissecação continuou proximalmente a ele, até a origem do LAL ser revelada, próximo ao epicôndilo lateral do fêmur. Logo depois

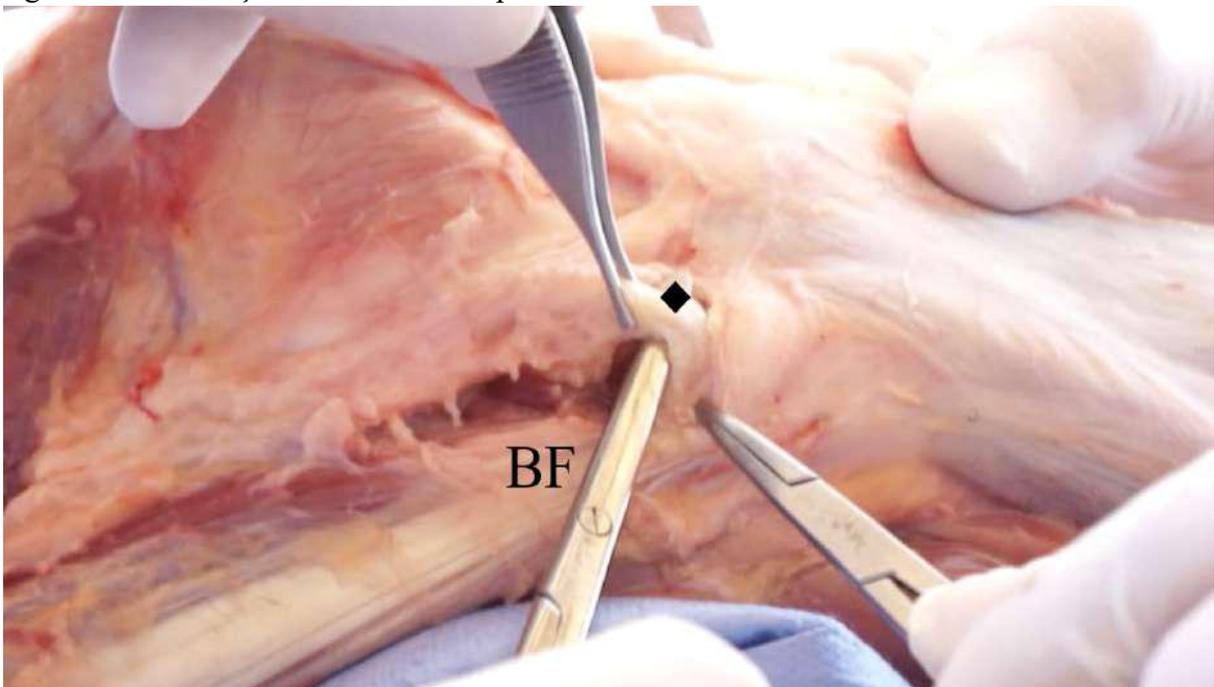
de isolar a porção proximal do LAL, a diérese continuou distalmente até suas inserções, uma na tíbia e outra no Menisco Lateral (Figura 11).

Figura 8 – Dissecação anterógrada do Trato Iliotibial (ITB)



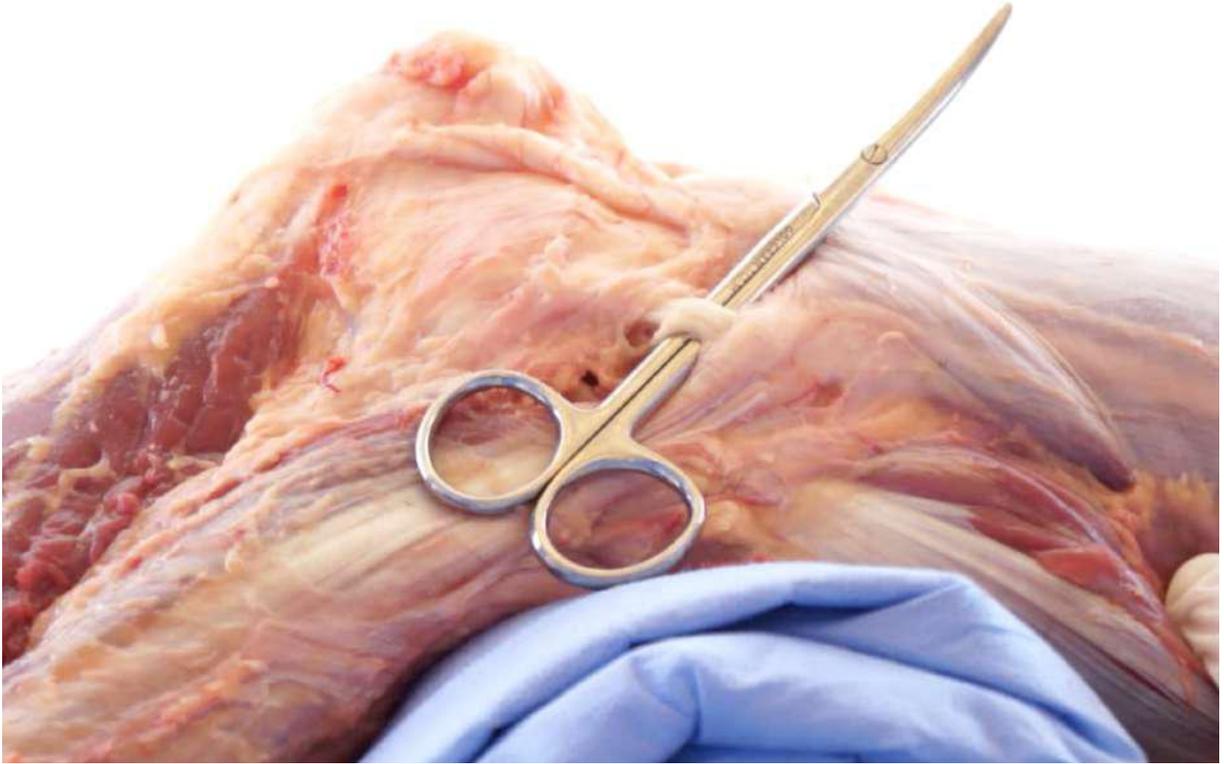
A. Dissecação do ITB até sua inserção no Tubérculo de Gerdy na tíbia; B. Reflexão do ITB (triângulo - ▲) evidenciando fibras do Ligamento Anterolateral (estrelas - *). Fonte: arquivo pessoal do autor.

Figura 9 – Dissecação anterior ao Bíceps Femoral



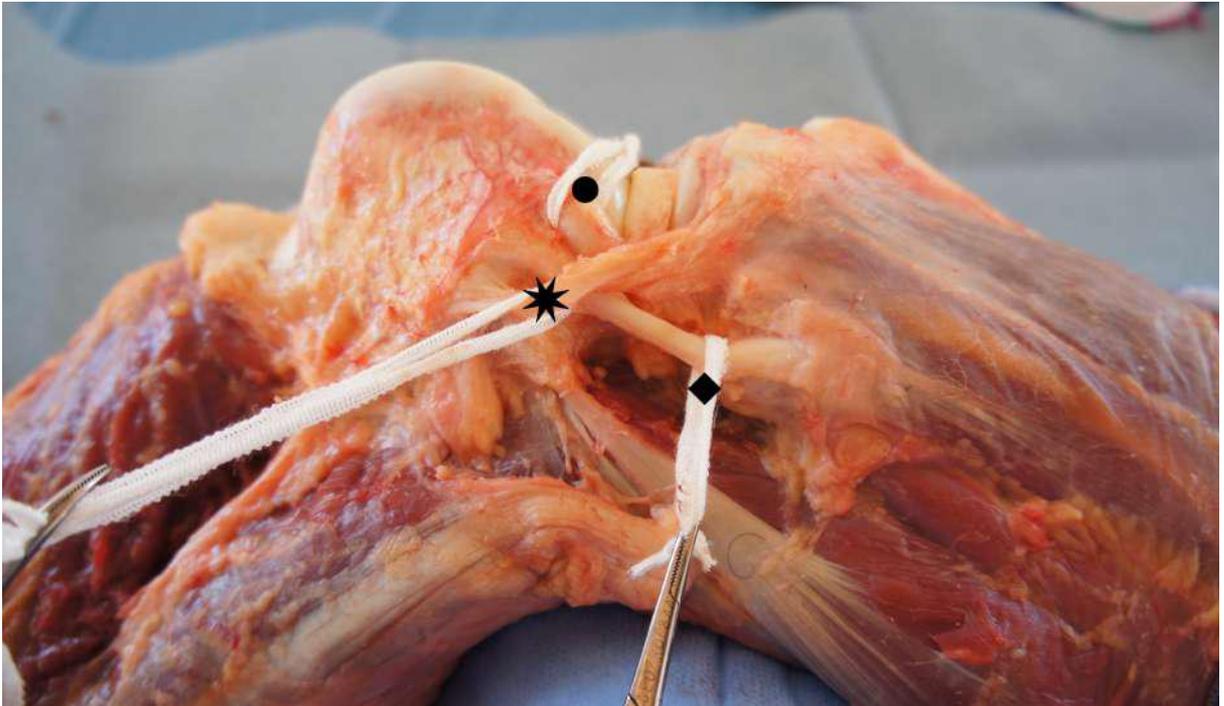
Dissecação anterior ao bíceps femoral e identificação do ligamento colateral lateral (losango - ◆). BF: Bíceps Femoral. Fonte: arquivo pessoal do autor.

Figura 10 – Isolamento do ligamento colateral lateral



Fonte: arquivo pessoal do autor.

Figura 11 – Isolamento do Ligamento Anterolateral do joelho



Ligamento Anterolateral (estrela - *); Ligamento Colateral Lateral (losango - ◆); Tendão do Poplíteo (círculo - ●). Fonte: arquivo pessoal do autor.

Após o isolamento do LAL, foram realizadas medidas macroscópicas do ligamento, incluindo comprimento, largura, distância da inserção femoral em relação ao epicôndilo lateral e da inserção tibial em relação ao platô tibial.

Cada ligamento foi isolado (incluindo origem femoral e inserções tibial e meniscal), pesado (Figura 12) e imerso em solução fixadora de paraformaldeído a 4% em 0,1M de Tampão Fosfato (PB), pH 7,4, a 4° C por 24 a 48 horas. Dissecou-se ainda o Nervo Mediano, o LCL e o LCA que serviram como controle de coloração do estudo.

Figura 12 – Isolamento e medidas do Ligamento Anterolateral (LAL) do joelho



A. Isolamento do LAL e mensuração do comprimento com paquímetro digital; B. Nova mensuração do comprimento do LAL; C. Pesagem do LAL com balança digital. Fonte: arquivo pessoal do autor.

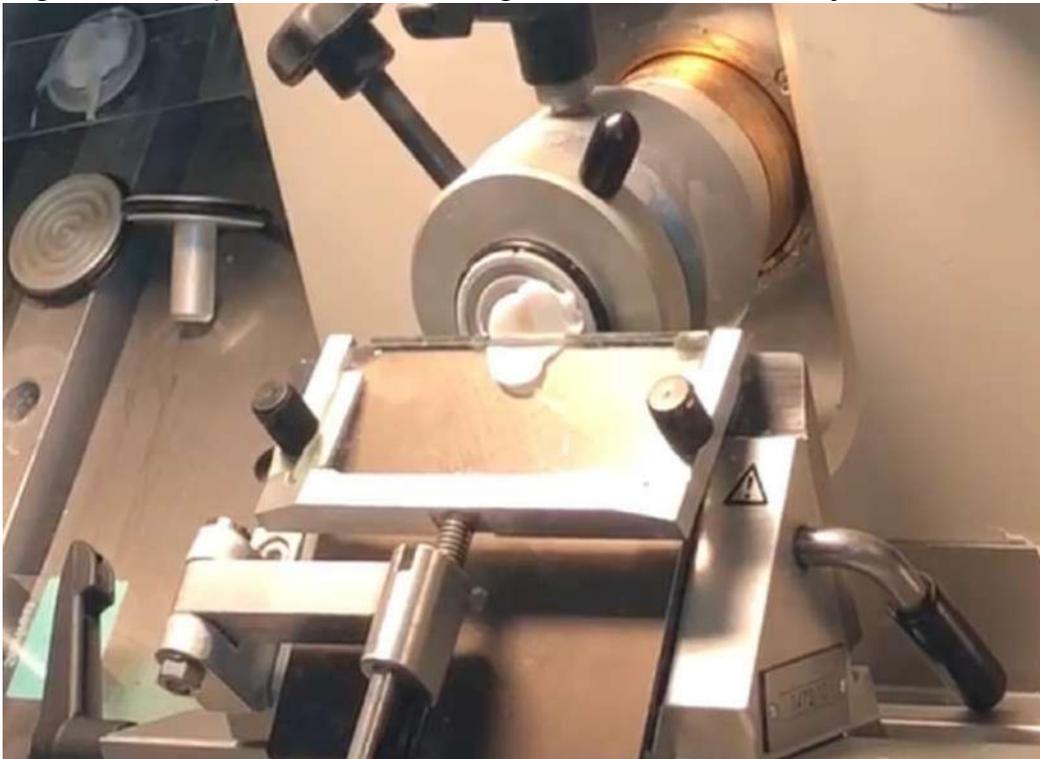
3.2 Secção criostática

Após a fixação (24 a 48 horas), os ligamentos foram lavados 4 vezes em 0,1 M de solução salina tamponada com fosfato (PBS) (*phosphate buffered saline*, Laborclin®, Pinhais, PR), pH 7,4, a 4° C, seguido de lavagens curtas e incubação em 0,1 M de PBS contendo 20% de tampão de sacarose para crioproteção. Os tecidos foram preparados para seccionamento no criostato ou armazenados a -70° C no tampão de sacarose a 20% para seccionamento posterior.

A amostra em estudo foi posicionada sobre a base de suporte para a secção no criostato, alinhada na longitudinal em relação ao marco de referência do suporte, sendo então fixada utilizando como meio de inclusão para crio-seccionamento o gel *Tissue-Tek*® O.C.T.™

Compound, (FR118mL, Sakura-4583). As secções foram realizadas usando o criostato Leica CM 1850[®] (Leica *Microsystems*, Nussloch, Alemanha), à temperatura entre -18°C a -24°C, sendo realizados 3 cortes de espessura de 10 µm e mais outros 3 cortes de 50 µm para cada ligamento (Figura 13). Todos os cortes foram realizados no plano longitudinal do LAL, como ilustrado na Figura 14. As secções calibradas em 10 micrômetros foram utilizadas para coloração e estudo histológico com hematoxilina-eosina (HE). Os cortes de 50µm foram dispostos sobre lâminas *Immunoslide*[®] (*Easypath*[®], São Paulo, SP) e reservados para a imunofluorescência.

