



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

**JONATAS BRITO DE ALENCAR NETO**

**ANÁLISE DOS MECANORRECEPTORES E TERMINAÇÕES NERVOSAS LIVRES  
DO LIGAMENTO MENISCOTIBIAL MEDIAL DO JOELHO COM  
IMUNOFLUORESCÊNCIA E MICROSCOPIA CONFOCAL**

**FORTALEZA**  
**2022**

JONATAS BRITO DE ALENCAR NETO

ANÁLISE DOS MECANORRECEPTORES E TERMINAÇÕES NERVOSAS LIVRES  
DO LIGAMENTO MENISCOTIBIAL MEDIAL DO JOELHO COM  
IMUNOFLUORESCÊNCIA E MICROSCOPIA CONFOCAL

Tese apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médico-Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas. **Área de concentração:** Metabolismo, Fisiologia e Biologia Celular no Estresse

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Luzete Costa Cavalcante.

FORTALEZA

2022

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)

---

- A353a Alencar Neto, Jonatas Brito de.  
Análise dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres do ligamento meniscotibial medial do joelho com imunofluorescência e microscopia confocal / Jonatas Brito de Alencar Neto. – 2022.  
85 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas, Fortaleza, 2022.  
Orientação: Profa. Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante.
1. Mecanorreceptores. 2. Terminações nervosas. 3. Ligamentos. I. Título.

CDD 617

---

JONATAS BRITO DE ALENCAR NETO

ANÁLISE DOS MECANORRECEPTORES E TERMINAÇÕES NERVOSAS LIVRES  
DO LIGAMENTO MENISCOTIBIAL MEDIAL DO JOELHO COM  
IMUNOFLUORESCÊNCIA E MICROSCOPIA CONFOCAL

Tese apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médico-Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas. **Área de concentração:** Metabolismo, Fisiologia e Biologia Celular no Estresse

Aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Luzete Costa Cavalcante (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

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

---

Prof. Dr. José Atualpa Pinheiro Júnior  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Lana Lacerda de Lima  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFRSA)

---

Prof. Dr. Camilo Partezani Helito  
Faculdade de Medicina da Univ. de São Paulo (FMUSP)

A Deus, pela vida.

Aos meus pais, Jonatas Brito de Alencar Neto e Maria de Fátima Bezerra de Alencar aos quais devo absolutamente tudo.

À minha esposa, Raíla, pela parceria e estímulo em todos os momentos.

À minha filha Júlia por me tornar uma pessoa cada vez melhor diariamente.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos Professores e todos os demais integrantes do Programa de Pós-Graduação na pessoa do coordenador professor Dr. José Alberto Dias Leite, por contribuírem com seus ensinamentos.

À Professora Doutora Maria Luzete Costa Cavalcante, por contribuir com seus ensinamentos e sua dedicação na orientação da tese servindo com fonte inspiradora contínua para minha jornada.

À Sra. Maria Luciene Vieira Oliveira, Secretária do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, pela amizade e apoio em todas as etapas.

Ao Professor Doutor Diego Ariel de Lima, por todo o suporte e ensinamento concebido durante a criação desta pesquisa.

Ao Doutor Fernando Antônio Mendes Façanha Filho, por sua contribuição, confiança e apoio em todas as etapas do desenvolvimento da tese.

Aos Acadêmicos Leonardo Miranda Lustosa e José Victor de Vasconcelos Coelho pela grande contribuição e dedicação ao desenvolvimento do trabalho.

À toda a equipe da CIHDOTT/IJF (Comissão Intra-Hospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante), por todo o apoio e ajuda durante toda minha pesquisa.

À Central Analítica/UFC, principalmente profa. Rosemayre Souza Freire e prof. Emílio de Castro Miguel, por contribuir como setor de Microscopia confocal na preparação das lâminas para estudo das densidades.

“Aquele que transmite conhecimento  
nunca morre” (Filipe Martins Alves  
Pereira).

## RESUMO

Os ligamentos meniscotibiais, também conhecidos como ligamentos coronários, são uma banda fibrosa que conecta periféricamente os meniscos à tibia. Atualmente, as lesões em rampa do menisco foram associadas à lesão concomitante dos ligamentos meniscotibiais, sendo causas de instabilidade em joelhos LCA-deficientes. O estudo dessa estrutura é fundamental para definirmos suas principais características e entendermos melhor seu funcionamento, para que possamos tratá-lo de forma adequada nos casos de ruptura do mesmo. Vinte ligamentos meniscotibiais mediais de joelho foram obtidos durante a doação de órgãos provenientes de 20 doadores de órgãos falecidos efetivados pela Comissão Intra-Hospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante (CIHDOTT) após confirmação de morte encefálica, todos adultos. Os ligamentos foram medidos, pesados e cortados. As seções de 10µm foram preparadas em lâminas coradas com hematoxilina-eosina (HE) para analisar a integridade tecidual e as seções 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 LMT medial foi identificado em 100% das dissecações, exibindo largura média de  $32,25 \pm 3,09$  mm, comprimento médio de  $7,07 \pm 1,34$  mm, espessura média de  $3,53 \pm 0,27$  mm e peso médio de  $0,6728 \pm 0,1346$ g. As seções 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 n.o classificadas, com formatos diversos e irregulares. Os elementos neurais foram encontrados a maioria próximo da inserção tibial do LMT medial. Dessa forma, concluiu-se que o LMT é uma estrutura ligamentar distinta no aspecto posteromedial do joelho e apresenta estrutura nervosa periférica, primariamente mecanorreceptores tipo I e IV. Tais achados levam a crer que o LMT medial apresenta importância para a propriocepção e estabilização anterior e posteromedial do joelho.

**Palavras-Chave:** 1. Mecanorreceptores. 2. Terminações Nervosas. 3. Ligamentos.

## ABSTRACT

The meniscotibial ligaments, also known as the coronary ligaments, are a fibrous band that peripherally connects the menisci to the tibia. Currently, as meniscus ramp deficiency, they have been associated with concomitant injury to the meniscotibial ligaments, being causes of instability in ACL-deficient patients. The study of this structure is essential to define its main characteristics and understand its best functioning, so that we can treat it according to the same cases of rupture. Male knee ligaments were obtained during organ donation sent from 20 deceased organ donors effected by the Intra-Hospital Commission for Organ and Tissue Donation for Transplantation (CIHDOTT) after brain death, all adults. The ligaments were medium, fast and cut. Sections of 1 were prepared with hematomas on stained slides (HE), to study 8  $\mu\text{m}$  scientific research lessons, and sections of 5 sessions of immunofluorescence with protein gene product (PGP), followed by microscopic analysis (Zeiss. LMS 710). The medial LMT was identified in 100% of dissections, exhibiting a mean width of  $32,25 \pm 3,09$  mm, mean length of  $7,07 \pm 1,34$  mm, mean thickness of  $3,53 \pm 0,27$  mm and average weight of  $0,6728 \pm 0,1346$ g. Histological sections in HE showed dense and well-organized collagen fibers, in addition to the presence of vascular tissue. In all receptors projected in parallel, type I (Ruffini-like) and type IV (nerve endings to parallel fibers) mechanoreceptors were identified, ranging from parallel fibers to coiled fibers. There were also several formats, with nerve endings and irregular. neural elements were all most close to the tibial insertion of the medial LMT. Thus, it was concluded that the LMT is a distinct ligament structure in the posteromedial aspect of the knee and presents a peripheral nervous structure, primarily type I and IV mechanoreceptors. Such findings lead us to believe that the medial LMT presents proprioception and anterior and posteromedial stabilization of the knee.

**Keywords:** 1. Mechanoreceptors. 2. Nerve endings. 3. Ligaments.

## LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Visão artroscópica por portal anterolateral de uma inspeção normal do menisco medial sem lesão dos ligamentos meniscotibiais .....	18
Figura 2	- Visão artroscópica por portal anterolateral de uma lesão dos ligamentos meniscotibiais mediais demonstrando elevação meniscal da tibia, demonstrando o sinal da ascensão meniscal (“ <i>nebuscal rise</i> ”) ou menisco flutuante (“ <i>floating meniscus</i> ”) ....	18
Figura 3	- Inserção meniscal e tibial do LMT .....	24
Figura 4	- Inserção meniscal e tibial do LMT corte de dissecação anatomia sagital .....	25
Figura 5	- Ultrassonografia demonstrando avulsão de um LMT medial ....	27
Figura 6	- Ressonância nuclear magnética, ponderada em T2, corte sagital demonstrando a anatomia do LMT medial .....	28
Figura 7	- Visão artroscópica por portal anterolateral pela visualização intercondilar de uma lesão em rampa demonstrando dissociação entre LMT medial e CPMM – lesão dos ligamentos meniscotibiais mediais .....	31
Figura 8	- Visão artroscópica por portal anterolateral pela visualização intercondilar de uma lesão dos ligamentos meniscotibiais (ramp lesion) mediais demonstrando sutura com gancho .....	32
Figura 9	- Visualização medial do joelho demonstrando marcação cutâneo do acesso para exérese dos LMT mediais .....	41
Figura 10	- Acesso para exérese dos LMT mediais. Primeira camada medial do joelho .....	42
Figura 11	- Acesso para exérese dos LMT mediais. Primeira camada medial do joelho. Agulhas demonstrando a posição exata da linha articular. Ligamento colateral medial entre as agulhas ....	42
Figura 12	- Acesso para exérese dos LMT mediais. 3ª. Camada medial do joelho. Ligamento colateral medial rebatido proximalmente, sendo possível visualização do menisco medial e ligamento	