Figura 13 – Secção em criostato do Ligamento Anterolateral do joelho

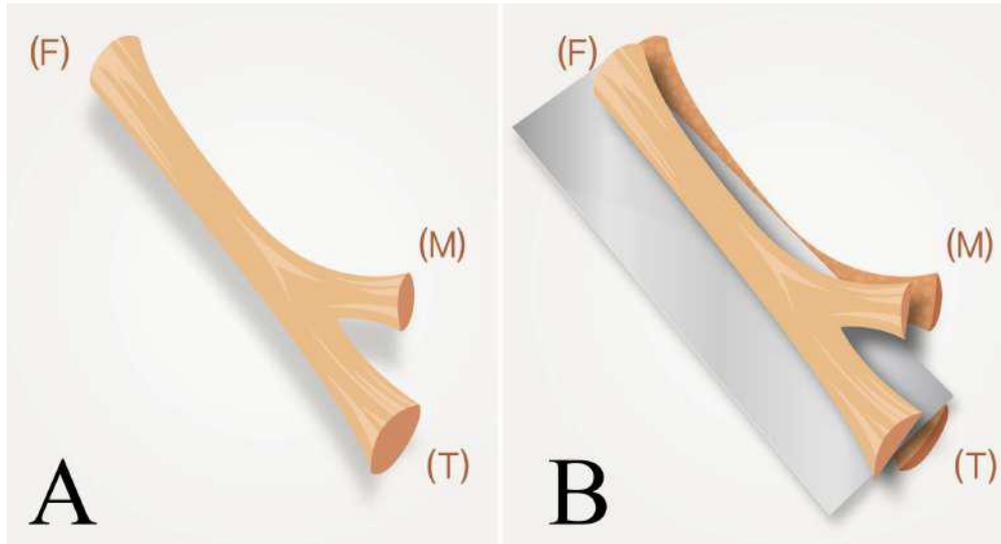


Fonte: arquivo pessoal do autor.

3.3 Histologia

Os cortes de 10 µm foram utilizados para preparação das lâminas coradas com hematoxilina de Harris (Laborclin[®], Pinhais, PR) e com eosina amarelada (Inlab[®], Diadema, SP) de cada espécime deste estudo, para análise histológica e avaliação da integridade dos tecidos e localização de potenciais estruturas de interesse, servindo assim de referência ao estudo de imunofluorescência.

Figura 14 – Secção longitudinal do Ligamento Anterolateral do joelho



A. Ligamento Anterolateral do joelho; B. Secção longitudinal. Origem Femoral: (F); Inserção Meniscal: (M); Inserção Tibial: (T). Fonte: arquivo pessoal do autor.

3.4 Imunofluorescência

A preparação das lâminas seguiu o método de imunofluorescência com anticorpo primário PGP 9.5 e anticorpo secundário Alexa Fluor 488, semelhante ao proposto por Jew *et al.* (2003) (Anexo C).

As lâminas foram lavadas quatro vezes, por 15 minutos cada, com solução fria de PBS a 0,1M contendo 3% de Triton X-100 (TX-100) (Inlab[®], Diadema, SP), seguido de incubação por duas horas na temperatura ambiente, com solução de bloqueio contendo 4% de soro normal de cabra (Jackson Immuno Research Inc., West Grove, PA) e 0,25% de albumina sérica bovina (Inlab[®], Diadema, SP), 2% de TX-100 e 0,1M PBS.

Os tecidos foram então lavados quatro vezes, com duração de 15 minutos cada, com 0,1M de PBS e incubados com anticorpo primário durante 18h a 20h a 4°C. O anticorpo primário utilizado foi o PGP 9.5 (Sigma-Aldrich do Brasil Ltda.), diluído a uma concentração de 1:100 em solução contendo 0,5% TX-100 em 0,1M de PBS.

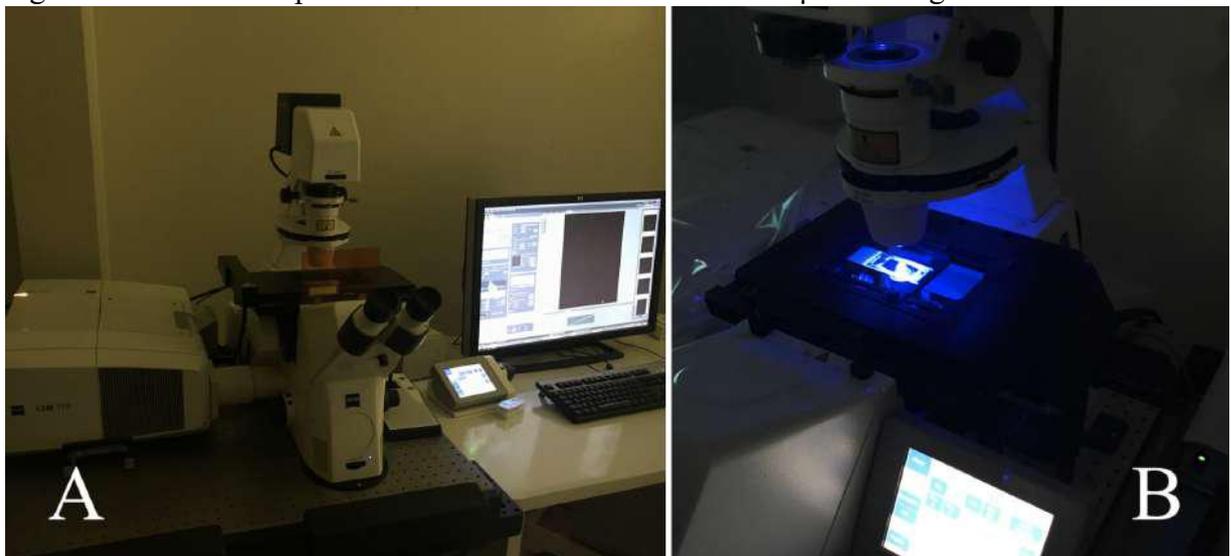
Após a incubação com o anticorpo primário, os tecidos foram lavados novamente quatro vezes, por 15 minutos cada, com solução 0,1M de PBS. Em seguida, sob proteção da luz, os tecidos foram incubados por duas horas em temperatura ambiente com o anticorpo secundário, marcador fluorescente Alexa Fluor 488 (Thermo Fisher Scientific Inc.) diluído a uma concentração de 1:50 nas mesmas soluções utilizadas para o anticorpo primário. Após o período acima, e ao abrigo da luz, foram realizadas as últimas quatro lavagens, sendo: duas vezes com 0,1M de PBS por 10 min, uma vez com 0,05M de PB por 10 min e uma vez com

água destilada. Por fim, as lâminas com os tecidos corados foram cobertas com lamínulas, utilizando Fluoromount™ (*Aqueous Mounting Medium*, Sigma-Aldrich do Brasil Ltda.), um meio líquido utilizado para montagem de lamínulas que inibe a perda da fluorescência dos corantes (*photobleaching*). Após esta etapa, as lâminas foram armazenadas em estojos próprios à -70°C .

3.5 Microscopia confocal

As presentes lâminas foram examinadas com microscópio confocal a *laser* (LSM 710, Carl Zeiss® Inc., Alemanha) (Figura 15A). As secções foram vistas primeiro com epifluorescência no aumento de 10X para avaliar a orientação dos tecidos e mapear as estruturas de interesse. Quando identificadas, foram utilizadas objetivas de 20X e 40X para ver detalhes dessas estruturas. A seguir, o microscópio foi comutado para o modo de varredura a *laser*, com configurações padronizadas para parâmetros como comprimento de onda de excitação (488 nm) (Figura 15B), *pinhole size* e resolução. No modo de varredura, controlado por *software* LSM (Kontron KS400 Image Analyzer Workstation, Carl Zeiss Inc., Thornwood, NY), pilhas de seções ópticas foram então obtidas. Usando as funções do *software* LSM foi possível analisar as imagens nos modos 2-D e 3-D (após reconstrução). Essa análise forneceu dados quantitativos, como comprimento e diâmetro, e dados qualitativos, como a classificação dos mecanorreceptores.

Figura 15 – Microscópio confocal a *laser* dos cortes de $50\mu\text{m}$ do Ligamento Anterolateral



A. Microscópio confocal a *laser* (LSM 710, Carl Zeiss® Inc., Alemanha); B. Modo de varredura a *laser*, com comprimento de onda de excitação de 488 nm. Fonte: arquivo pessoal do autor.

3.6 Análise morfométrica

As terminações nervosas foram classificadas de acordo com o proposto por Freeman e Wyke (1967a, 1967b). A contagem da densidade nervosa do LAL foi realizada através da função *Area Fraction measurement* do *software* ImageJ 1.52a.

3.7 Análise estatística

As variáveis quantitativas foram tabuladas e analisadas com auxílio do *software* *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, v23), o qual forneceu medidas de tendências centrais, valores percentil e dispersão.

4 RESULTADOS

A média de idade dos cadáveres foi de $51,0 \pm 9,6$ anos, sendo 15 do sexo masculino e 5 do feminino. O LAL foi identificado em 100% das dissecações, apresentando comprimento médio de $4,0 \pm 0,4$ cm, largura média de $5,5 \pm 0,8$ mm e peso médio de $0,9 \pm 0,2$ g (Tabela 2).

Tabela 2 – Dados dos Ligamentos Anterolaterais obtidos

Espécime	Idade (anos)	Comprimento (cm)	Largura (mm)	Peso (g)	Densidade (%)
1	50	3,2	4,3	0,46	0,24
2	35	3,8	5,1	0,75	0,30
3	52	3,9	5,2	0,81	0,35
4	40	4,6	6,9	1,27	0,94
5	38	4,5	6,7	1,18	0,92
6	65	4,0	5,5	0,86	0,87
7	65	4,5	6,6	1,01	0,92
8	54	3,8	5,2	0,77	0,33
9	50	4,1	6,4	1,14	0,87
10	42	4,7	6,9	1,25	0,95
11	36	4,5	6,4	1,09	0,91
12	55	3,8	5,0	0,85	0,30
13	51	3,9	5,1	0,84	0,70
14	39	3,6	4,9	0,57	0,24
15	61	4,3	6,0	1,08	0,90
16	58	4,2	5,8	0,96	0,89
17	55	3,9	5,0	0,93	0,71
18	60	3,7	4,8	0,61	0,26
19	60	3,5	4,6	0,58	0,25
20	55	3,8	4,9	0,89	0,30
Média	$51,0 \pm 9,6$	$4,0 \pm 0,4$	$5,5 \pm 0,8$	$0,9 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,3$

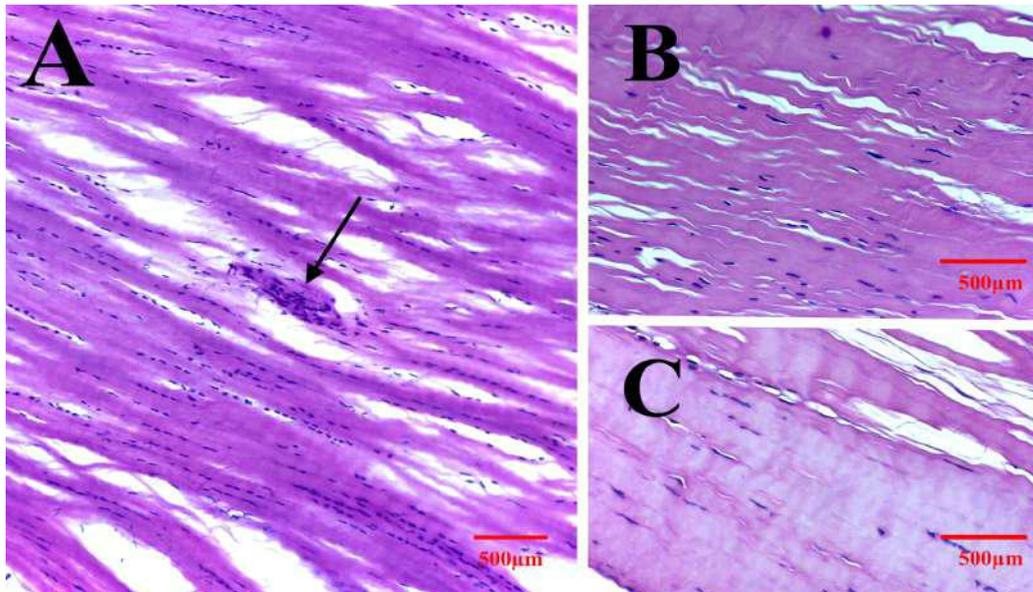
Fonte: elaborada pelo autor.

Em todos os casos o LAL apresentou uma origem proximal e posterior em relação ao epicôndilo lateral do fêmur, $2,0 \pm 0,2$ mm e $2,9 \pm 0,4$ mm, respectivamente. Também em todos os casos, ele apresentou duas inserções, uma na tíbia (no ponto médio entre a Cabeça da Fíbula e o Tubérculo de Gerdy, $5,5 \pm 0,9$ mm abaixo do platô tibial) e outra na periferia do Menisco Lateral (entre o corpo e o corno anterior).

As secções histológicas em HE evidenciaram fibras colágenas densas e bem

organizadas, típico de estrutura ligamentar, além da presença de tecido vascular. Essa estrutura histológica é semelhante à estrutura do LCA e à do LCL, utilizados como controle (Figura 16).