	meniscotibial medial (ainda inserido) .....	43
Figura 13	- Acesso para exérese dos LMT mediais. 3ª. Camada medial do joelho. Inserção do LMT medial (rebatido proximalmente) .....	43
Figura 14	- Acesso para exérese dos LMT mediais. Desinserção do LMT medial do menisco medial e da sua inserção tibial .....	44
Figura 15	- Cristotato Leica 1850 programado para cortes com espessura de 50 micrometros .....	45
Figura 16	- Ligamento meniscotibial medial. Planejamento e organização espacial do corte .....	46
Figura 17	- Lâmina após o corte. Orientação espacial do corte representado na lâmina .....	46
Figura 18	- Medição do LMT medial com paquímetro .....	49
Tabela 1	- Média das dimensões dos ligamentos .....	50
Figura 19	- Lâmina na coloração Hematoxilina-Eosina (HE). 40x .....	51
Figura 20	- Mecanorreceptores em uma visão geral na microscopia confocal. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 (anticorpo primário) e Alexa Fluor 488 (anticorpo secundário). Barra 100 µm. Corte de 50 µm de espessura do LMT medial .....	52
Figura 21	- Mecanorreceptor Rufino-like segundo Freeman & Wyke (1967) microscopia confocal. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 (anticorpo primário) e Alexa Fluor 488 (anticorpo secundário). Barra 50 µm. Corte de 50µm de espessura do LMT medial .....	52
Figura 22	- Terminações nervosas livres identificada na microscopia confocal. Fibras nervosas paralelas. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 (anticorpo primário) e Alexa Fluor 488 (anticorpo secundário). Barra 50 µm. Corte de 50µm de espessura do LMT medial .....	53
Figura 23	- Nervo fibular na microscopia confocal. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 (anticorpo primário) e Alexa Fluor 488 (anticorpo secundário). Barra 100 µm. Corte de 50µm de espessura do nervo .....	53

Figura 24	- Vaso sanguíneo da transição meniscocapsular na microscopia confocal. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 (anticorpo primário) e Alexa Fluor 488 (anticorpo secundário). Barra 40 µm. Corte de 50µm de espessura .....	54
Figura 25	- Zonas de maior concentração de mecanorreceptores no LMT medial .....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µm	micrômetros
a.C	antes de Cristo
Apud	citado por
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CF	Côndilo femural
CIHDOTT	Comissão Intra-Hospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante
cm	centímetro(s)
CPMM	Corno posterior do menisco medial
Dr. / Dra.	Doutor / Doutora
<i>et al</i>	e outros
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
g	grama
h	horas
HE	Hematoxilina –Eosina
hz	hertz
IJF	Instituto Dr. José Frota
kDa	Dalton ( unidade de massa atômica)
LAL	Ligamento anterolateral
LCA	Ligamento cruzado anterior
LCL	Ligamento colateral lateral
LCM	Ligamento colateral medial
LCP	Ligamento cruzado posterior
LMP	Ligamentos
LMT	Ligamentos meniscotibiais do joelho
MCL	Microscópio confocal com varredura a laser
min	minutos
MM	Menisco medial
mm	milímetro(s)
Mpa	megapascal
N	Newton
p.	página

PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PGP	<i>Protein gene product</i>
Prof. / Profa.	Professor / Professora
RNM	Ressonância nuclear magnética
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Tubérculo de Gerdy
TTA	Translação tibial anterior
UCH-L1	Hidrolase-1 carboxil terminal ubiquitina
UFC	Universidade Federal do Ceará
UFRSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido
USG	Ultrassonografia

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	percentagem
+/-	mais ou menos
°	grau(s)
° C	grau(s) Celsius
®	marca registrada

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	20
2.1	Anatomia medial do joelho .....	20
2.2	Ligamento meniscotibial medial .....	23
2.2.1	<i>Presença do ligamento meniscotibial medial</i> .....	23
2.2.2	<i>Medidas do ligamento meniscotibial medial</i> .....	24
2.2.3	<i>Trajetos e inserções do ligamento meniscotibial medial</i> .....	24
2.2.4	<i>Histologia</i> .....	25
2.2.5	<i>Vascularização</i> .....	26
2.2.6	<i>Inervação</i> .....	26
2.2.7	<i>Ultrassonografia (USG)</i> .....	26
2.2.8	<i>Ressonância nuclear magnética (RNM)</i> .....	28
2.2.9	<i>Artroscopia</i> .....	29
2.2.10	<i>Biomecânica</i> .....	29
2.2.11	<i>Lesão</i> .....	29
2.3	Ramp Lesion .....	30
2.4	Propriocepção .....	32
2.4.1	<i>Neuroanatomia do joelho</i> .....	32
2.4.2	<i>Propriocepção do joelho</i> .....	33
2.5	Mecanorreceptores .....	34
2.5.1	<i>Terminações nervosas</i> .....	35
2.5.1.1	<i>Terminações nervosas encapsuladas</i> .....	35
2.5.1.1.1	Corpúsculo de Pacini .....	35
2.5.1.1.2	Corpúsculo de Meissner .....	36
2.5.1.1.3	Terminações de Ruffinni .....	36
2.5.1.2	<i>Terminações nervosas não encapsuladas</i> .....	37
2.5.1.2.1	Terminações de Merckel .....	37
2.6	Imunofluorescência .....	37
3	MATERIAL E MÉTODO .....	39
3.1	Aspectos Éticos .....	39
3.2	Caracterização da amostra .....	39

3.2.1	<b><i>Critérios de inclusão</i></b> .....	39
3.2.2	<b><i>Critérios de exclusão</i></b> .....	39
3.2.3	<b><i>Benefícios</i></b> .....	40
3.2.4	<b><i>Riscos</i></b> .....	40
3.2.5	<b><i>Redução dos riscos</i></b> .....	40
3.3	<b>Ambiente de experimentação da coleta de material</b> .....	40
3.4	<b>Metodologia</b> .....	40
3.4.1	<b><i>Aquisição das amostras de LMT</i></b> .....	40
3.4.2	<b><i>Secção criostática</i></b> .....	44
3.4.3	<b>Imunofluorescência</b> .....	47
3.4.4	<b><i>Microscópio confocal a laser</i></b> .....	47
3.5	<b>Análise estatística</b> .....	48
4	<b>RESULTADOS</b> .....	49
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	55
5.1	<b>Limitações</b> .....	61
5.2	<b>Perspectivas futuras</b> .....	63
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	64
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	65
	<b>ANEXO A – Parecer cosubstanciado do Comitê de Ética</b> .....	73
	<b>ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b> ....	76
	<b>ANEXO C – Carta de anuência do Centro Cirúrgico do Instituto Dr. José Frota</b> .....	79
	<b>ANEXO D – Carta de anuência da Comissão Intra-Hospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante (CIHDOTT)</b> .	80
	<b>ANEXO E – Protocolo de Jew Modificador para preparo das peças para imunofluorescência</b> .....	81

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, tem-se dado muita atenção aos ligamentos meniscotibiais (LMT) do joelho, também conhecidos como ligamentos coronários (SMITH *et al.*, 2020). Na literatura médica, os mesmos são estruturas ligamentares descritas por issecção anatômica desde 1914 (JEONG *et al.*, 2019) e reavaliadas artrograficamente em 1984 (E-KHOURY *et al.*, 1984a).

Na década de 80, os estudos anatômicos por meio de artrografia do joelho descreveram estruturas fibrosas que conectavam periféricamente os meniscos, principalmente o menisco medial à tibia (MEHL *et al.*, 2019). Posteriormente, tal lesão destas estruturas foi associada à causa de dor em joelho (MILLAR, 1991; LOUGHER; SOUTHGATE; HOLT, 2003). Entretanto, até 2011 não se sabia qual era a relação causal entre a lesão dos ligamentos coronários com a extrusão meniscal e a instabilidade do joelho (MARIANI, 2011; KRYCH *et al.*, 2019).

Em 2015, alguns pesquisadores do *Centre Albert Trillat*, na França, identificaram a importância dos ligamentos coronários na instabilidade do joelho, principalmente na instabilidade rotacional posteromedial (PELTIER *et al.*, 2015). Nos anos seguintes, diversos autores publicaram a relação dos LMT com a instabilidade anterolateral, bem como posterolateral (URBAN; PRETTERKLIEBER; PRETTERKLIEBER, 2019; AMAN *et al.*, 2019).

Tais estruturas mantêm relação topográfica com as lesões em rampa do menisco medial e a entidade conhecida como “menisco flutuante” (Bikkina *et al.*, 2005), o que estão implicados na falha ligamentar em reconstruções do Ligamento Cruzado Anterior (LCA), sendo um preditor na instabilidade residual do mesmo (DEPHILLIPO *et al.*, 2018b).