Figura 16 – Coloração em HE dos Ligamentos Anterolateral, Cruzado Anterior e Colateral Lateral



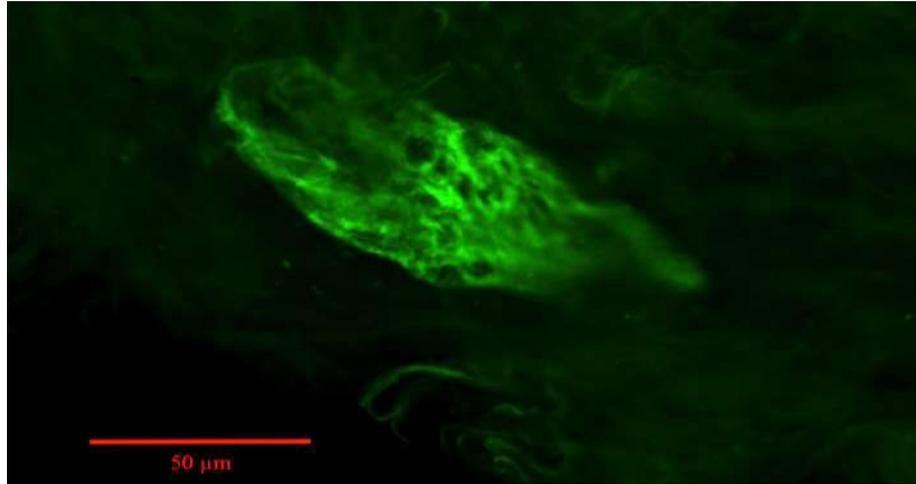
Corte histológico longitudinal de 10µm de espessura corado com hematoxilina-eosina. A. Ligamento Anterolateral; B. Ligamento Cruzado Anterior; C. Ligamento Colateral Lateral. (barra: 500µm). Seta preta: vaso sanguíneo. Fonte: arquivo pessoal do autor.

Em todos os 20 espécimes analisados com imunofluorescência, foram identificados mecanorreceptores Ruffini-like (tipo I) (Figura 17), com diâmetros entre 40 e 60 µm e comprimentos entre 100 e 200 µm, e terminações nervosas livres (tipo IV), com fibras apresentando espessura entre 1 e 4 µm variando desde fibras paralelas até fibras em formato enovelado (Figura 18). Foram encontradas ainda terminações nervosas não classificadas, com formatos diversos e irregulares.

Os elementos neurais, incluindo terminações nervosas livres e mecanorreceptores, ocuparam $0,6 \pm 0,3$ % da área do ligamento (Tabela 2 e Figura 19). Como ilustrado na Figura 20, a maioria foi encontrada próximo da origem e das inserções do LAL, embora também estivessem presentes na parte central do ligamento.

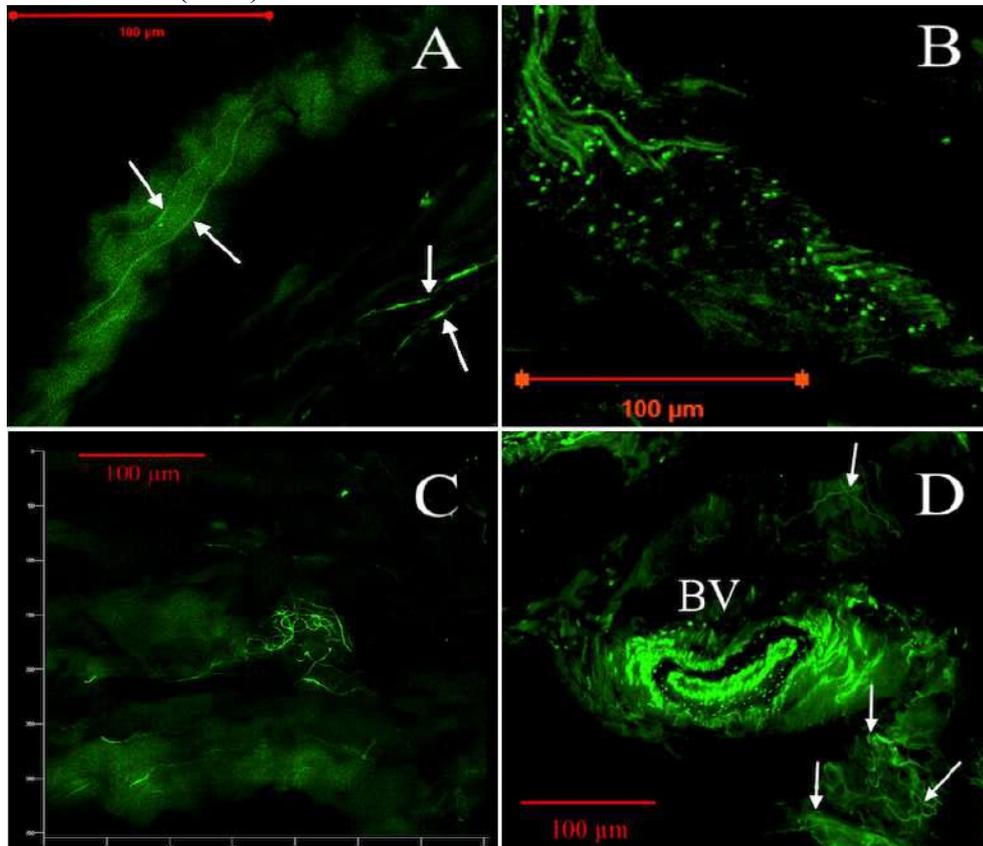
As secções incubadas sem anticorpos primários não mostraram imunorreatividade, confirmando a especificidade da imunomarcção. Terminações nervosas também foram encontradas nos controles e na cápsula adjacente ao LAL. No entanto, adjacente à cápsula, apenas terminações nervosas livres (tipo IV) foram encontradas. O resultado do grupo controle (Nervo Mediano, LCL e LCA) pode ser visto na Figura 21.

Figura 17 – Mecanorreceptor Ruffini-like (tipo I de Freeman e Wyke) identificado no Ligamento Anterolateral (LAL)



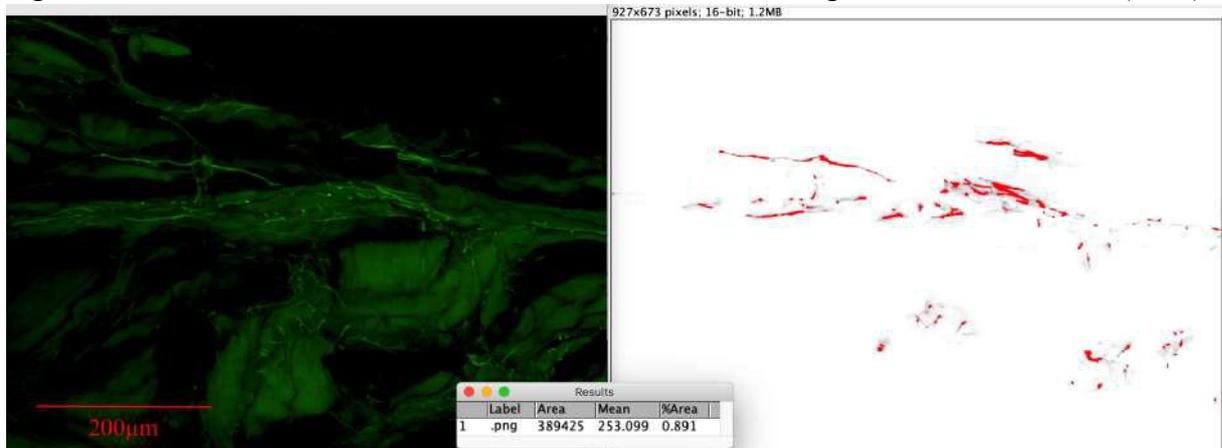
Mecanorreceptores do tipo I, como proposto por Freeman e Wyke (1967a, 1967b). Corte de 50 μm de espessura do LAL analisado por microscopia confocal de varredura a *laser*. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 como anticorpo primário e Alexa Fluor 488 como anticorpo secundário. (barra: 50 μm). Fonte: arquivo pessoal do autor.

Figura 18 – Terminações nervosas livres identificadas no Ligamento Anterolateral (LAL)



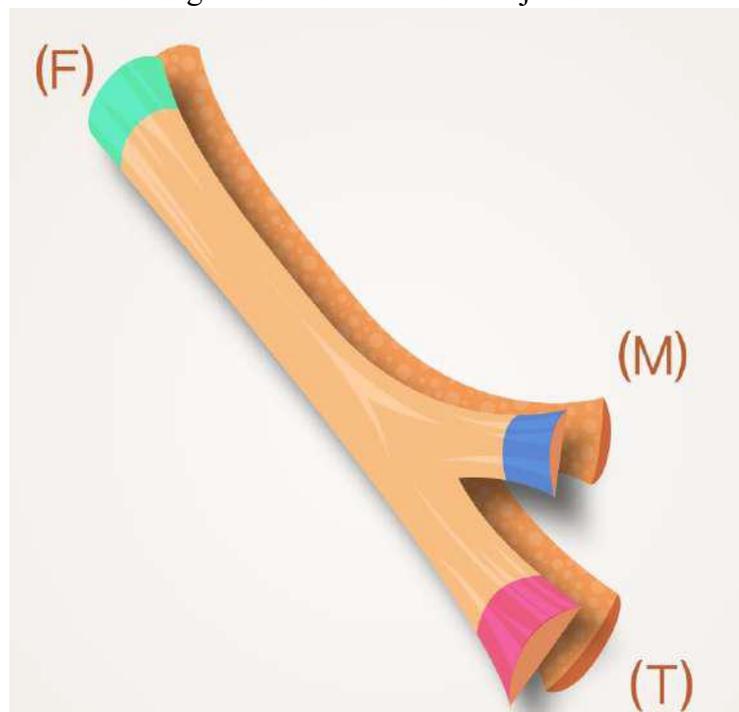
Seção de 50 μm de espessura do LAL obtido com coloração de PGP 9.5 como anticorpo primário e Alexa Fluor 488 como anticorpo secundário. A. Fibras nervosas paralelas (barra: 100 μm); B. Feixe de fibras nervosas (barra: 100 μm); C. Fibras nervosas enoveladas (barra: 100 μm .); D. Vasos sanguíneos com estrutura nervosa circundante (barra: 100 μm). Seta branca: fibra nervosa; BV: vaso sanguíneo. Fonte: arquivo pessoal do autor.

Figura 19 – Densidade de elementos neurais identificados no Ligamento Anterolateral (LAL)



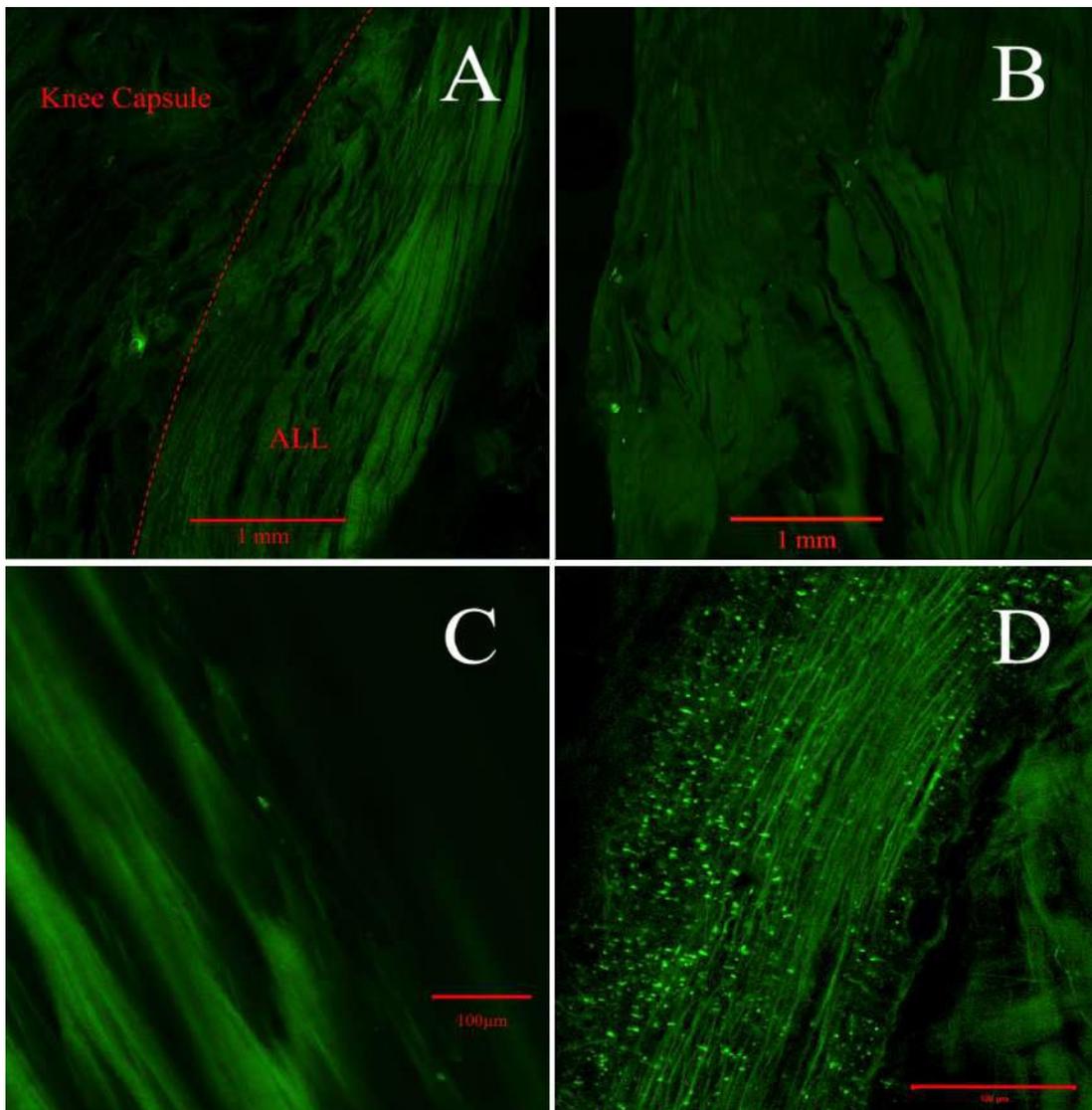
Quantificação da densidade nervosa do LAL utilizando a função de medição de fração de área do *software* ImageJ 1.52a. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 como anticorpo primário e Alexa Fluor 488 como anticorpo secundário. Seção de 50µm de espessura analisada por microscopia confocal de varredura a *laser*. (barra: 200µm). Fonte: arquivo pessoal do autor.

Figura 20 – Zonas de maior concentração de elementos neurais no Ligamento Anterolateral do joelho



Origem Femoral: (F); Inserção Meniscal: (M); Inserção Tibial: (T).
Fonte: arquivo pessoal do autor.

Figura 21 – Imunofluorescência dos Ligamentos Anterolateral, Cruzado Anterior e Colateral Lateral e do Nervo Mediano



Secções longitudinais de 50 μ m de espessura analisadas por microscopia confocal de varredura a *laser*. Imunofluorescência obtida com coloração 9.5 de PGP como anticorpo primário e Alexa Fluor 488 como anticorpo secundário. A. Ligamento Anterolateral (barra: 1mm); B. Ligamento Cruzado Anterior (barra: 1mm); C. Ligamento Colateral Lateral (barra: 100 μ m); D. Nervo Mediano (barra: 100 μ m). Fonte: arquivo pessoal do autor.