Os LMT são descritos como uma banda fibrosa que se origina na tibia e insere na porção inferior dos meniscos que têm funções principais de estabilizar e manter o menisco em sua posição sobre o platô tibial (PELTIER *et al.*, 2015; LAPRADE *et al.*, 2007). A porção profunda do ligamento colateral medial (LCM) contribui para o LMT na parte central do menisco medial (LIU *et al.*, 2010). Os LMT laterais são originários de uma camada mais profunda da terceira camada lateral do joelho, sendo inseridos milímetros abaixo da cartilagem articular tibial (LIU *et al.*, 2010).

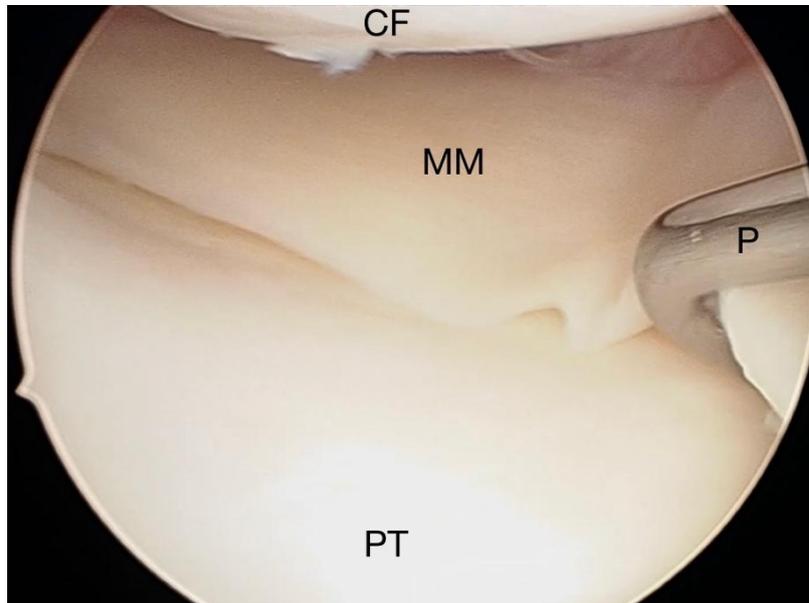
Muitos autores defendem que os LMT, principalmente os posteromediais, contribuem para a estabilidade do joelho, tendo uma ação sinérgica ao LCA, principalmente na estabilidade rotacional, translação anterior, rotação interna e externa, clinicamente evidenciada por testes rotacionais no exame físico (PELTIER *et al.*, 2015). Um fundamental exemplo da importância clínica de tal estrutura é o de pacientes com possível lesão combinada do LCA com lesão meniscal em rampa ou lesão associada dos LMT que após a reconstrução isolada do LCA evoluem com falha da estabilidade rotatória (KRYCH *et al.*, 2019; MEHL *et al.*, 2019; SMITH *et al.*, 2020).

Os LMT mediais possuem menor força de arrancamento comparado aos laterais, assim como suas porções anteriores são menos resistentes do que as posteriores (HAUCH; VILLEGAS; DONAHUE, 2010). Nos LMT anteromediais, foram encontrados resistência à ruptura de carga de 396.6N, suportando 7.7mm de alongamento máximo. Nos LMT anterolaterais o suporte máximo à ruptura é semelhante à uma carga de 454.3N e alongamento máximo 7mm (SEITZ *et al.*, 2012).

As lesões dos LMT podem ser investigadas por ressonância nuclear magnética (RNM) em ponderação T2 com corte sagital ou coronal evidenciando líquido de espessura maior que 3mm entre o menisco e o platô tibial é sugestivo de lesão dos LMT (BIKKINA *et al.*, 2005). Na artroscopia de joelho, deve-se realizar a inspeção submeniscal para identificar um menisco sem lesões (Figura 1) ou um “menisco flutuante”, também conhecido como “menisco ascendido”, o qual é sinal de lesão dos LMT (Figura 2) (SMITH *et al.*, 2020)

De acordo com o que foi explanado, o principal objetivo da reconstrução conjunta do LCA e do reparo meniscal ou dos LMT seria um maior controle rotacional e prevenção da rerruptura do LCA (BLACK *et al.*, 2018; MEHL *et al.*, 2019; SMITH *et al.*, 2020).

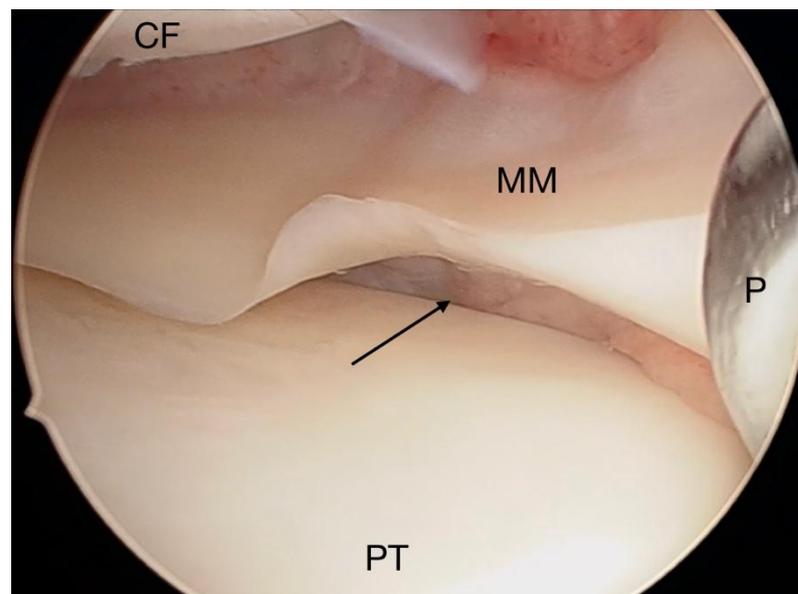
**Figura 1** – Visão artroscópica por portal anterolateral de uma inspeção normal do menisco medial sem lesão dos ligamentos meniscotibiais.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

CF: Côndilo Femural; P: Palpador; PT: Platô tibial; MM: Menisco Medial

**Figura 2** – Visão artroscópica por portal anterolateral de uma lesão dos ligamentos meniscotibiais mediais demonstrando elevação meniscal da tíbia, demonstrando o sinal da ascensão meniscal (“*meniscal rise*”) ou menisco flutuante (“*floating meniscus*”) – lesão dos ligamentos meniscotibiais mediais (*seta preta*).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

CF: Côndilo Femural; P: Palpador; PT: Platô tibial; MM: Menisco Medial

Com isso, a lesão dos LMT em conjunto com lesão do LCA deve ser reparadas concomitantes, prevenindo assim maior instabilidade rotacional residual e maior risco de re-ruptura (BUMBERGER *et al.*, 2020; NICOLAS *et al.*, 2020).

Entretanto, ainda são necessários mais estudos a respeito da real contribuição proprioceptiva e mecânica dos LMT. Tais ligamentos foram descobertos há bastante tempo, porém sua contribuição para a estabilidade rotacional do joelho foi estudada recentemente e carecem de mais informações sobre suas características microscópicas.

Assim, um estudo dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos ligamentos meniscotibiais 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 do reparo meniscal e instabilidade do joelho.

O objetivo deste trabalho é identificar e avaliar a morfologia dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos ligamentos meniscotibiais do joelho, utilizando o método de imunofluorescência sob microscopia confocal com varredura a laser e avaliar a densidade destes em diferentes níveis de profundidade.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 A anatomia medial do joelho

De acordo com Warren e Marshall, as estruturas no lado medial do joelho podem ser divididas em três camadas:

- A camada 1 é a mais superficial por ser o primeiro plano fascial encontrado após uma incisão na pele no lado medial do joelho. O plano é definido pela fásia que reveste o músculo sartório. O sartório insere-se nesta rede de fibras fasciais e não tem uma inserção distinta distalmente na tíbia. Posteriormente, uma camada de tecido adiposo fica entre a camada 1 e as estruturas mais profundas. Os tendões grácil e semitendinoso estão no plano entre as camadas 1 e 2. Mais posteriormente, a camada 1 é uma lâmina fascial que cobre as duas cabeças do gastrocnêmio e as estruturas da fossa poplíteia. Esta camada serve como suporte para os ventres musculares e neurovasculares. A camada 1 pode sempre ser separada das porções paralelas e oblíquas subjacentes do LCM superficial. Se for feita uma incisão vertical posterior às fibras paralelas do ligamento, a porção anterior da camada 1 pode ser refletida anteriormente para expor o LCM superficial. Aproximadamente 1 cm anterior ao LCM superficial, a camada 1 funde-se com a porção anterior da camada 2 e o retináculo patelar medial derivado do vasto medial. Anteriormente e distalmente a camada 1 une-se ao perióstio da tíbia (WARREN; MARSHALL, 1979; SCOTT *et al.*, 2018; CANALE; BEATY; AZAR, 2021).
- A camada 2 é o plano do LCM superficial. O LCM superficial, conforme descrito por Brantigan e Voshell, consiste em porções oblíquas. As fibras anteriores ou paralelas originam-se do sulco do epicôndilo medial do fêmur e consistem em fibras orientadas verticalmente, que correm distalmente. Esta inserção está inserida em média 4,6 cm inferior à superfície articular da tíbia e é imediatamente posterior à inserção da pata de ganso. As fibras oblíquas posteriores partem do epicôndilo medial e misturam-se com a camada 3 para formar a cápsula articular posteromedial. Anteriormente, de acordo com Warren e Marshall,