5 DISCUSSÃO

O principal achado desse estudo foi a presença de mecanorreceptores dos tipos I e IV na substância do LAL, o que sugere um papel proprioceptivo importante desse ligamento. Desde as primeiras descrições do LAL (VINCENT *et al.*, 2012; CLAES *et al.*, 2013; HELITO *et al.*, 2013b), o número de publicações e estudos sobre a anatomia e função desse ligamento vem aumentando (POMAJZL *et al.*, 2015; VAN DER WATT *et al.*, 2015; ARIEL DE LIMA *et al.*, 2019a). Contudo, ainda existem poucos artigos que falam sobre os mecanorreceptores do LAL. O conhecimento do possível papel proprioceptivo dessa estrutura pode aumentar a procura por lesões do LAL em pacientes com ruptura do LCA e também tornar mais frequente a indicação cirúrgica de sua reconstrução. Esse papel proprioceptivo ainda não foi estudado com detalhes na literatura e, portanto, ainda não é utilizado como indicação para a reconstrução LAL, principalmente em casos no qual o paciente já irá se submeter à reconstrução do LCA.

Caterine *et al.* (2015) demonstraram a detecção de proteínas neurofilamentares no LAL, indicando uma rede de inervação nervosa periférica. Seu estudo evidenciou estruturas circulares que podem ser identificadas como pequenos nervos periféricos ou mecanorreceptores. No estudo, a análise imunohistoquímica foi realizada em apenas um espécime, uma mulher de 70 anos, o que dificulta a generalização das conclusões. Foram realizadas secções de 5 µm de espessura e coloração com *monoclonal mouse anti-human NFP* e com anticorpo secundário *ImmPRESS Anti-Mouse Ig Peroxidase Polymer Detection Kit*. Em estudo de 10 espécimes de LAL, Macchi *et al.* (2016) também verificaram a presença de estruturas nervosas, semelhante a pequenos nervos e mecanorreceptores tipo I, na imunohistoquímica. Os autores utilizaram secções de 10 µm de espessura e coloração com *polyclonal rabbit antibody anti-S100*.

O estudo dos mecanorreceptores teve um grande avanço após as primeiras publicações de Freeman e Wyke (1967a, 1967b). Nessas pesquisas eram utilizadas técnicas de coloração dos tecidos neurais com prata e cloreto de ouro (FREEMAN; WYKE, 1967a, 1967b; BACKENKOHLE; STRASMANN; HALATA, 1997; MCLAIN; PICKAR, 1998; RAUNEST; SAGER; BÜRGENER, 1998). Entretanto, as colorações com prata e ouro tem o inconveniente de eventualmente não corar todas as estruturas nervosas e às vezes corar inadvertidamente estruturas não nervosas, dificultando a interpretação (ASSIMAKOPOULOS *et al.*, 1992; AMIR; LOWE; FINSTERBUSH, 1995). Com o surgimento das técnicas de imunohistoquímica e imunofluorescência, o estudo dos mecanorreceptores ganhou novo

impulso (HAGERT *et al.*, 2007; DIMITROULIAS *et al.*, 2010; MIHALKO *et al.*, 2011). Muitas substâncias marcadoras são utilizadas para o estudo dessas terminações nervosas, como *Antibodies to substance P* (VILENSKY *et al.*, 2002), *calcitonin gene-related peptide* (JANG; ISIK; GIBRAN, 2000), S100 (MACCHI *et al.*, 2016) e NFP (CATERINE *et al.*, 2015). Todavia, além das peculiaridades técnicas de cada um desses marcadores, muitos deles não são suficientemente específicos como marcadores neurais e possibilitam a impregnação de outros tecidos (JEW; FINK; WILLIAMS, 1996; JEW *et al.*, 2003). Como descrito por Jew *et al.* (2003), a PGP 9.5 tem sido usada com sucesso em estudos para marcação de nervos e terminações nervosas, sendo essa a grande vantagem desse protocolo de estudo em relação aos outros existentes na literatura sobre as estruturas nervosas do LAL (HIRASAWA *et al.*, 2000; SHIRAI *et al.*, 2009).

No presente estudo, na microscopia óptica convencional, analisando os cortes de 10µm corados em HE, o LAL apresentou uma estrutura típica ligamentar, achado esse que vai de acordo com a literatura (POMAJZL *et al.*, 2015; VAN DER WATT *et al.*, 2015; ARIEL DE LIMA *et al.*, 2019a). Helito *et al.* (2016a, 2017) descreveram a estrutura histológica do LAL como um conjunto de fibras densas e bem organizadas, predominando o colágeno tipo I, com média de 121 fibroblastos/mm² no adulto e 1631 fibroblastos/mm² no feto. Macchi *et al.* (2016) demonstraram que o LAL era composto principalmente de colágeno tipo I (90%), tipo III (5%), tipo VI (3%) e poucas fibras elásticas (1%). O colágeno tipo I apresentava-se arranjado paralelamente, com fibrilas onduladas envoltas por colágeno tipo VI.

Com a padronização da técnica de dissecação e utilizando cadáveres congelados, o LAL foi dissecado com êxito em 100% dos casos no presente estudo. Grande parte dos trabalhos que obtiveram essa taxa de observação do LAL também utilizaram cadáveres congelados na propedêutica (HELITO *et al.*, 2013a, 2013b, 2015, 2016a; CATERINE *et al.*, 2015; KENNEDY *et al.*, 2015a; ZENS *et al.*, 2015; CORBO *et al.*, 2017; DAGGETT *et al.*, 2017; TORO-IBARGUEN *et al.*, 2017). É provável que o uso de cadáveres embalsamados dificulte as dissecções, uma vez que o LAL é adjacente à cápsula articular anterolateral e a separação completa dos planos é comprometida em espécimes embalsamados (ARIEL DE LIMA *et al.*, 2019a). No entanto, ressaltamos aqui que alguns autores, apesar de toda a evidencia proveniente da literatura recente, ainda questionam a existência do LAL e acreditam que ele não passa de um artefato de dissecação (FARDIN; LIZARDO; BAPTISTA, 2017; SABZEVARI *et al.*, 2017).

As medidas de comprimento, largura e espessura do LAL encontrados foram semelhantes ao descrito em outros trabalhos (VINCENT *et al.*, 2012; HELITO *et al.*, 2013b,

2015, 2016b; CATERINE *et al.*, 2015; VAN DER WATT *et al.*, 2015; POMAJZL *et al.*, 2015; STIJAK *et al.*, 2016; KOSY *et al.*, 2016; DAGGETT *et al.*, 2017; ROESSLER *et al.*, 2017; SHEA *et al.*, 2017; FARHAN; SUDHAKARAN; THILAK, 2017). Em todos os casos encontramos o LAL com 2 inserções distais, uma na tíbia e uma no Menisco Lateral, e uma origem femoral, proximal e posterior ao epicôndilo lateral do fêmur. Utilizando o epicôndilo femoral como referência, atualmente a maioria dos autores descrevem sua origem como posterior e proximal (DAGGETT *et al.*, 2016; HELITO *et al.*, 2016b, 2017; CORBO *et al.*, 2017; NERI *et al.*, 2017; FARHAN; SUDHAKARAN; THILAK, 2017) ou no centro dele (CLAES *et al.*, 2013; DAGGETT *et al.*, 2016, 2017; HELITO *et al.*, 2016b, 2017; CORBO *et al.*, 2017; ROESSLER *et al.*, 2017). Embora a literatura ainda apresente alguma controvérsia em relação à origem femoral do LAL, nos últimos anos as descrições dessa origem mudaram do centro para posterior e proximal ao epicôndilo lateral, e nenhum estudo em cadáveres adultos desde 2017 descreveu a origem do LAL como anterior ao epicôndilo (ARIEL DE LIMA *et al.*, 2019a).

O estudo de mecanorreceptores de outros ligamentos e estruturas do joelho já foi feito por diversos autores. Ao observarem a presença de mecanorreceptores variados no Ligamento Cruzado Posterior (LCP), Del Valle *et al.* (1998) e Katonis *et al.* (1991) sugeriram um papel proprioceptivo desse ligamento. Franchi, Zaccherotti e Aglietti (1995) constataram que o LCP possui uma rede neural e que os mecanorreceptores ocupam cerca de 1% da área total do ligamento, sendo encontrados mecanorreceptores do tipo I, II, III e IV. Johansson, Sjölander e Sojka (1991) concluíram que os ligamentos contribuem para a estabilidade da articulação através de uma combinação de suas características mecânicas e sensoriais. No LCA, a presença de mecanorreceptores é historicamente bem documentada na literatura (SCHULTZ *et al.*, 1984; ZIMNY; SCHUTTE; DABEZIES, 1986; SCHUTTE *et al.*, 1987). Schutte *et al.* (1987) relataram que o LCA humano é extensivamente inervado e que os elementos neurais, incluindo terminações nervosas livres, compreendem cerca de 1% da área do ligamento, semelhante aos achados para o LCP e maior que a porcentagem de 0,6% encontrada em nosso estudo. Esse achado pode sugerir que o papel proprioceptivo dos ligamentos do pivô central é mais importante de que as estruturas periféricas. Assim como no LCP, no LCA também podem ser encontrados os 4 tipos de mecanorreceptores (SCHULTZ *et al.*, 1984; ZIMNY; SCHUTTE; DABEZIES, 1986; SCHUTTE *et al.*, 1987) descritos por Freeman e Wyke (1967a, 1967b). Yan, Sasaki e Hitomi (2010) observaram a inervação do LCL através de estudo histológico com *Masson's trichrome method*. Nesse estudo foram encontrados mecanorreceptores do tipo I, III e IV (YAN; SASAKI; HITOMI, 2010). De forma

semelhante, utilizando técnica de coloração com cloreto de ouro, de Avila *et al.* (1989) não identificaram terminações nervosas “paciniformes” (tipo II) ao estudarem o LCL. Na presente tese, além dos mecanorreceptores do tipo II, os do tipo III também não foram encontrados. A ausência de alguns tipos de mecanorreceptores nas estruturas laterais também pode sugerir um papel proprioceptivo menos importante em relação ao LCA e ao LCP.

Pesquisando sobre a inervação dos meniscos, Mine *et al.* (2000), utilizando técnica de imunohistoquímica com *antibodies to substance P* e PGP 9.5, identificaram mecanorreceptores do tipo I, II e IV, principalmente no terço externo e nos cornos anteriores e posteriores. Ao estudar a distribuição dos mecanorreceptores nos ligamentos e tendões ao redor do joelho humano, Çabuk e Kuşku Çabuk (2016) descreveram que os mecanorreceptores foram localizados principalmente nos ligamentos cruzados e nas estruturas laterais, e menos frequente nas estruturas mediais. A maioria desses mecanorreceptores estava localizada perto das inserções ósseas, semelhante aos achados desse estudo. Ainda no estudo de Çabuk e Kuşku Çabuk (2016), utilizando-se imunohistoquímica com S100, foram encontrados mecanorreceptores do tipo I, III e IV. O LCL apresentou cerca de duas vezes mais o número de mecanorreceptores do tipo I e quase cinco vezes mais o número de mecanorreceptores do tipo IV em relação ao LCM, corroborando com o importante papel proprioceptivo da região lateral do joelho quando comparado às estruturas mediais.

As terminações nervosas livres atuam como sistema nociceptivo das articulações (GRIGG; SCHAIBLE; SCHMIDT, 1986). Ou seja, elas são inativas durante circunstâncias normais, mas tornam-se ativas quando a articulação é submetida a uma perturbação química ou mecânica (GRIGG; SCHAIBLE; SCHMIDT, 1986). Tais mecanorreceptores são predominantes na cápsula articular do joelho (HALATA; RETTIG; SCHULZE, 1985) e funcionam como receptores de dor na sinóvia (ÇABUK; KUŞKU ÇABUK, 2016). No presente trabalho, observamos mecanorreceptores tipo IV e terminações nervosas livres não classificadas em todo o LAL, principalmente adjacentes aos vasos e principalmente nas inserções ligamentares e próximo à cápsula articular.

As terminações do tipo I, que são de adaptação lenta e têm baixos limiares mecânicos (FREEMAN; WYKE, 1967a, 1967b), funcionam no controle do posicionamento articular e da cinestesia (SOLOMONOW, 2006). Eles são sensíveis a cargas axiais e tensionais, além de desempenhar um papel na regulação da estabilidade articular através do controle dos músculos ao redor da articulação (JOHANSSON; SJÖLANDER; SOJKA, 1991). Ou seja, uma aferência via mecanorreceptores do tipo I ajuda a coordenar o movimento proprioceptivo da articulação (ÇABUK; KUŞKU ÇABUK, 2016). Devido à geometria

articular do joelho, durante a flexo-extensão, ocorre um maior movimento no lado lateral do joelho, sendo que o côndilo femoral lateral percorre uma distância maior (AMIRI *et al.*, 2006, 2007). Semelhante ao descrito por Çabuk e Kuşku Çabuk *et al.* (2016), acreditamos que tanto os ligamentos cruzados como o complexo lateral (LCL e LAL) participam dinamicamente da estabilização desse movimento, o que é explicado pela presença bem documentada de mecanorreceptores do tipo I nessas estruturas.

Por fim, os mecanorreceptores nos ligamentos, incluindo o LAL, além de conduzirem a informação sensorial da dor, informam ao sistema nervoso central sobre a tensão ligamentar, mantendo assim a estabilidade articular através da atividade muscular.

5.1 Limitações

Podemos citar como limitação do presente trabalho o número de joelhos estudados. A Lei local vigente onde o estudo foi realizado limita o acesso a cadáveres congelados em grande quantidade, de modo que só conseguimos utilizar 20 espécimes. Contudo, baseado em estudos semelhantes da literatura, acreditamos que a amostra utilizada foi suficiente para validar as conclusões (POMAJZL *et al.*, 2015; VAN DER WATT *et al.*, 2015; ARIEL DE LIMA *et al.*, 2019a).

Muitos tipos de coloração podem ser usados para analisar as terminações nervosas, tais como *anti-substance P antibodies*, *calcitonin gene-related peptide*, S100 e NFP. Entretanto, além das peculiaridades técnicas de cada uma dessas colorações, muitas não são específicas para marcação neural e permitem a impregnação de outros tecidos. Dessa forma, considerando os prós e contras de cada coloração e em busca de maior especificidade, como descrevemos durante o artigo, utilizamos o protocolo descrito por Jew *et al.* (2003), utilizando a PGP 9.5.

Outra limitação foi a utilização da classificação de Freeman e Wyke (1967a, 1967b), principalmente devido ao fato de tal classificação não contemplar os achados de neuromarcações modernas. Em nosso estudo, foram encontradas terminações nervosas não classificadas, com formatos diversos e irregulares. Alguns autores, como Rein *et al.* (2015), propõem um “tipo V” à classificação, englobando essas terminações não classificadas. Contudo, a utilização dessa classificação com o tipo V, no momento, dificultaria, a nosso ver, a comparação dos resultados do nosso estudo com outros estudos clássicos dos mecanorreceptores do joelho.

Ressaltamos que, conforme descrito por Johansson, Sjölander e Sojka (1991), a

cápsula articular apresenta mecanorreceptores e apenas o achado dessas terminações sensoriais na amostra não demonstra que essa estrutura seja um ligamento. Para minimizar este problema e não gerar controvérsias sobre o mesmo, a precaução de confirmar o tecido ligamentar com secções histológicas em HE antes da análise de imunofluorescência foi realizada. Somente após a confirmação do tecido conjuntivo denso e bem organizado foi realizada a análise dos mecanorreceptores.

Mais uma limitação que pode ser considerada é a forma como a dissecação foi realizada. Outras técnicas de dissecação poderia ser realizadas, mas propusemo-nos a usar o protocolo de Ariel de Lima *et al.* (2019b) e Daggett, Busch e Sonnery-Cottet (2016). Sabemos que alguns autores ainda acreditam que o LAL é um artefato de dissecação e a maneira como a dissecação é realizada é sempre uma questão de controvérsia.

Por fim, a falta de outros estudos semelhantes sobre a inervação do LAL dificultou a interpretação dos resultados e na escolha do protocolo ideal.

5.2 Perspectivas futuras

O ligamento anterolateral ainda vai estar no centro das atenções da cirurgia do joelho por muito tempo. Depois dos estudos de anatomia macro e microscópica, o foco é a função desse ligamento. Em sinergia com os trabalhos de biomecânica, o próximo passo será a união dos estudos dos mecanorreceptores com a eletroneurofisiologia. Indubitavelmente, esse campo de atuação fornecerá informações importantes para o manejo das lesões e da propedêutica do tratamento cirúrgico dessa estrutura.

6 CONCLUSÃO

- O Ligamento Anterolateral apresenta estrutura nervosa periférica.
- Identificados mecanorreceptores *Ruffini-like* (tipo I) e terminações nervosas livres (tipo IV).
- Os elementos neurais ocuparam $0,6 \pm 0,3\%$ da área do ligamento.
- O Ligamento Anterolateral é uma estrutura ligamentar distinta no aspecto anterolateral do joelho, exibindo comprimento médio de $4,0 \pm 0,4$ cm, largura média de $5,5 \pm 0,8$ mm e peso médio de $0,9 \pm 0,2$ g.
- Os achados levam a crer que o Ligamento Anterolateral apresenta importância para a propriocepção e estabilização anterolateral do joelho.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, Lee-Ann H. Immunofluorescence and confocal microscopy of neutrophils. *In*: QUINN, Mark T.; DELEO, Frank R.; BOKOCH, Gary M. **Neutrophil methods and protocols**. Totowa: Editora Humana Press, 2007. p. 273-287.
- AMIR, Gail; LOWE, Joseph; FINSTERBUSH, Alex. Histomorphometric analysis of innervation of the anterior cruciate ligament in osteoarthritis. **Journal of orthopaedic research**, v. 13, n. 1, p. 78-82, 1995.
- AMIRI, Shahram *et al.* Mechanics of the passive knee joint. Part 1: the role of the tibial articular surfaces in guiding the passive motion. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine**, v. 220, n. 8, p. 813-822, 2006.
- AMIRI, Shahram *et al.* Mechanics of the passive knee joint. Part 2: interaction between the ligaments and the articular surfaces in guiding the joint motion. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine**, v. 221, n. 8, p. 821-832, 2007.
- ARIEL DE LIMA, Diego *et al.* Surgical indications for anterior cruciate ligament reconstruction combined with extra-articular lateral tenodesis or anterolateral ligament reconstruction. **Revista brasileira de ortopedia**, v. 53, n. 6, p. 661-667, 2018.
- ARIEL DE LIMA, Diego *et al.* Anatomy of the Anterolateral Ligament of the Knee: A Systematic Review. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 35, n. 2, p. 670-681, 2019a.
- ARIEL DE LIMA, Diego *et al.* Anterolateral ligament of the knee: a step-by-step dissection. **BMC musculoskeletal disorders**, v. 20, n. 1, p. 142, 2019b.
- ASSIMAKOPOULOS, Antonios *et al.* The innervation of the human meniscus. **Clinical orthopaedics and related research**, v. 275, n. 4, p. 232-236, 1992.
- ASTUR, Diego Costa *et al.* Lesões do ligamento cruzado anterior e do menisco no esporte: incidência, tempo de prática até a lesão e limitações causadas pelo trauma. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 51, n. 6, p. 652-656, 2016.
- BACH, Peter; BAKER, John. **Histochemical and Immunohistochemical Techniques: Applications to pharmacology and toxicology**. Berlim: Editora Springer Science & Business Media, 2012.
- BACKENKÖHLER, Ulrich; STRASMANN, Thomas; HALATA, Zdenek. Topography of mechanoreceptors in the shoulder joint region—a computer-aided 3D reconstruction in the laboratory mouse. **The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists**, v. 248, n. 3, p. 433-441, 1997.
- ÇABUK, Haluk; KUŞKU ÇABUK, Fatmagül. Mechanoreceptors of the ligaments and tendons around the knee. **Clinical Anatomy**, v. 29, n. 6, p. 789-795, 2016.

CAPO, Jason *et al.* Ultrasonographic visualization and assessment of the anterolateral ligament. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 25, n. 10, p. 3134-3139, 2017.

CATERINE, Scott *et al.* A cadaveric study of the anterolateral ligament: re-introducing the lateral capsular ligament. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 23, n. 11, p. 3186-3195, 2015.

CAVAIGNAC, Etienne *et al.* Ultrasonographic identification of the anterolateral ligament of the knee. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 32, n. 1, p. 120-126, 2016.

CAVAIGNAC, Etienne *et al.* Ultrasonographic evaluation of anterolateral ligament injuries: correlation with magnetic resonance imaging and pivot-shift testing. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 33, n. 7, p. 1384-1390, 2017.

CAVALCANTE, Maria Luzete Costa; RODRIGUES, Consuelo Junqueira; MATTAR JR, Rames. Mechanoreceptors and nerve endings of the triangular fibrocartilage in the human wrist. **The Journal of hand surgery**, v. 29, n. 3, p. 432-435, 2004.

CIANCA, John *et al.* Musculoskeletal ultrasound imaging of the recently described anterolateral ligament of the knee. **American journal of physical medicine & rehabilitation**, v. 93, n. 2, p. 186, 2014.

CLAES, Steven *et al.* Anatomy of the anterolateral ligament of the knee. **Journal of anatomy**, v. 223, n. 4, p. 321-328, 2013.

CLAES, Steven *et al.* The Segond fracture: a bony injury of the anterolateral ligament of the knee. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 30, n. 11, p. 1475-1482, 2014.

COBBY, M. J.; SCHWEITZER, M. E.; RESNICK, D. The deep lateral femoral notch: an indirect sign of a torn anterior cruciate ligament. **Radiology**, v. 184, n. 3, p. 855-858, 1992.

COQUART, B. *et al.* Anterolateral ligament of the knee: myth or reality?. **Surgical and Radiologic Anatomy**, v. 38, n. 8, p. 955-962, 2016.

CORBO, Gillian *et al.* The infra-meniscal fibers of the anterolateral ligament are stronger and stiffer than the supra-meniscal fibers despite similar histological characteristics. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 25, n. 4, p. 1078-1085, 2017.

DABBS, David J. **Diagnostic immunohistochemistry e-book**. New York: Editora Elsevier Health Sciences, 2013.

DAGGETT, Matthew *et al.* Femoral origin of the anterolateral ligament: an anatomic analysis. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 32, n. 5, p. 835-841, 2016.

DAGGETT, Matthew *et al.* The anterolateral ligament: an anatomic study on sex-based differences. **Orthopaedic Journal of Sports Medicine**, v. 5, n. 2, p. 2325967116689387,

2017.

DAGGETT, Matthew; BUSCH, Kyle; SONNERY-COTTET, Bertrand. Surgical dissection of the anterolateral ligament. **Arthroscopy techniques**, v. 5, n. 1, p. e185-e188, 2016.

DE AVILA, Gerson A. *et al.* The mechanoreceptor innervation of the human fibular collateral ligament. **Journal of anatomy**, v. 162, n. 1, p. 1-5, 1989.

DEL VALLE, M. E. *et al.* Immunohistochemical analysis of mechanoreceptors in the human posterior cruciate ligament: a demonstration of its proprioceptive role and clinical relevance. **The Journal of arthroplasty**, v. 13, n. 8, p. 916-922, 1998.

DELLON, A. Lee. Partial Knee Joint Denervation for Knee Pain: A Review. **J Sports Med Doping Stud**, v. 5, n. 153, p. 2161-2173, 2015.

DIMITROULIAS, A. *et al.* An immunohistochemical study of mechanoreceptors in lumbar spine intervertebral discs. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 17, n. 6, p. 742-745, 2010.

DODDS, A. L. *et al.* The anterolateral ligament: Anatomy, length changes and association with the second fracture. **Bone and Joint Journal**, v. 96, n. 3, p. 325-331, 2014.

FARDIN, Paloma Batista Almeida; LIZARDO, Juliana Hott de Fúcio; BAPTISTA, Josemberg da Silva. Study of the anterolateral ligament of the knee in formalin-embedded cadavers. **Acta ortopedica brasileira**, v. 25, n. 2, p. 89-92, 2017.

FRANCHI, Alessandro; ZACCHEROTTI, Giovanni; AGLIETTI, Paolo. Neural system of the human posterior cruciate ligament in osteoarthritis. **The Journal of arthroplasty**, v. 10, n. 5, p. 679-682, 1995.

FRANCO, Carlo. D. *et al.* Innervation of the Anterior Capsule of the Human Knee. **Regional Anesthesia and Pain Medicine**, v. 5, n. 2, p. 363-368, 2015.

FREEMAN, M. A. R.; WYKE, B. The innervation of the ankle joint. An anatomical and histological study in the cat. **Cells Tissues Organs**, v. 68, n. 3, p. 321-333, 1967a.

FREEMAN, M. A. R.; WYKE, B. The innervation of the knee joint. An anatomical and histological study in the cat. **Journal of anatomy**, v. 101, n. 3, p. 505-532, 1967b.

GANDEVIA, Simon. C.; BURKE, David. Does the nervous system depend on kinesthetic information to control natural limb movements? **Behavioral and Brain Sciences**, v. 15, n. 1, p. 614-614, 1992.

GIBSON, S. *et al.* Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the spinal cord of man and of eight other species. **Journal of Neuroscience**, v. 4, n. 12, p. 3101-3111, 1984.

GIUGLIANO, Danica N.; SOLOMON, Jennifer L. ACL tears in female athletes. **Physical medicine and rehabilitation clinics of North America**, v. 18, n. 3, p. 417-438, 2007.

GOLDMAN, A. B.; PAVLOV, H.; RUBENSTEIN, D. The Segond fracture of the proximal tibia: a small avulsion that reflects major ligamentous damage. **American Journal of**

Roentgenology, v. 151, n. 6, p. 1163-1167, 1988.

GONZALEZ-MARTINEZ, T. *et al.* S-100 proteins in the human peripheral nervous system. **Microscopy research and technique**, v. 60, n. 6, p. 633-638, 2003.

GRIGG, Peter; SCHAIBL, Hans Georg; SCHMIDT, Robert. Mechanical sensitivity of group III and IV afferents from posterior articular nerve in normal and inflamed cat knee. **Journal of Neurophysiology**, v. 55, n. 4, p. 635-643, 1986.

HAGERT, Elisabet *et al.* Immunohistochemical analysis of wrist ligament innervation in relation to their structural composition. **The Journal of hand surgery**, v. 32, n. 1, p. 30-36, 2007.

HALATA, Z.; RETTIG, T.; SCHULZE, W. The ultrastructure of sensory nerve endings in the human knee joint capsule. **Anatomy and Embryology**, v. 172, n. 3, p. 265-275, 1985.

HECKMANN, Nathanael *et al.* Radiographic Landmarks for Identifying the Anterolateral Ligament of the Knee. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 32, n. 5, p. 844-848, 2016.

HELITO, Camilo Partezani *et al.* Anatomical study on the anterolateral ligament of the knee. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 48, n. 4, p. 368-373, 2013a.

HELITO, Camilo Partezani *et al.* Anatomy and histology of the knee anterolateral ligament. **Orthopaedic Journal of Sports Medicine**, v. 1, n. 7, p. 232-237, 2013b.

HELITO, Camilo Partezani *et al.* MRI evaluation of the anterolateral ligament of the knee: Assessment in routine 1.5-T scans. **Skeletal Radiology**, v. 43, n. 10, p. 1421-1427, 2014a.

HELITO, Camilo Partezani *et al.* Radiographic landmarks for locating the femoral origin and tibial insertion of the knee anterolateral ligament. **American Journal of Sports Medicine**, v. 42, n. 10, p. 2356-2362, 2014b.

HELITO, Camilo Partezani *et al.* Correlation of magnetic resonance imaging with knee anterolateral ligament anatomy: a cadaveric study. **Orthopaedic journal of sports medicine**, v. 3, n. 12, p. 232-237, 2015.

HELITO, Camilo Partezani *et al.* The meniscal insertion of the knee anterolateral ligament. **Surgical and Radiologic Anatomy**, v. 38, n. 2, p. 223-228, 2016a.

HELITO, Camilo Partezani *et al.* Why Do Authors Differ With Regard to the Femoral and Meniscal Anatomic Parameters of the Knee Anterolateral Ligament?: Dissection by Layers and a Description of Its Superficial and Deep Layers. **Orthopaedic Journal of Sports Medicine**, v. 4, n. 12, p. 232-237, 2016b.