camada 2 divide-se verticalmente. As fibras anteriores à divisão seguem cefálicas ao vasto medial e unem-se ao plano da camada 1 para formar o retináculo parapatelar. As fibras posteriores ao ligamento dividem-se cefalicamente ao côndilo femoral, de onde saem fibras transversais que correm para frente no plano da camada 2 para a patela e formam o ligamento patelofemoral medial. Este LPMF conecta a patela ao côndilo femoral medial e limita passivamente excursão patelar lateral. De fato, em testes biomecânicos, foi identificada como a mais importante contenção de tecidos moles durante os primeiros 20 a 30 graus de flexão, quando a patela está em maior risco de luxação lateral, contribuindo entre 50 e 60% da força total. O LPMF estende-se desde sua ampla fixação patelar nos dois terços superomediais da patela, com fibras também aderidas à superfície inferior do vasto medial, para uma fixação muito mais estreita no lado medial do côndilo femoral que predispõe a lesão neste local. O local de fixação preciso no côndilo femoral medial é mais controverso, com uma série de estudos anatômicos e radiográficos debatidos. Lesões do LPMF e do retináculo medial que ocorrem durante luxação lateral da patela pode ser visualizada na rotina do joelho pela ressonância magnética (WARREN; MARSHALL, 1979; SCOTT *et al.*, 2018; CANALE; BEATY; AZAR, 2021).

- Na Camada 3, a cápsula articular do joelho pode ser separada da camada 2, exceto em direção à margem da patela, onde se torna muito fina. Profundamente ao LCM superficial, a camada 3 torna-se mais espessa e forma-se uma faixa de fibras curtas orientada verticalmente conhecida como LCM profundo. O LCM profundo se estende do fêmur até a porção média da margem periférica do menisco e da tíbia (WARREN; MARSHALL, 1979; SCOTT *et al.*, 2018; CANALE; BEATY; AZAR, 2021).

Anteriormente, o LCM profundo é claramente separado do LCM superficial e uma bursa é interposta, mas posteriormente as camadas se misturam porque a porção meniscofemoral do ligamento profundo tende a fundir-se com o ligamento superficial sobrejacente próximo ao seu fixação cefálica. No entanto, a porção

meniscotibial do LCM profundo é facilmente separado da camada superficial sobrejacente. Este ligamento é referido como o ligamento coronário ou ligamento meniscotibial medial. Componentes do LCM profundo são bem vistos em estudos de ressonância magnética. Imagens coronais fornecem visualização clara, mas as imagens axiais podem não ser tão elucidativas. As fibras ligamentares normais têm baixa intensidade do sinal. Com lesões parciais e completas, as fibras tornam-se menos distintas, e aumento do sinal nas imagens ponderadas em T2 pode ser identificado adjacentes ao LCM profundo como resultado de edema e sangramento (WARREN; MARSHALL, 1979; SCOTT *et al.*, 2018; CANALE; BEATY; AZAR, 2021).

A região posteromedial formada pela fusão das camadas 2 e 3 é reforçada por cinco inserções do tendão do semimembranoso e sua bainha. O semimembranoso tem uma inserção tendínea no canto posteromedial da tíbia e uma segunda inserção tibial profunda ao LCM superficial. Um terceiro trato se mistura com as fibras oblíquas do LCM superficial, e um quarto dobra de volta para inserir proximalmente na cápsula sobre o menisco medial. O quinto trato corre proximal e lateralmente através da cápsula posterior e forma o ligamento poplíteo oblíquo (de Winslow). No lado medial, as três camadas são mais obviamente separadas na região do LCM superficial. A outra porção cefálica da camada média, formada onde ela se divide anteriormente ao ligamento medial superficial, persiste como uma camada separada formando o ligamento femoropatelar. Anteriormente à camada profunda, embora separada, torna-se extremamente fina e difícil de definir. Posteriormente, a camada 1 torna-se a fáscia profunda, e as camadas 2 e 3 misturam-se para formar a cápsula articular (WARREN; MARSHALL, 1979; SCOTT *et al.*, 2018; CANALE; BEATY; AZAR, 2021).

O LCM superficial funciona como a principal restrição contra estresse em valgo, restrição à rotação externa da tíbia, e uma restrição fraca à translação tibial anterior em joelhos LCA-deficiente. As fibras paralelas anteriores do LCM superficial estão sob tensão da extensão total a 90 graus de flexão, mas tornam-se maximamente tensos em 45 a 90 graus de flexão. Durante a extensão, as fibras anteriores relaxam e as fibras posteriores tornam-se ensinadas (WARREN; MARSHALL, 1979; SCOTT *et al.*, 2018; CANALE; BEATY; AZAR, 2021).

Medidas de deformação no ligamento confirmam que diferentes áreas do LCM superficial experimentam forças diferentes, dependendo da carga em valgo e da articulação posição. O pico de tensão durante a carga em valgo parece ocorrer

numa posição totalmente estendida próxima à inserção femoral; esse achado explica a alta taxa de lesão clínica observada nesta porção do ligamento. As fibras oblíquas parecem desempenhar um papel mínimo na função geral do LCM superficial. O LCM profundo desempenha apenas um papel secundário fraco como estabilizador contra o estresse em valgo (WARREN; MARSHALL, 1979; SCOTT *et al.*, 2018; CANALE; BEATY; AZAR, 2021).

## **2.2 Ligamento meniscotibial medial**

Desde o trabalho de E-khoury *et al.* (1984), os estudos sobre o ligamento meniscotibial medial (ligamento coronário) passaram a ser mais estudados, principalmente após o estudo de Millar (1991) e Lougher; Southgate e Holt (2003), os quais associaram o estiramento dos ligamentos coronários à dor, intensificando-se os estudos sobre estes ligamentos.

Existem poucos estudos sobre Anatomia (E-Khoury *et al.*, 1984a; Labarre; Graveleau; Bouguennec, 2021; Laprade *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2010), Estrutura macroscópica (Liu *et al.*, 2010), Histologia (Cavaignac *et al.*, 2021; Sha *et al.*, 2017) e Biomecânica dos LMTs (BARWAR *et al.*, 2020; BUMBERGER *et al.*, 2020; KRYCH *et al.*, 2019; LABARRE; GRAVELEAU; BOUGUENNEC, 2021; NICOLAS *et al.*, 2020; SMITH *et al.*, 2020). Entretanto, nenhum sobre sua inervação e função na propriocepção do joelho.

### **2.2.1 Presença do ligamento meniscotibial medial**

Em um estudo de dissecação de 109 joelhos de cadáveres, Bezerra *et al.* (2007) identificaram 21 ligamentos meniscotibiais (23,53%). Neste estudo, quatro examinadores avaliaram a dissecação e presença. No mesmo ano, Laprade *et al.* durante o estudo da anatomia medial do joelho em 20 cadáveres identificou a presença dos LMTs em 100% das espécimes analisadas. Em 2010, Liu *et al.* dissecaram 10 cadáveres com o intuito de analisar a morfologia do ligamento colateral medial e identificaram a presença dos LMTs em todos os cadáveres dissecados. A falta de padronização de dissecação dos LMTs pode justificar a variação no resultado.

### 2.2.2 Medidas do ligamento meniscotibial medial

A maioria dos trabalhos demonstram um LMT com comprimento entre 19,0 mm e 12,0 mm. Sua largura média entre 7,0 mm e 9,0 mm.

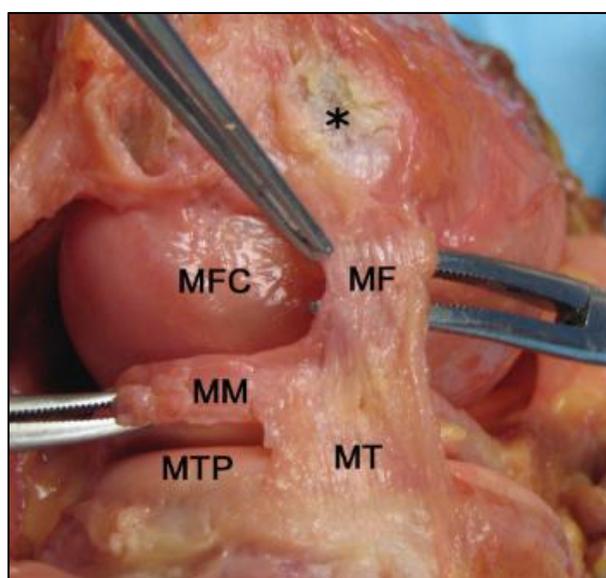
Segundo Liu *et al.* (2010), a porção distal profunda do LCM (LMT medial) é 1,7 vezes mais larga do que a porção proximal profunda do LCM (ligamento meniscofemural). Nesse mesmo estudo, verificou-se que o ligamento meniscofemural era 3 vezes maior do que o LMT medial.

### 2.2.3 Trajeto e inserções do ligamento meniscotibial medial

Os ligamentos meniscotibiais são bandas ligamentares curtas e confluentes que se fixam periféricamente ao corpo do menisco. Apresentam inserção meniscal, tibial e também compreendem o ligamento capsular medial, que representa uma porção da cápsula articular medial (BEZERRA *et al.*, 2007). As fibras do ligamento meniscotibial são, no entanto, difíceis de separar da cápsula adjacente e das fibras do ligamento colateral.

O ligamento meniscotibial medial é considerado a parte profunda do LCM consistindo numa porção mais curta e mais espessa e fixada distalmente à borda da cartilagem articular do planalto tibial medial (Figura 3) (LAPRADE *et al.*, 2007).

**Figura 3** – Inserção meniscal e tibial do LMT.

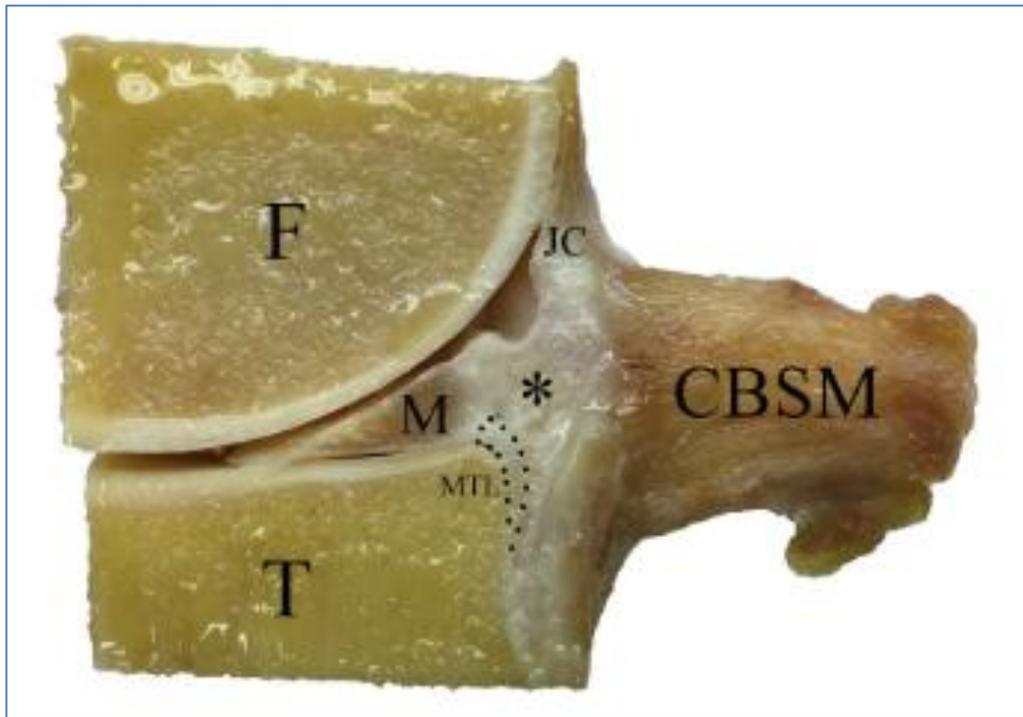


Fonte: Laprade *et al.*, 2007.

Segundo Laprade *et al.* (2007) a distância da inserção distal do LMT medial (inserção tibial) para a superfície articular é aproximadamente 6,5 mm.

Sua inserção proximal (meniscal) fica no terço médio do menisco medial (Figura 4) (CAVAIGNAC *et al.*, 2021).

**Figura 4** – Inserção meniscal e tibial do LMT corte de dissecação anatomia sagital.



Fonte: CAVAIGNAC *et al.*, 2021.

CBSM: Capsular branch of the semimembranosus; F: femur; JC: Joint capsule; M: Meniscus; MCL: Meniscocapsular ligament (dotted line); MTL: Meniscotibial ligament (dot-ted line); T: Tibia. \*: Adipose tissue.

A maioria dos autores cita o LMT medial como a parte distal do LCM profundo (Cavaignac *et al.*, 2021; Laprade *et al.*, 2007), sendo possível a diferenciação apenas a nível histológico.

### **2.2.4 Histologia**

As seções histológicas do LMT medial apresentam fibras colágenas densas e bem organizadas (predominantemente colágeno tipo I) com padrão da inserção meniscofemural (CAVAIGNAC *et al.*, 2021).

Di Francia *et al.* (2020) dissecaram 10 joelhos de cadáveres identificando a junção meniscosinovial (ligamento meniscotibial medial) como uma zona repleta de colágeno tipo I e bem vascularizada (DI FRANCIA *et al.*, 2020).

### **2.2.5 Vascularização**

A vascularização da parte medial do joelho dá-se pelas artérias geniculares mediais, principalmente a artéria genicular inferomedial ramo da artéria poplítea (WARREN; MARSHALL, 1979; SCOTT *et al.*, 2018; CANALE; BEATY; AZAR, 2021). Os LMTs mediais são inervados por ramos terminais desta artéria, bem como pelo tecido adiposo circunjacente ao redor do LCM profundo (CAVAIGNAC *et al.*, 2021).

### **2.2.6 Inervação**

Há na literatura poucos estudos que abordam a anatomia e, sobretudo, a inervação dos ligamentos meniscostibiais (DE ALENCAR NETO *et al.*, 2022). Em estudos de dissecação da parte medial do joelho, observa-se intrínseca relação entre os ligamentos meniscostibiais, ligamento colateral medial e menisco medial, sem pontos de clivagem entre estas estruturas (DEPHILLIPO *et al.*, 2019; E-KHOURY *et al.*, 1984b; LAPRADE; ENGBRETSSEN; STUDENT, 2007). Isto também pode ser observado no componente lateral do joelho (AMAN *et al.*, 2019).

Nenhum dos estudos citados descreve objetivamente a inervação dos ligamentos meniscostibiais, necessitando de mais estudos anatômicos dessas regiões (DE ALENCAR NETO *et al.*, 2022).

### **2.2.7 Ultrassonografia (USG)**

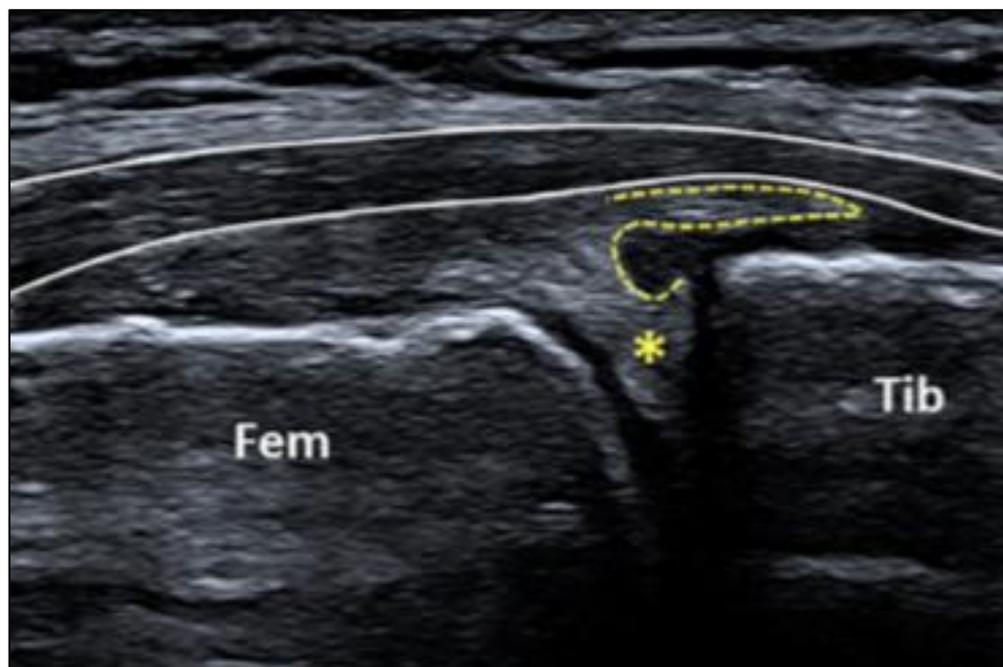
Com a melhora da qualidade nos aparelhos de ultrassom, atualmente consegue-se visualizar a anatomia profunda do LCM e MM, bem como a origem e inserção do LMT medial.

Ricci *et al.* (2022) descreveram em seu artigo de revisão como visualizar o LMT medial. A partir do menisco medial, e lentamente deslocando a sonda distalmente na visão de eixo longo, o ligamento meniscotibial pode ser visualizado

profundamente às fibras superficiais do LCM (Figura 5). Segundo este estudo, na dor medial pós-traumática do joelho, uma eventual lesão pode localizar-se no local de fixação proximal à borda inferior do MM, porção intermediária do ligamento e inserção distal do ligamento à cortical tibial, ou seja, o “coto flutuante” (Figura 5). Vale ressaltar que um sinal ultrassonográfico indireto de lesão do ligamento meniscotibial é a presença de derrame local elevando as fibras superficiais do LMT medial da tibia. Em alguns pacientes, lesões complexas envolvendo simultaneamente as inserções proximais e distais do ligamento podem ser identificadas.