HELITO, Camilo Partezani *et al.* Anterolateral Ligament of the Fetal Knee: An Anatomic and Histological Study. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 45, n. 1, p. 91-96, 2017.

HELITO, Camilo Partezani *et al.* Combined reconstruction of the anterolateral ligament in chronic ACL injuries leads to better clinical outcomes than isolated ACL reconstruction. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 26, n. 12, p. 3652-3659, 2018.

HESS, T. *et al.* Lateral tibial avulsion fractures and disruptions to the anterior cruciate ligament. A clinical study of their incidence and correlation. **Clinical orthopaedics and related research**, v. 303, n. 3, p. 193-197, 1994.

HILLIER, S.; IMMINK, M.; THEWLIS, D. Assessing Proprioception: A Systematic Review of Possibilities. **Neurorehabilitation and neural repair**, v. 29, n. 10, p. 933-949, 2015.

HIRASAWA, Y. *et al.* Nerve distribution to the human knee joint: anatomical and immunohistochemical study. **International orthopaedics**, v. 24, n. 1, p. 1-4, 2000.

HORNER, Gregory; DELLON, A. Lee. Innervation of the human knee joint and implications for surgery. **Clinical orthopaedics and related research**, v. 301, n. 3, p. 221-226, 1994.

HUANG, Wenhan *et al.* Clinical examination of anterior cruciate ligament rupture: a systematic review and meta-analysis. **Acta Orthop Traumatol Turc**, v. 50, n. 1, p. 22-31, 2016.

HUSSEIN, Mohsen *et al.* Individualized anterior cruciate ligament surgery: a prospective study comparing anatomic single-and double-bundle reconstruction. **The American journal of sports medicine**, v. 40, n. 8, p. 1781-1788, 2012.

IMBERT, Pierre *et al.* Isometric characteristics of the anterolateral ligament of the knee: a cadaveric navigation study. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 32, n. 10, p. 2017-2024, 2016.

IWANAGA, Toshihiko; TAKAHASHI, Yasuo; FUJITA, Tsuneo. Immunohistochemistry of neuron-specific and glia-specific proteins. **Archives of histology and cytology**, v. 52, n. Supplement, p. 13-24, 1989.

JANG, Young-Chul; ISIK, Frank; GIBRAN, Nicole. Nerve distribution in hemangiomas depends on the proliferative state of the microvasculature. **Journal of Surgical Research**, v. 93, n. 1, p. 144-148, 2000.

JEW, Jean *et al.* Fluorescence immunohistochemistry and confocal scanning laser microscopy A protocol for studies of joint innervation. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 74, n. 6, p. 689-696, 2003.

JEW, Jean Y.; FINK, Cynthia A.; WILLIAMS, Terence H. Tyrosine hydroxylase-and nitric oxide synthase-immunoreactive nerve fibers in mitral valve of young adult and aged Fischer 344 rats. **Journal of the autonomic nervous system**, v. 58, n. 2, p. 35-43, 1996.

JOHANSSON, Hakan; SJÖLANDER, Per; SOJKA, Peter. A sensory role for the cruciate ligaments. **Clinical orthopaedics and related research**, v. 268, n. 2, p. 161-178, 1991.

JONES, A. R.; FINLAY, D. B. L.; LEARMONTH, D. J. A deep lateral femoral notch as a sign of acutely torn anterior cruciate ligament. **Injury**, v. 24, n. 9, p. 601-602, 1993.

JUNQUEIRA, Luis C. *et al.* **Junqueira's basic histology: text & atlas/Anthony L. Mescher**. New York: Editora McGraw-Hill Medical, 2013.

KAPOOR, Ravish *et al.* The saphenous nerve and its relationship to the nerve to the vastus medialis in and around the adductor canal: an anatomical study. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 56, n. 3, p. 365-367, 2012.

KATIKIREDDY, Kishore Reddy; O'SULLIVAN, Finbarr. Immunohistochemical and immunofluorescence procedures for protein analysis. *In*: O'DRISCOLL, Lorraine. **Gene Expression Profiling**. Totowa: Editora Humana Press, 2011. p. 155-167.

KATONIS, Pavlos G. *et al.* Mechanoreceptors in the posterior cruciate ligament: histologic study on cadaver knees. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 62, n. 3, p. 276-278, 1991.

KENDIR, S. *et al.* Re-defining the anatomical structures for blocking the nerves in adductor canal and sciatic nerve through the same injection site: an anatomical study. **Surgical and Radiologic Anatomy**, v. 40, n. 11, p. 1267-1274, 2018.

KENNEDY, John C.; ALEXANDER, Ian J.; HAYES, Keith C. Nerve supply of the human knee and its functional importance. **The American journal of sports medicine**, v. 10, n. 6, p. 329-335, 1982.

KENNEDY, Mitchell Iung *et al.* The anterolateral ligament: an anatomic, radiographic, and biomechanical analysis. **The American journal of sports medicine**, v. 43, n. 7, p. 1606-1615, 2015a.

KENNEDY, Mitchell Iung *et al.* The Anterolateral Ligament (ALL) A Comprehensive Study Encompassing Anatomic and Radiographic Landmarks and Native Structural Properties. **Orthopaedic journal of sports medicine**, v. 3, n. 7_suppl2, p. 2325967115S00126, 2015b.

KERNKAMP, Willem A.; LI, Guoan; VAN DE VELDE, Samuel K. The anterolateral ligament: a closed chapter?. **Annals of translational medicine**, v. 4, n. Suppl 1, 2016.

KERVER, A. L. A. *et al.* The surgical anatomy of the infrapatellar branch of the saphenous nerve in relation to incisions for anteromedial knee surgery. **JBJS**, v. 95, n. 23, p. 2119-2125, 2013.

KOSY, Jonathan D. *et al.* The anterolateral ligament of the knee: unwrapping the enigma. Anatomical study and comparison to previous reports. **Journal of Orthopaedics and Traumatology**, v. 17, n. 4, p. 303-308, 2016.

KOSY, Jonathan D.; MANDALIA, Vipul I.; ANASPURE, Rahul. Characterization of the anatomy of the anterolateral ligament of the knee using magnetic resonance imaging. **Skeletal radiology**, v. 44, n. 11, p. 1647-1653, 2015.

KURODA, Ryosuke; HOSHINO, Yuichi. Electromagnetic tracking of the pivot-shift. **Current reviews in musculoskeletal medicine**, v. 9, n. 2, p. 164-169, 2016.

LEPHART, Scott M. Proprioception and neuromuscular control in joint stability. **Human**

Kinetics, v. 10, n. 2, p. 405-413, 2000.

LEITE, Janaina Gonçalves da Silva *et al.* Morphology of nerve endings in vocal fold of human newborn. **International journal of pediatric otorhinolaryngology**, v. 89, n. 1, p. 55-59, 2016.

LIN, Yu-Te *et al.* Nerve endings of the wrist joint: a preliminary report of the dorsal radiocarpal ligament. **Journal of orthopaedic research**, v. 24, n. 6, p. 1225-1230, 2006.

MACCHI, Veronica *et al.* The anterolateral ligament of the knee: a radiologic and histotopographic study. **Surgical and Radiologic Anatomy**, v. 38, n. 3, p. 341-348, 2016.

MACHADO, A. B. M.; HAERTEL, L. M. **Neuroanatomia funcional (Functional neuroanatomy)**. São Paulo: Editora Atheneu, 2014.

MALESSY, Martijn JA; EEKHOF, Job; PONDAAG, Willem. Dynamic decompression of the lateral femoral cutaneous nerve to treat meralgia paresthetica: technique and results. **Journal of Neurosurgery**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2018.

MATSUMOTO, Brian. **Cell biological applications of confocal microscopy**. New York: Editora Elsevier, 2003.

MCCLOSKEY, Douglas I. Kinesthetic sensibility. **Physiological reviews**, v. 58, n. 4, p. 763-820, 1978.

MCLAIN, Robert F.; PICKAR, Joel G. Mechanoreceptor endings in human thoracic and lumbar facet joints. **Spine**, v. 23, n. 2, p. 168-173, 1998.

MIHALKO, William M. *et al.* Mechanoreceptors found in a posterior cruciate ligament from a well-functioning total knee arthroplasty retrieval. **The Journal of arthroplasty**, v. 26, n. 3, p. 504, 2011.

MINE, Takatomo *et al.* Innervation of nociceptors in the menisci of the knee joint: an immunohistochemical study. **Archives of orthopaedic and trauma surgery**, v. 120, n. 3-4, p. 201-204, 2000.

MIYASHITA, Toshiyuki. Confocal microscopy for intracellular co-localization of proteins. *In*: FU, Haiyan. **Protein-protein interactions: methods and applications**. Berlin: Editora Springer Science & Business Media, 2004. p. 399-409.

MORAES, Miguel *et al.* Histomorphometric evaluation of mechanoreceptors and free nerve endings in human lateral ankle ligaments. **Foot & ankle international**, v. 29, n. 1, p. 87-90, 2008.

MORAES, Miguel *et al.* The characteristics of the mechanoreceptors of the hip with arthrosis. **Journal of orthopaedic surgery and research**, v. 6, n. 1, p. 58-65, 2011.

NERI, Thomas *et al.* The anterolateral ligament: anatomic implications for its reconstruction. **The Knee**, v. 24, n. 5, p. 1083-1089, 2017.

NIESSEN, Martijn; VEEGER, DirkJan; JANSSEN, Thomas. Effect of body orientation on proprioception during active and passive motions. **American journal of physical medicine & rehabilitation**, v. 88, n. 12, p. 979-985, 2009.

OSHIMA, Takeshi *et al.* Ultrasonography imaging of the anterolateral ligament using real-time virtual sonography. **The Knee**, v. 23, n. 2, p. 198-202, 2016.

PARKER, Matthew; SMITH, Heather F. Anatomical variation in the anterolateral ligament of the knee and a new dissection technique for embalmed cadaveric specimens. **Anatomical science international**, v. 93, n. 2, p. 177-187, 2018.

PARVIZI, Javad. Nerve Endings. *In*: PARVIZI, Javad. **High Yield Orthopaedics E-Book**. New York: Editora Elsevier Health Sciences, 2010. p. 315-316.

PINHEIRO JR, J.A. **Análise dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres da banda anterior do ligamento glenoumeral inferior com imunofluorescência e microscopia confocal**. 2015. 62 F. Tese (Doutorado em Cirurgia). Departamento de Cirurgia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

POMAJZL, Ryan *et al.* A review of the anterolateral ligament of the knee: current knowledge regarding its incidence, anatomy, biomechanics, and surgical dissection. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 31, n. 3, p. 583-591, 2015.

PORRINO JR, Jack *et al.* The anterolateral ligament of the knee: MRI appearance, association with the Segond fracture, and historical perspective. **American Journal of Roentgenology**, v. 204, n. 2, p. 367-373, 2015.

POTU, Bhagath Kumar; SALEM, Abdel Halim; ABU-HIJLEH, Marwan. Morphology of anterolateral ligament of the knee: a cadaveric observation with clinical insight. **Advances in medicine**, v. 16, n. 1, p. 1-4, 2016.

PROSKE, Uwe; GANDEVIA, Simon. The proprioceptive senses: their roles in signaling body shape, body position and movement, and muscle force. **Physiological reviews**, v. 92, n. 4, p. 1651-1697, 2012.

RAUNEST, J.; SAGER, M.; BÜRGENER, E. Proprioception of the cruciate ligaments: receptor mapping in an animal model. **Archives of orthopaedic and trauma surgery**, v. 118, n. 3, p. 159-163, 1998.

REIN, Susanne *et al.* Immunohistochemical mapping of sensory nerve endings in the human triangular fibrocartilage complex. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 473, n. 10, p. 3245-3253, 2015.

REZANSOFF, Alex *et al.* Radiographic landmarks for surgical reconstruction of the anterolateral ligament of the knee. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 23, n. 11, p. 3196-3201, 2015.

RIBEIRO-DA-SILVA, A.; HÖKFELT, T. Neuroanatomical localisation of substance P in the CNS and sensory neurons. **Neuropeptides**, v. 34, n. 5, p. 256-271, 2000.

ROBERTSON, David; ISACKE, Clare. Multiple immunofluorescence labeling of formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *In: AL-MULLA, Fahd. **Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissues***. Totowa: Editora Humana Press, 2011. p. 69-77.

ROESSLER, Philip *et al.* Anatomic dissection of the anterolateral ligament (ALL) in paired fresh-frozen cadaveric knee joints. **Archives of orthopaedic and trauma surgery**, v. 137, n. 2, p. 249-255, 2017.

RÖNTGEN, Wilhelm Conrad. On a new kind of rays. **Science**, v. 3, n. 59, p. 227-231, 1896.

RUNGE, C. *et al.* The analgesic effect of a popliteal plexus blockade after total knee arthroplasty: A feasibility study. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 62, n. 8, p. 1127-1132, 2018.

SABZEVARI, Soheil *et al.* Anatomic and histological investigation of the anterolateral capsular complex in the fetal knee. **The American journal of sports medicine**, v. 45, n. 6, p. 1383-1387, 2017.

SCHULTZ, Robert *et al.* Mechanoreceptors in human cruciate ligaments. A histological study. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 66, n. 7, p. 1072-1076, 1984.

SCHUTTE, Michael *et al.* Neural anatomy of the human anterior cruciate ligament. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 69, n. 2, p. 243-247, 1987.

SEGOND, Paul. **Recherches cliniques et expérimentales sur les épanchements sanguins du genou par entorse**. Aux Bureaux du Progrès médical, 1879.

SHARMA, Sanjeev *et al.* Complications of femoral nerve block for total knee arthroplasty. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 468, n. 1, p. 135, 2010.

SHEA, Kevin *et al.* Anterolateral ligament of the knee shows variable anatomy in pediatric specimens. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 475, n. 6, p. 1583-1591, 2017.

SHIRAI, Chikashi *et al.* The pattern of distribution of PGP 9.5 and TNF-alpha immunoreactive sensory nerve fibers in the labrum and synovium of the human hip joint. **Neuroscience letters**, v. 450, n. 1, p. 18-22, 2009.

SOLOMONOW, M. Sensory-motor control of ligaments and associated neuromuscular disorders. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 16, n. 6, p. 549-567, 2006.

FARHAN, Sonia; SUDHAKARAN, Rathi; THILAK, Jai. Solving the mystery of the anterolateral ligament. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 11, n. 3, p. AC01, 2017.

SONNERY-COTTET, Bertrand *et al.* Arthroscopic identification of the anterolateral ligament of the knee. **Arthroscopy techniques**, v. 3, n. 3, p. e389-e392, 2014.