Nakase *et al.* (2021) citaram uma técnica específica para detecção de lesões em rampa por ultrassonografia. Esta deve ser realizada com paciente em posição prona e joelho fletido a 70° com um assistente suportando o tornozelo do paciente. Existem dois tempos: com relaxamento muscular e com contração isométrica do gastrocnêmio.

**Figura 5** – Ultrassonografia demonstrando avulsão de um LMT medial.



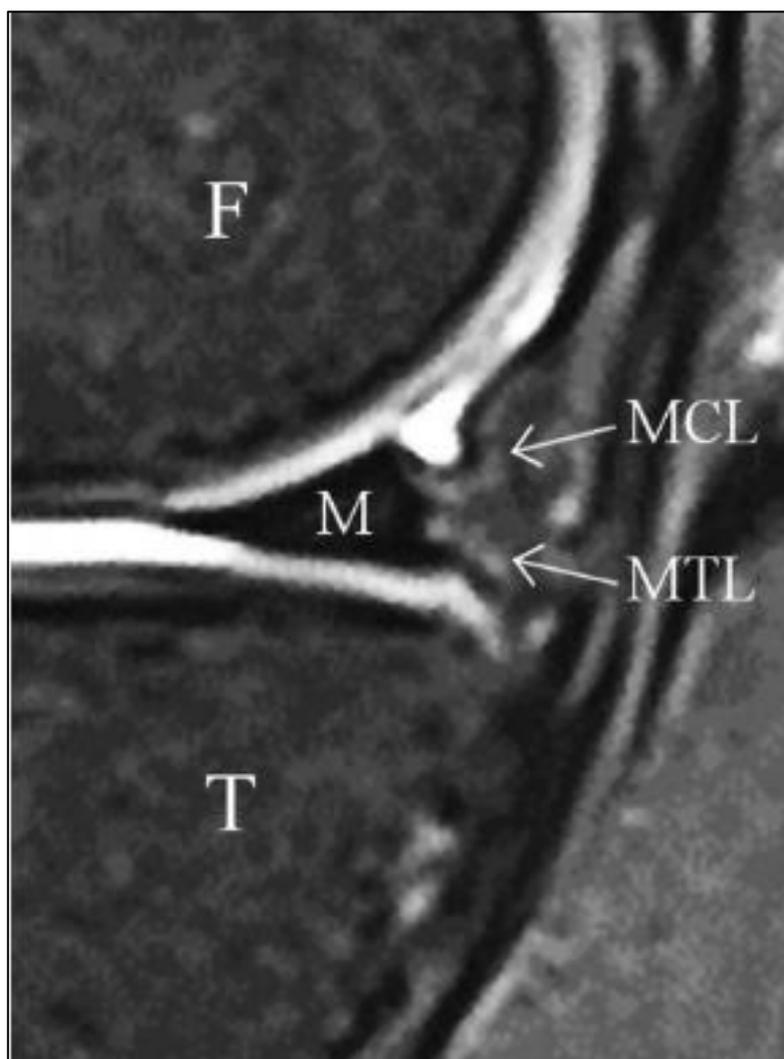
Fonte: RICCI *et al.*, 2022.

Fem: fêmur; Tib: tíbia; linha amarela tracejada: LMT medial; Asterisco amarelo: Menisco Medial.

### 2.2.8 Ressonância Nuclear Magnética (RNM)

Os ligamentos meniscostibiais podem ser visualizados em exames de ressonância magnética convencional, sobretudo no corte sagital ponderado em T2 com saturação de gordura (Figura 6) (CAVAIGNAC *et al.*, 2021).

**Figura 6** – Ressonância Nuclear Magnética, ponderada em T2, corte sagital demonstrando a anatomia do LMT medial.



Fonte: CAVAIGNAC *et al.*, 2021.

F: Fêmur; M: Meniscus; MCL: Meniscocapsular ligament; MTL: Meniscotibial ligament; T: Tíbia.

As lesões dos ligamentos meniscostibiais são de difícil visualização na RNM; deve ser considerada quando há presença de líquido perimeniscal ou o contorno externo do menisco for irregular (NOGUEIRA-BARBOSA, 2011; AMAN *et*

*al.*, 2019). A sensibilidade da RNM diminui quando há lesão de LCA associada à lesão dos ligamentos meniscotibiais (PELTIER *et al.*, 2015).

A RNM apresenta baixa sensibilidade (48%) para detecção de lesões em rampa/ligamentos meniscotibiais (DEPHILLIPO *et al.*, 2016).

### **2.2.9 Artroscopia**

A melhor forma para a avaliação dos ligamentos meniscotibiais por artroscopia é a visão do compartimento posteromedial, passando o artroscópio pelo sulco intercondilar e girando a ótica em 1:00 ou 11:00 a depender da lateralidade (NEGRÍN *et al.*, 2018a, 2018b; PELTIER *et al.*, 2015).

Na visão artroscópica anterior padrão sua visualização é difícil e, conseqüentemente, lesões ligamentares podem passar despercebidas (CAVAIGNAC *et al.*, 2021).

### **2.2.10 Biomecânica**

O ligamento meniscotibial tem inserção na região posterior da tíbia e se origina na face inferior do corno posterior do menisco medial, sendo fundamental para a estabilização rotatória do joelho (DEPHILLIPO *et al.*, 2018a).

Por se tratar de uma estrutura medial do joelho, participa da estabilização estática do joelho (estabilização primária em valgo, rotação externa e rotação interna). Participa, sobretudo, da estabilização em valgo do joelho a 60° graus de flexão (GRIFFITH *et al.*, 2009).

Ademais, os ligamentos meniscotibiais impedem a translação anterior da tíbia. Em estudos biomecânicos observou-se que a lesão destes ligamentos proporcionou aumento da rotação interna entre 30° e 90° e da rotação externa (DEPHILLIPO *et al.*, 2018a).

### **2.2.11 Lesão**

As rupturas do corno posterior do menisco medial são muito comuns em indivíduos com lesão do ligamento cruzado anterior. Neste contexto, está inserido a lesão dos ligamentos meniscotibiais (PELTIER *et al.*, 2015). Esta lesão é a causa

mais comum de dor em joelho em atletas de meia-idade (FRACP, 1991).

Por ter grande associação com a lesão do ligamento cruzado anterior, seu mecanismo de trauma é semelhante: joelho em flexão com rotação externa da tíbia (FRANCIA; NICOLAS; QUINTIN-ROU, 2020; MARIESWARAN *et al.*, 2018).

Embora os mecanismos precisos pelos quais essas lesões em rampa não são totalmente compreendidas, alguns estudos têm a hipótese de que a translação tibial anterior excessiva (TTA) e a contração do semimembranoso em resposta à lesão do LCA possivelmente causam uma lesão em rampa (ASAI *et al.*, 2021). Estudos biomecânicos mostraram que a TTA aumenta após a lesão do LCA, permitindo que o corno posterior do menisco medial fique preso entre os côndilos femorais e tibiais, agindo como uma cunha contra a tíbia, aumentando significativamente as forças no corno posterior do menisco medial (ASAI *et al.*, 2021; DEPHILLIPO *et al.*, 2019). O quadríceps e os isquiotibiais aplicam forças antagônicas à tíbia e desempenham um papel importante na estabilização do joelho. Portanto, o desequilíbrio da força dos músculos quadríceps e isquiotibiais potencialmente causam excesso de TTA (DEPHILLIPO *et al.*, 2019).