SONNERY-COTTET, Bertrand *et al.* Outcome of a combined anterior cruciate ligament and anterolateral ligament reconstruction technique with a minimum 2-year follow-up. **The**

American journal of sports medicine, v. 43, n. 7, p. 1598-1605, 2015a.

SONNERY-COTTET, Bertrand *et al.* The involvement of the anterolateral ligament in rotational control of the knee. **The American journal of sports medicine**, v. 44, n. 5, p. 1209-1214, 2016b.

SONNERY-COTTET, Bertrand *et al.* Anterolateral ligament reconstruction is associated with significantly reduced ACL graft rupture rates at a minimum follow-up of 2 years: a prospective comparative study of 502 patients from the SANTI study group. **The American journal of sports medicine**, v. 45, n. 7, p. 1547-1557, 2017.

SPARKS, D. The Brain's Sense of Movement. **Physiology & Behavior**, v. 3, n. 72, p. 449-451, 2001.

STIJAK, Lazar *et al.* Anatomic description of the anterolateral ligament of the knee. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 24, n. 7, p. 2083-2088, 2016.

SUTARIA, Rakhi *et al.* Localization of the lateral retinacular nerve for diagnostic and therapeutic nerve block for lateral knee pain: a cadaveric study. **PM&R**, v. 9, n. 2, p. 149-153, 2017.

TANEJA, Atul *et al.* MRI features of the anterolateral ligament of the knee. **Skeletal radiology**, v. 44, n. 3, p. 403-410, 2015.

THAUNAT, Mathieu *et al.* Reoperation rates after combined anterior cruciate ligament and anterolateral ligament reconstruction: a series of 548 patients from the SANTI Study Group with a minimum follow-up of 2 years. **The American journal of sports medicine**, v. 45, n. 11, p. 2569-2577, 2017.

TORO-IBARGUEN, Ainhoa Nekane *et al.* The anterolateral ligament: a cadaveric study in fetuses. **Clinical Anatomy**, v. 30, n. 5, p. 625-634, 2017.

TRAN, John *et al.* Anatomical study of the innervation of anterior knee joint capsule: Implication for image-guided intervention. **Regional anesthesia and pain medicine**, v. 43, n. 4, p. 407-414, 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ. Biblioteca Universitária. **Guia de normalização de trabalhos acadêmicos da Universidade Federal do Ceará**. Fortaleza, 2017.

VAN DER WATT, Leon *et al.* The structure and function of the anterolateral ligament of the knee: a systematic review. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 31, n. 3, p. 569-582, 2015.

VANGSNESS, Thomas *et al.* Neural anatomy of the glenohumeral ligaments, labrum, and subacromial bursa. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery**, v. 11, n. 2, p. 180-184, 1995.

VILENSKY, Joel *et al.* Histologic analysis of neural elements in the human sacroiliac joint. **Spine**, v. 27, n. 11, p. 1202-1207, 2002.

VINCENT, Jean Philippe *et al.* The anterolateral ligament of the human knee: an anatomic and histologic study. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 20, n. 1, p. 147-152, 2012.

VUNDELINCKX, Bart *et al.* Surgical indications and technique for anterior cruciate ligament reconstruction combined with lateral extra-articular tenodesis or anterolateral ligament reconstruction. **Clinics in sports medicine**, v. 36, n. 1, p. 135-153, 2017.

YAN, Jun; SASAKI, Wataru; HITOMI, Jiro. Anatomical study of the lateral collateral ligament and its circumference structures in the human knee joint. **Surgical and radiologic anatomy**, v. 32, n. 2, p. 99-106, 2010.

ZEIN, A. M. Step-by-Step Arthroscopic Assessment of the Anterolateral Ligament of the Knee Using Anatomic Landmarks. **Arthroscopy techniques**, v. 4, n. 6, p. e825-31, 2015.

ZENS, Martin *et al.* Length changes of the anterolateral ligament during passive knee motion: a human cadaveric study. **The American journal of sports medicine**, v. 43, n. 10, p. 2545-2552, 2015.

ZIMNY, Marilyn; SCHUTTE, Michael; DABEZIES, Eugene. Mechanoreceptors in the human anterior cruciate ligament. **The Anatomical Record**, v. 214, n. 2, p. 204-209, 1986.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CENTRO UNIVERSITÁRIO
CHRISTUS - UNICHRISTUS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres do ligamento anterolateral (LAL) do joelho com imunofluorescência e microscopia confocal

Pesquisador: DIEGO ARIEL DE LIMA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 78798617.5.0000.5049

Instituição Proponente: Instituto para o Desenvolvimento da Educação Ltda-IPADE/Faculdade

Patrocinador Principal: Financiamento Proprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.375.766

Apresentação do Projeto:

1. RESUMO:

O Ligamento anterolateral é um ligamento recentemente descrito na literatura médica, tendo uma suposta ação na estabilidade rotacional do joelho. O estudo dessa estrutura recém descoberta 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. Seis ligamentos anterolaterais do joelho, obtidos de cadáveres não reclamados na Perícia Forense do Ceará, serão cuidadosamente dissecadas para avaliação da morfologia dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres, buscando compreender a interação do sistema proprioceptivo e mecânico do joelho. Para imunohistoquímica será utilizado um marcador tipo PGP 9.5 (protein gene product) como anticorpo primário e Alexa Fluor 488 como anticorpo secundário, seguido de análise das lâminas por microscopia confocal de varredura a laser.

2. INTRODUÇÃO

Atualmente, tem-se dado muita atenção ao Ligamento Anterolateral do joelho (LAL)¹. O mesmo é uma estrutura ligamentar recentemente descrita na literatura médica².

Em 1879, Segond descreveu um padrão de fratura-avulsão na tibia proximal anterolateral como resultado de uma rotação interna forçada do joelho³. Posteriormente, tal fratura foi tida como sinal patognomônico da lesão do Ligamento Cruzado Anterior (LCA). Todavia, até 2013 não se sabia qual era a relação causal entre a “fratura de Segond” e o LCA⁴; 5.

Endereço: Rua João Adolfo Gurgel, 133

Bairro: xxx

CEP: 60.190-060

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3265-6668

Fax: (85)3265-6668

E-mail: fc@christus.com.br

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CENTRO UNIVERSITÁRIO
CHRISTUS - UNICHRISTUS



Continuação do Parecer: 2.375.766

Em 2013, os pesquisadores Claes e Johan Bellemans, do University Hospitals of Leuven, na Bélgica, “mapearam” uma estrutura ligamentar lateral na região do joelho. No ano seguinte, publicaram um artigo descrevendo o achado e denominando essa estrutura como Ligamento Anterolateral do joelho, tornando-se assim os primeiros a descreverem o LAL na literatura médica⁶. Tal estrutura mantém relação topográfica com a fratura descrita por Segond, o que levou a conclusão de que essa fratura é uma avulsão óssea do LAL, sendo um preditor para a instabilidade anterolateral do joelho⁶.

O LAL é descrito como uma estrutura triangular na topografia anterolateral do joelho e encontrado profundamente ao trato iliotibial⁷; ⁸. Mede entre 34 e 59mm de comprimento e cerca de 2mm de espessura no homem e 1mm na mulher⁹. Sua origem é perto do epicôndilo lateral no fêmur e inserção entre o tubérculo de Gerdy e a fibula, com uma expansão para o menisco lateral¹⁰ (Figura 1).

Muitos autores defendem que LAL contribui para a estabilidade do joelho, tendo uma ação sinérgica ao LCA, principalmente na estabilidade rotacional, clinicamente evidenciada pelo teste do pivot shift¹¹. Um fundamental exemplo da importância clínica de tal estrutura é o de pacientes com possível lesão combinada do LCA e do LAL que após a reconstrução isolada do LCA não evoluem bem, principalmente na falha da estabilidade rotatória¹²; ¹³; ¹⁴; ¹⁵.

Em média, o LCA tem 11mm de espessura¹⁶. Mesmo tendo apenas entre 10 a 20% da espessura do LCA, o LAL comporta-se como um estabilizador secundário rotacional, sendo o mecanismo de lesão do LAL combinado à lesão do LCA é semelhante ao mecanismo da lesão isolada do LCA¹; ¹³. De acordo com o que foi explanado, o principal objetivo da reconstrução conjunta do LCA e do LAL seria um maior controle rotacional e prevenção da re-ruptura do LCA¹; ¹¹; ¹⁵.

Com isso, podemos inferir que as melhores indicações da reconstrução conjunta seriam as condições clínicas que expressem maior instabilidade rotacional e maior risco de re-ruptura¹⁷; ¹⁸; ¹⁹.

Todavia, ainda são necessários mais estudos a respeito da real contribuição proprioceptiva e mecânica do LAL. Tal ligamento foi descoberto recentemente e carece de mais informações sobre suas características microscópicas.

Assim, um estudo dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres do ligamento anterolateral do joelho ajudaria e descrever melhor sua função na estabilidade do joelho e proporcionar um novo rumo nos estudos da biomecânica e nas indicações cirúrgicas da instabilidade do joelho.

Endereço: Rua João Adolfo Gurgel, 133
Bairro: xxx **CEP:** 60.190-060
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3265-6668 **Fax:** (85)3265-6668 **E-mail:** fc@fchristus.com.br

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CENTRO UNIVERSITÁRIO
CHRISTUS - UNICHRISTUS



Continuação do Parecer: 2.375.766

3. PERGUNTA DE PARTIDA: O LAL possui mecanorreceptores e terminações nervosas livres em sua estrutura microscópica?

4. HIPÓTESES: O LAL apresenta mecanorreceptores, como corpúsculo de Meissner e corpúsculo de Pacini e terminações nervosas livres, sendo importante para a propriocepção e estabilização anterolateral do joelho.

Objetivo da Pesquisa:

5. OBJETIVO

Identificar e avaliar a morfologia dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres do ligamento anterolateral do joelho utilizando o método de imunofluorescência sob microscopia confocal com varredura a laser e avaliar a densidade destes em diferentes níveis de profundidade.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

6.2.3 Benefícios

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

6.2.4 Riscos

Apesar de apenas cadáveres serem objetos do estudo, existe risco mínimo de eventual reclamação tardia do cadáver.

6.2.5 Redução dos Riscos

As amostras serão oriundas de cadáveres não reclamados após trinta dias sem contato de algum parente ou conhecido, conforme a Lei No 8.501 de 30 de novembro de 1992. Todavia, devido à possibilidade de uma reclamação tardia, apenas será ressecado o LAL, permanecendo o restante do cadáver inalterado e sob os cuidados da PEFOCE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

É de fundamental importância o conhecimento global do joelho, sua anatomia, estruturas ligamentares e terminações nervosas, para aprimoramento de técnicas cirúrgicas, funcionalidade e tratamento Traumato/Ortopédico. O Ligamento anterolateral foi recentemente descrito na literatura médica, tendo uma suposta ação na estabilidade rotacional do joelho. O estudo dessa estrutura permitirá conhecer as características e entendermos, funcionamento, e tratamento de forma adequado nos casos de ruptura do mesmo.

O estudo incluirá seis ligamentos anterolaterais do joelho, obtidos de cadáveres não reclamados na Perícia Forense do Ceará, serão cuidadosamente dissecadas para avaliação da morfologia dos

Endereço: Rua João Adolfo Gurgel, 133
 Bairro: xxx CEP: 60.190-060
 UF: CE Município: FORTALEZA
 Telefone: (85)3265-6668 Fax: (85)3265-6668 E-mail: fc@fchristus.com.br

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.375.766

Folha de Rosto	Folha_de_Rostol.pdf	19:51:24	LIMA	Aceito
----------------	---------------------	----------	------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 10 de Novembro de 2017

Assinado por:
OLGA VALE OLIVEIRA MACHADO
(Coordenador)

Endereço: Rua João Adolfo Gurgel, 133		CEP: 60.190-060
Bairro: xxx	Município: FORTALEZA	
UF: CE	Telefone: (85)3265-6668	Fax: (85)3265-6668
		E-mail: fc@fchristus.com.br

ANEXO B – AUTORIZAÇÃO LOCAL PARA DISSECAÇÃO DOS CADÁVERES



GOVERNO DO
ESTADO DO CEARÁ

Secretaria da Segurança Pública e Defesa Social
Perícia Forense Do Estado Do Ceará
PEFOCE
CENTRO DE ESTUDOS

AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL À REALIZAÇÃO DE PROJETO DE PESQUISA

Declaro, para fins de comprovação junto ao Comitê de Ética em Pesquisa que, a PERÍCIA FORENSE DO CEARÁ (PEFOCE), está ciente, autoriza e dispõe de toda infraestrutura necessária para realização da pesquisa intitulada “*Análise dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres do ligamento anterolateral do joelho com imunofluorescência e microscopia confocal*” a ser realizada pelo pesquisador Diego Ariel de Lima. Afirmamos que conhecemos seus objetivos e a metodologia que será desenvolvida, estando ciente de que o pesquisador não irá interferir no fluxo normal deste Serviço.

Fortaleza, 28 de julho de 2017.


 Victor Douglas Medeiros Alencar
 Dr. Médico Perito Legista
 COORDENADOR GERAL
 CENTRO DE ESTUDOS DA PEFOCE

ANEXO C – PROTOCOLO DE JEW MODIFICADO PARA PREPARO DAS PEÇAS PARA IMUNOFLOURESCÊNCIA

Especime nº. _____
 Idade _____ Sexo _____
 Origem Femoral:
 Inserção Tibial:
 Inserção Meniscal:
 Comprimento _____ Largura _____ Peso _____
 Data: ____ / ____ / ____

INSTRUÇÃO DE PREPARAÇÃO DO TECIDO:

Paraformaldeído e Sacarose:

Necessario para o preparo:

- Água destilada
- Paraformaldeído
- Agitador
- NaOH
- Gelo
- Tampão Sorensen TS(PBS)

0.1 M de paraformaldeído 4%:

Adicionar 40g de paraformaldeído em 400ml de água DD, dissolver com calor no agitador, clarear a solução com NaOH (2-4 gotas até clarear), filtrar e aumentar para 500 ml com água DD, resfriar com gelo, adicionar mais 500 ml de PBS 0.2 M para levar a solução a 1000 ml.

Solução de paraformaldeído 4%

Data do preparo: ____ / ____ / ____

Quantidade: _____

CÁLCULOS:

Necessario para o preparo:

- Água destilada
- Sacarose
- Agitador
- Tampão fosfato salino PBS 0.1M

Solução sacarose 20%:

Adicionar sacarose em 1000ml de PBS 0.1M.