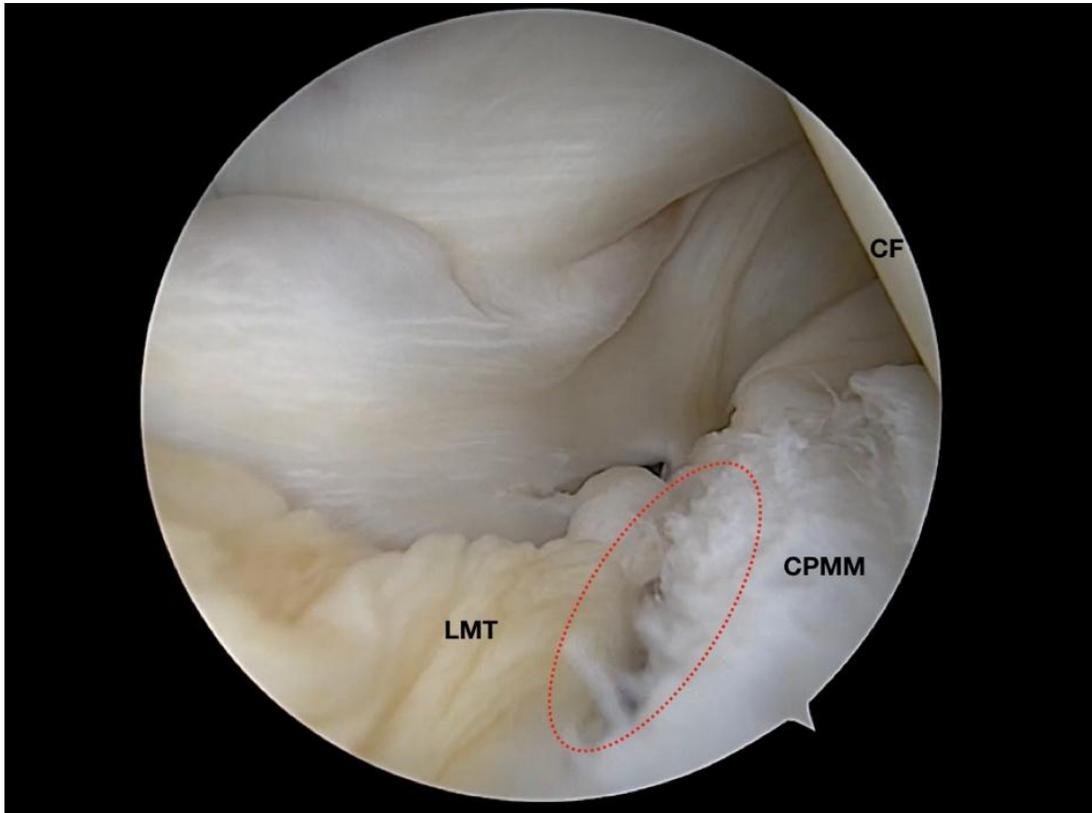
### **2.3 Ramp Lesion**

Caracteristicamente descrita como lesão do corno posterior do menisco medial, especificamente ruptura na junção meniscocapsular (DEPHILLIPO *et al.*, 2018a). Strobel, foi o primeiro autor a descrever esta lesão (Francia; Nicolas; Quintin-Rou, 2020) no ano de 2002.

Apresenta grande associação com a lesão do ligamento cruzado anterior, cerca de 9 a 17% dos casos (DEPHILLIPO *et al.*, 2018a). E, em outro estudo, entre 16 a 24% (FRANCIA; NICOLAS; QUINTIN-ROU, 2020). São lesões de difícil diagnóstico na RNM pré-operatória, enquanto sua prevalência pode chegar a 24% em artroscopias (FRANCIA; NICOLAS; QUINTIN-ROU, 2020).

Dessa forma, sua identificação e correção contribui para melhores resultados pós-operatórios no que concerne à estabilização do joelho com lesão de ligamento cruzado anterior (DEPHILLIPO *et al.*, 2018a); e prevenção de estresse excessivo no LCA, aumentando o risco de re-ruptura (Figura 7) (FRANCIA; NICOLAS; QUINTIN-ROU, 2020).

**Figura 7** – Visão artroscópica por portal anterolateral pela visualização intercondilar de uma lesão em rampa demonstrando dissociação entre LMT medial e CPMM – lesão dos ligamentos meniscotibiais mediais.

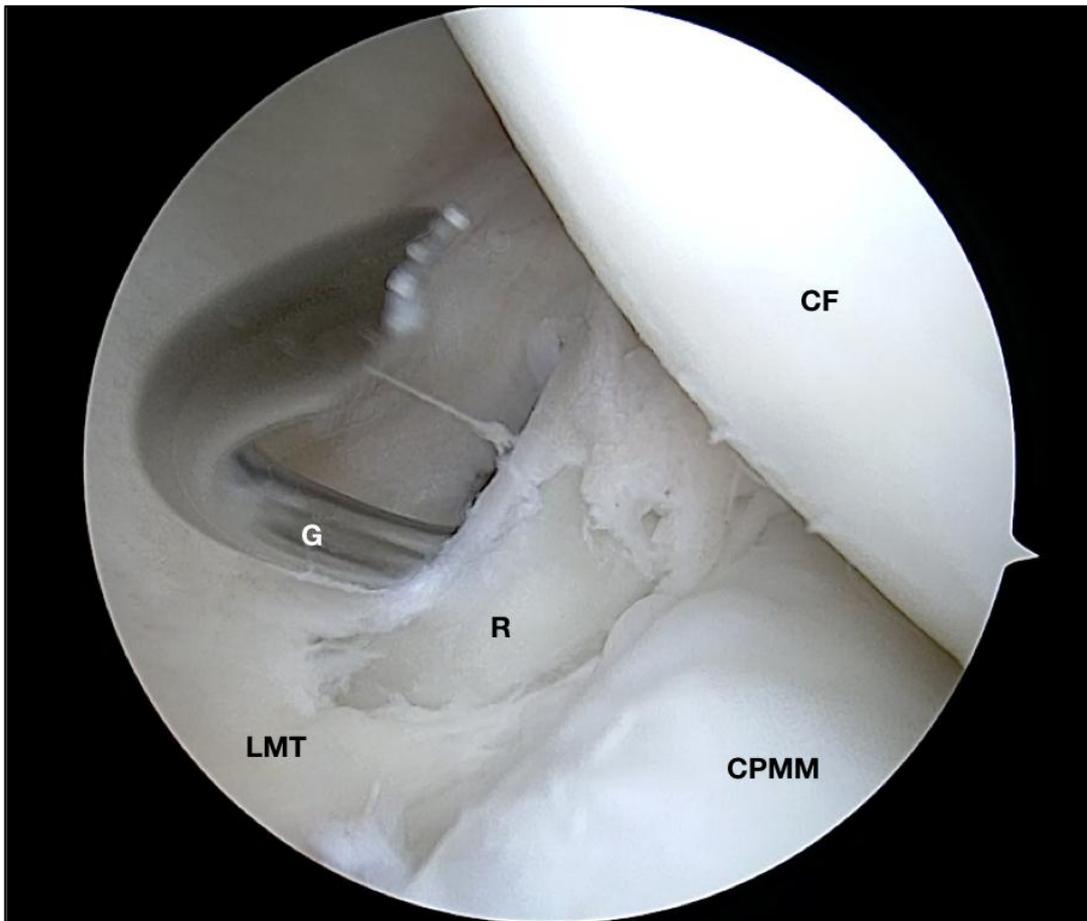


Fonte: Arquivo pessoal do autor.

CF: Côndilo femural; LMT: Ligamento menisco tibial; CPMM: Corno posterior do menisco medial; Linha vermelha tracejada: Lesão em rampa.

A sutura dessa estrutura é feita via artroscopia pelo portal posteromedial. Classicamente é realizada de dentro para fora com 4 a 6 suturas meniscais com o joelho a 90° de flexão (Dephillipo *et al.*, 2018a) ou com gancho (Figura 8) na técnica descrita por Sonnery-Cottet (THAUNAT *et al.*, 2016).

**Figura 8** – Visão artroscópica por portal posteromedial de uma lesão dos ligamentos meniscotibiais (ramp lesion) mediais demonstrando sutura com gancho.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

CF: Côndilo femural; G: Gancho; R: Ramp Lesion; CPMM: Corno posterior do menisco medial; LMT: Ligamento menisco tibial medial).

## 2.4 Propriocepção

### 2.4.1 Neuroanatomia do joelho

Apesar das variações individuais, a inervação articular do joelho humano é praticamente constante. Pode ser dividida em: inervação cutânea e inervação articular (DELLON, 1994; LIMA, 2019).

- A inervação cutânea é composta pelos ramos: nervo cutâneo femoral lateral, nervo cutâneo femoral anterior, nervo cutâneo medial da coxa, ramo infrapatelar do nervo safeno e nervo cutâneo femoral posterior (LIMA, 2019).

- A inervação articular é dividida em: tibiofemoral, patelofemoral e tibiofibular proximal. A inervação tibiofibular proximal é realizada pelos ramos geniculares recorrentes do nervo fibular comum (FRANCO *et al.*, 2015; LIMA, 2019). Já a Inervação tibiofemoral é formada pelos nervos retinocular lateral, retinocular medial, ramo terminal do vasto intermédio e plexo poplíteo do nervo ciático. A inervação articular patelofemoral é formada pelos nervos retinocular lateral, retinocular medial e ramo terminal do vasto intermédio (FRANCO *et al.*, 2015; LIMA, 2019).

#### **2.4.2 Propriocepção do joelho**

Tanto o plexo lombar quanto o sacral fornecem inervação para a extremidade inferior. O plexo sacral dá origem ao nervo ciático (L4 a S3), nervo femoral posterior (S1 a S3), nervo glúteo superior (L4 a S2) e nervo glúteo inferior. O nervo ciático inerva o semimembranoso, semitendinoso e adutor magno. Em seguida, divide-se no nervo tibial que inerva os flexores do joelho, extensores do tornozelo, flexores dos dedos dos pés e pele sobre a superfície posterior da perna. A outra metade dessa divisão é o nervo fibular comum que inerva a cabeça curta do bíceps femoral, fibular, tibial anterior, extensores dos dedos, a pele sobre a superfície anterior da perna e a superfície dorsal do pé. O nervo cutâneo femoral posterior fornece sensibilidade à pele do períneo e à superfície posterior da coxa. O nervo glúteo superior fornece função motora aos abdutores do quadril, enquanto o nervo glúteo inferior inerva o glúteo máximo.