Solução sacarose 20%

Data do preparo: ____ / ____ / ____

Quantidade: _____

CÁLCULOS:

PROCEDIMENTO COM O TECIDO

1. A orientação é importante, marcar sa regiões usando fios de sutura colorida.
2. Emergir o tecido em solução de paraformaldeído 4% em 0,1 M de tampão fosfato, pH 7.4, a 4°C por 24 a 48 horas.
3. Remover o tecido do fixador, lavar várias vezes usando sacarose 20% tampão fosfato-salino (TSF pH7.4), emergir o tecido em sacarose 20% TFS por cerca de 24-48 horas até o tecido afundar (isso vai crio-protoger o tecido).
4. Deixar o tecido em solução de sacarose 20% TSF e congelar a -70°C.

PECAS

Solução de paraformaldeído 4% em 0,1 M de tampão fosfato, pH 7.4

Data do preparo: ____ / ____ / ____

Quantidade: _____

CÁLCULOS:

PECAS

Solução sacarose 20% tampão fosfato-salino (PBF pH7.4)

Data do preparo: ____ / ____ / ____

Quantidade: _____

CÁLCULOS:

PROTOCOLO DA IMUNOFLOURESCENCIA

Necessario para o corte:

- Tissue tek
- Pap pen
- TSF
- TSF Tx
- Solucao de bloqueio
- PGP
- Alexa
- Agua destilada
- Vecta
- Laminulas
- Folha de aluminio
- Porta laminas

1. Aparar o excesso de Tissue-Tek de cada lado.
2. Circular o espécime de forma retangular ou quadrada com Pap-Pen.
3. Lavar o tecido com 0.1 M de solução PBS-Tx 3% 4 X 15min. OBS LAVAR ABUNDANTEMENTE
4. Incubação com solução de bloqueio sob temperatura ambiente por duas horas.
5. Lavar com PBS 0.1 M 4 X 15 min. OBS LAVAR ABUNDANTEMENTE
6. Inclinar a lamina para secar por 5 min. Incubação com anticorpo primário (PGP 9.5) durante a noite.
7. Lavar a lâmina com PBS 0.1 M 4 X 15 min.
8. Inclinar a lamina para secar por 5 min Incubação com anticorpo secundário (Alexa Fluor 488) 1.5 hora. Evitar exposição do procedimento a luz.
9. Lavar com PBS 0.1 M 2 X 15 min.
10. Lavar com PBS 0.05 M uma vez. (15 min)
11. Lavar com água destilada gelada uma vez. (15 min)
12. Cobrir as lâminas com protetor Vecta e laminula
13. Colocar a lâmina no porta-lâminas, e cobri-la com folha de alumínio sob congelamento de -70°.

CÁLCULOS PBS PARA LAVAGENS _____

No. de laminas: _____

(Considerar _____ em cada lamina)

TEMPO: _____

CÁLCULOS PBS - TX _____

No. de laminas: _____

(Considerar _____ em cada lamina)

TEMPO: _____

CÁLCULOS SOLUCAO DE BLOQUEIO _____

No. de laminas: _____

(Considerar _____ em cada lamina)

TEMPO: _____

CÁLCULOS PGP

No. de laminas: _____

(Considerar _____ em cada lamina)

TEMPO: _____

CÁLCULOS ALEXA

No. de laminas: _____

(Considerar _____ em cada lamina)

TEMPO: _____

ANEXO D – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA BRASILEIRA DE ORTOPEDIA

REV BRAS ORTOP. 2018;53(6):661-667



Review Article

Surgical indications for anterior cruciate ligament reconstruction combined with extra-articular lateral tenodesis or anterolateral ligament reconstruction[☆]



Diego Ariel de Lima^{a,b,*}, Camilo Partezani Helito^{c,d}, Fábio Roberto Alves de Lima^b, José Alberto Dias Leite^a

^a Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brazil

^b Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), Mossoró, RN, Brazil

^c Instituto de Ortopedia e Traumatologia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^d Hospital Sirio Libanês, São Paulo, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 April 2017

Accepted 8 June 2017

Keywords:

Anterior cruciate ligament reconstruction

Knee

Joint instability

ABSTRACT

Recently described in the medical literature, the anterolateral ligament of the knee is already considered an important stabilizer against the anterolateral tibial rotation, affecting the pivot shift in the failure of the anterior cruciate ligament and behaving as an important secondary rotational stabilizer. The mechanism of anterolateral ligament injury combined with anterior cruciate ligament injury is similar to the mechanism of anterior cruciate ligament injury alone. Thus, the main objective of the joint reconstruction of anterior cruciate ligament and anterolateral ligament would be increased rotational control and prevention of anterior cruciate ligament re-rupture. In view of this importance, the aim of the present study is to summarize the evidence on the main surgical indications described for anterior cruciate ligament reconstruction combined with lateral extra-articular tenodesis or anterolateral ligament reconstruction. A review of the literature was conducted in April 2017, through a search of the PubMed, MEDLINE, Cochrane, and Google Scholar databases, with no date limits. After reviewing the main articles in the subject, it was concluded that the main surgical indications described for anterior cruciate reconstruction combined with extra-articular lateral tenodesis or anterolateral ligament reconstruction are: anterior cruciate ligament revision, physical examination with pivotal shift grade 2 or 3, practice of sport with pivot mechanism and/or high level mechanism, ligament laxity and Second fracture; Secondly, the following may also be indications: chronic anterior cruciate ligament

[☆] Study conducted at Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brazil.

* Corresponding author.

E-mail: ariedelima.diego@gmail.com (D. Ariel de Lima).

<https://doi.org/10.1016/j.rboe.2018.09.007>

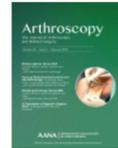
2255-4971/© 2018 Published by Elsevier Editora Ltda. on behalf of Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

ANEXO E – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA ARTHROSCOPY: THE JOURNAL OF ARTHROSCOPIC & RELATED SURGERY



Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery

Volume 35, Issue 2, February 2019, Pages 670-681



Systematic Review

Anatomy of the Anterolateral Ligament of the Knee: A Systematic Review

Diego Ariel de Lima M.D., M.S. ^a ✉, Camilo Partezani Helito M.D., Ph.D. ^{b, c}, Lana Lacerda de Lima M.D., M.S. ^d, Daniel de Castro Silva M.D. ^e, Maria Luzete Costa Cavalcante M.D., Ph.D. ^e, José Alberto Dias Leite M.D., Ph.D. ^e

▣ Show more

<https://doi.org/10.1016/j.arthro.2018.09.006>

[Get rights and content](#)

Purpose

To conduct a systematic literature review to search for studies on the anatomy of the anterolateral ligament (ALL) of the knee, presenting the most accepted findings, as well as the evolution of anatomic information on this structure.

Methods

We reviewed the PubMed, MEDLINE, and ClinicalKey databases for anatomic studies on the ALL, involving cadaveric, histologic, and biochemical dissection and/or anatomic imaging. The primary data researched were the presence of the ligament; measures of length, width, and thickness; ligament path; insertions; number of bands; histologic assessment; and innervation.

Results

We identified 53 studies. The ALL was found in 82.87% of adult dissections (more easily visualized in fresh cadavers), 74.07% of fetal dissections, and 84.80% of magnetic resonance imaging (MRI) studies. In 29 articles, the ALL was found in 100% of cases. There are 3 ALL insertion points: femoral, tibial, and meniscal. Histologic sections showed dense, well-organized collagen fibers, with an average of 121 fibroblasts/mm² in adults, in addition to the presence of vascular and nervous tissue. MRI was shown to be a good examination tool to visualize the ALL, primarily in the coronal plane and with T2-weighted images.

Conclusions

The ALL is a distinct structure in the anterolateral portion of the knee. It exhibits typical ligament characteristics and can be visualized on imaging examinations, especially MRI. It has a femoral attachment near the lateral epicondyle, with a trend in recent years showing it to be located posterior and proximal to it,

ANEXO E – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA ARTHROSCOPY: THE JOURNAL OF ARTHROSCOPIC & RELATED SURGERY

following an anteroinferior trajectory, with an insertion into the lateral meniscus and proximal tibia at the midpoint between the fibular head and Gerdy tubercle. Among the studies, the length of the ALL varied from 30.41 to 59.0 mm, the width ranged between 4.0 and 7.0 mm, and the thickness ranged between 1.0 and 2.0 mm.

Clinical Relevance

During the past few years, much controversy has been raised about the correct anatomy of the ALL. The main clinical relevance of this study is not only to end the discussion about the ALL's existence but also to clarify and synthesize the main evidence on the ALL's anatomy, mainly the currently most accepted attachments according to the recent literature, to enable more precise development of biomechanical settings and surgical techniques.

< Previous
Next >

Recommended articles
Citing articles (0)

See commentary on page 682.

The authors report that they have no conflicts of interest in the authorship and publication of this article. Full ICMJE author disclosure forms are available for this article online, as [supplementary material](#).

© 2018 by the Arthroscopy Association of North America

ELSEVIER [About ScienceDirect](#) [Remote access](#) [Shopping cart](#) [Advertise](#) [Contact and support](#) [Terms and conditions](#)
[Privacy policy](#)

We use cookies to help provide and enhance our service and tailor content and ads. By continuing you agree to the use of cookies.

Copyright © 2019 Elsevier B.V. or its licensors or contributors. ScienceDirect® is a registered trademark of Elsevier B.V.

 RELX™

ANEXO F – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA BMC MUSCULOSKELETAL DISORDERS

Ariel de Lima *et al.* *BMC Musculoskeletal Disorders* (2019) 20:142
<https://doi.org/10.1186/s12891-019-2517-0>

BMC Musculoskeletal
Disorders

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Anterolateral ligament of the knee: a step-by-step dissection



Diego Ariel de Lima^{1*}, Camilo Partezani Helito^{2,3}, Matthew Daggett⁴, Francisco Magalhães Monteiro Neto⁵, Lana Lacerda de Lima⁶, José Alberto Dias Leite⁵ and Maria Luzete Costa Cavalcante⁵

Abstract

Background: The number of studies and clinical interest in the anterolateral ligament of the knee (ALL) has grown in recent years. A meticulous and accurate ALL dissection is vital in anatomic and biomechanical studies, and a standardized technique is not yet established. As such, the aim of this study was to describe a step-by-step ALL dissection technique that could help authors consistently identify the ALL.

Methods: Twenty knees from frozen adult cadavers, with no preference for sex or age, were included in the study. All the cadavers were dissected using the same technique to determine the incidence of the ALL.

Results: A transverse incision is performed in the iliotibial band (ITB), around 10 cm proximal to the topography of the lateral epicondyle of the femur. Next, the ITB undergoes anterograde blunt dissection until its insertion at Gerdy's tubercle in the tibia. Maintaining biceps femoris insertion, a dissection is performed anteriorly to it, until the lateral collateral ligament (LCL) is found. Using the LCL, internal rotation and 30 to 60° flexion as references, the ALL can be located in the anterolateral topography of the knee, with its origin near the lateral epicondyle (proximal and posterior) and insertion between Gerdy's tubercle and the fibula (4.0 mm to 7.0 mm below the tibial plateau), expanding to the lateral meniscus (between the body and anterior horn), exhibiting a mean length of 4.0 ± 0.4 cm and mean width of 5.5 ± 0.8 mm.

Conclusions: The present article describes an effective and reproducible ALL dissection technique that made it was possible to identify the ligament in 100% of the cases in the present study.

Background

Since the studies conducted by Vicent *et al* [1], Claes *et al* [2], and Helito *et al* [3], the number of investigations and clinical interest in the anterolateral ligament of the knee (ALL) has risen in recent years [4, 5].

The ALL is a triangular structure in the anterolateral topography of the knee found in a plane of dissection deep in relation to the iliotibial band (Fig. 1). It measures between 34 and 59 mm long, 4.0 mm and 7.0 mm high and around 2 mm thick in men and 1 mm in women. It originates near the lateral epicondyle of the femur and is inserted between Gerdy's tubercle and the fibular head, expanding to the lateral meniscus [1–3, 6–9].

Despite ongoing controversy in the literature, the ALL apparently plays a role in anterolateral rotational stability

of the knee, acting synergically to the anterior cruciate ligament, affecting the pivot shift in failed ACL surgery [6, 10–13]. Given this probable role in stability, the meticulous study of the anatomy and biomechanics of this ligament is vital. For this to occur, it is important that the ALL be dissected efficiently.

As such, the aim of the present study was to describe a step-by-step ALL dissection technique that may contribute to other research on the ligament in question.

Methods

The study was approved by the Research Ethics Committee (CAAE: 78798617.5.0000.5049 - Brazil) and involved 20 knees from frozen adult cadavers, with no preference for sex or age. The cadavers were obtained from the Center for Forensic Studies of Ceará, Brazil (PEFOCE). The samples came from unclaimed cadavers after 30 days without contact from any relative or known, according to Local Law N° 8.501 of November 30, 1992.

* Correspondence: arieldelima.diego@gmail.com

¹UFERSA, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Av João da Escóssia, 1300, Mossoró, RN CEP: 59607-330, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article

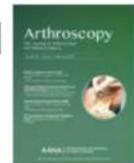


© The Author(s). 2019 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

ANEXO G – ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA
ARTHROSCOPY: THE JOURNAL OF ARTHROSCOPIC & RELATED SURGERY



Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related
Surgery



Date: May 10, 2019
To: "Diego Ariel de Lima" arieldelima.diego@gmail.com
From: "Arthroscopy Journal" dvannoy@wakehealth.edu
Subject: Your Submission (ARTH-18-1508R2)

Ref.: Mss. No. ARTH-18-1508R2
Study of the nerve endings and mechanoreceptors of the anterolateral ligament of the knee Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery

Dear Professor Diego Ariel de Lima,

Thank you for making the changes to your manuscript that we requested. Everything is satisfactory and I am pleased to inform you that it has been accepted for publication in Arthroscopy.

Please note that the production process often requires the best plans to change. Thus, we cannot give you a specific date of publication at this time.

Again, congratulations on the acceptance of your article.

Sincerely,

Deborah T. VanNoy

Managing Editor

Arthroscopy

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Remove my information/details). Please contact the publication office if you have any questions.

**ANEXO H – PRÊMIO CIENTÍFICO DE CATEGORIA ORAL NO 50º CONGRESSO
BRASILEIRO DE ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA**