O plexo lombar inerva os nervos femoral (L2 a L4), cutâneo femoral lateral (L2, L3), obturador (L2 a L4) e safeno (L2 a L4). O nervo femoral fornece inervação (sensação e motora) para a parte anterior da coxa. O nervo obturador sensibiliza a parte medial da coxa e a função motora aos adutores. Os nervos safeno e cutâneo femoral lateral são ambos estritamente sensitivos, inervando a face medial da perna e a lateral da coxa, respectivamente (SELECTION, 2012; SILVERMAN *et al.*, 2017).

Os nervos são como estruturas esbranquiçadas constituídas por feixes de fibras nervosas, reforçadas por tecido conjuntivo, que unem o sistema nervoso central aos órgãos periféricos. Sua função é conduzir, por meio de suas fibras, impulsos nervosos do sistema nervoso central para a periferia (impulsos eferentes) e da periferia para o sistema nervoso central (impulsos aferentes) (JÚNIOR, 2015).

As fibras nervosas, em sua parte periférica, modificam-se, dando origem a terminações nervosas. Estas podem ser de dois tipos: sensitivas ou aferentes e motoras ou eferentes. Os receptores sensitivos distinguem-se em: receptores especiais, que fazem parte dos chamados órgãos especiais como visão, audição, gustação, olfato e equilíbrio; e os receptores gerais, que respondem a diferentes estímulos como tato, temperatura, dor e postura corporal ou propriocepção. (JÚNIOR, 2015).

## 2.5 Mecanorreceptores

Os mecanorreceptores geram contração muscular reflexiva pelo arco neural de neurônios sensoriais no gânglio da raiz dorsal e podem converter as deformidades do tecido-tendão, ligamento ou articulação em sinais nervosos que são transmitidos ao sistema nervoso central. Os ligamentos e tendões com funções acima incluem principalmente ligamento cruzado anterior, ligamento cruzado posterior, ligamento colateral medial, ligamento colateral lateral (LCL), tendão patelar e tendão poplíteo (BIN; YU, 2020).

Os mecanorreceptores nos ligamentos contribuem como dispositivos proprioceptivos. São propícios à manutenção da estabilidade dinâmica e estática das articulações do joelho. A neuroanatomia dos mecanorreceptores é muito importante para interpretar o reflexo nervoso entre a articulação e os músculos, bem como para entender a perda proprioceptiva relacionada à ruptura do ligamento (BIN; YU, 2020).

A articulação do joelho apresenta inúmeros movimentos e a organização neuroanatômica adequada é fundamental para a estabilidade do joelho (SHA *et al.*, 2017) .

Freeman & Wyke descreveram a classificação para terminações articulares onde divide-se em quatro tipos: Tipo I: possuem morfologia globulares ou corpúsculo ovóide, localização nas cápsulas fibrosas, diâmetro das fibras entre 5-8  $\mu\text{m}$  (pouco mielinizadas), função principal de mecanorreceptor (baixo limiar, adaptação lenta) e são conhecidos como Ruffini, terminação de Golgi-Mazzoni ou Meissner; Tipo II: possuem morfologia cilíndricas ou corpúsculos cônicos, localização nas cápsulas fibrosas, diâmetro das fibras entre 8-12  $\mu\text{m}$  (intermediariamente mielinizadas), função principal de mecanorreceptor (baixo

limiar, adaptação rápida) e são conhecidos como Paccini, corpos de Golgi-Mazzoni ou Meissner; Tipo III: possuem morfologia fusiformes, localização nos ligamentos e tendões, diâmetro das fibras entre 13-17  $\mu\text{m}$  (muito mielinizadas), função principal de mecanorreceptor (alto limiar, adaptação muito lenta) e são conhecidos como terminações de Golgi e corpúsculo de Golgi-Mazzoni; Tipo IV: possuem morfologia de terminações nervosas livres não mielinizadas, localização variadas, diâmetro das fibras menores que dois micrômetros (não mielinizadas), função principal de receptores álgicos e são conhecidos como terminações nervosas livres (FREEMAN; WYKE, 1967).

### **2.5.1 Terminações nervosas**

As terminações nervosas periféricas são abundantes na pele, músculos e articulações. São divididas em: termorreceptores, sensíveis a mudanças térmicas; mecanorreceptores, que correspondem às deformidades físicas; fotorreceptores, responsáveis pelo estímulo visual da retina; quimiorreceptores, detectam cheiro, sabor, estímulos internos, como pH e concentrações metabólicas; e nociceptores, que são responsáveis pelo estímulo à dor (LIMA, 2019).

Ademais podem também ser divididas em encapsuladas ou não encapsuladas e por tempo de adaptação. Receptores de adaptação lenta são os que se modificam pouco em resposta ao estímulo, enquanto os receptores de adaptação rápida modificam-se muito (LIMA, 2019).

#### *2.5.1.1 Terminações nervosas encapsuladas*

##### **2.5.1.1.1 Corpúsculos de Pacini**

Corpúsculos de Pacini, também chamados de Vater-Pacini ou corpúsculos lamelares são mecanorreceptores de adaptação rápida que respondem a mudanças na pressão e vibração. São mais frequentemente localizados na derme profunda. Também são encontrados no tecido subcutâneo, coração, articulações e mesentério e tecido conjuntivo frouxo.

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 (STOJ *et al.*, 2021; LIMA, 2019). Nos corpúsculos de Pacini, o mecanorreceptor é cercado por bainhas semelhantes a cebolas formadas por células lamelares (NIKOLAEV *et al.*, 2020).

#### 2.5.1.1.2 Corpúsculos de Meissner

O corpúsculo de Meissner, um órgão final mecanosensorial, foi descoberto há mais de 165 anos e desde então foi encontrado na pele de todos os mamíferos, incluindo a das pontas dos dedos humanos. Embora destacado em livros, a função do corpúsculo de Meissner é desconhecida. Mediam respostas comportamental, percepção de forças suaves e tátil. Cada corpúsculo de Meissner é inervado por dois neurônios mecanossensoriais molecularmente distintos, mas fisiologicamente semelhantes. Esses dois subtipos neuronais são interdependentes no desenvolvimento e suas terminações estão entrelaçadas dentro do corpúsculo (NEUBARTH *et al.*, 2020; LIMA, 2019)

#### 2.5.1.1.3 Terminações de Ruffini

Particularmente, as terminações de Ruffini estão localizadas na derme. Apresentam capacidade de resposta ao estiramento da pele. São sensíveis às forças de cisalhamento que contêm a estática e forças de atrito durante a manipulação de objetos. Quanto maior a força de cisalhamento, maior a frequência de sinal de pico de estímulo as terminações de Ruffini.

Na cápsula articular, nos ligamentos e nos meniscos, as terminações de Ruffini, 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 (LI *et al.*, 2020; LIMA, 2019).

### 2.5.1.2 Terminações nervosas não encapsuladas

#### 2.5.1.2.1 Terminações de Merkel

São células pós-mitóticas que representam <5% do total de células da população da epiderme. A origem é ainda debatida se eles diferenciam de células epidérmicas semelhantes a queratinócitos ou emergem das células-tronco migradas de origem da crista neural. Parecem estar envolvidas na sensação tátil, percepção de tato e pressão (ABRAHAM; MATHEW, 2019).

## 2.6 Imunofluorescência

O PGP 9.5 policlonal é também conhecido como hidrolase-1 carboxil-terminal ubiquitina (UCH-L1), consiste numa proteína de 27 kDa originalmente isolada em extratos de cérebro total (Campbell *et al.*, 2003), que pode ser utilizado como anticorpo primário para coloração imuno-histoquímica, que permite a visualização de antígenos através da aplicação sequencial de um anticorpo específico (anticorpo primário) ao antígeno, um anticorpo secundário ao anticorpo primário, um complexo enzimático e substrato cromogênico. Inicialmente pensava-se que a expressão PGP 9.5 estava estritamente limitada aos neurônios e células neuroendócrinas, entretanto foi posteriormente descrita no epitélio tubular renal distal, espermatogonia, células de Leydig, oócitos, melanócitos, epitélio secretório da próstata, células de ductos ejaculatórios, epidídimo, células epiteliais mamárias, fibroblastos dérmicos e células de Merkel (BINCH *et al.*, 2015).

Jew *et al.* (2003) descreveram uma técnica confiável para examinar e rotular as estruturas neurais de tecidos moles de estruturas articulares e desenvolveu testes em punhos humanos. O protocolo desenvolvido empregou um processo imuno-histoquímico com um marcador neural (PGP 9.5) como anticorpo primário e o Alexa Fluor 488 como anticorpo secundário. As imagens foram feitas usando microscopia confocal de varredura a laser que produziu imagens detalhadas em três dimensões de terminações nervosas dos ligamentos do punho obtidos de cadáveres humanos (JEW *et al.*, 2003).

Lin *et al.* (2006) publicaram um estudo preliminar de terminações nervosas do ligamento radiocarpal dorsal da articulação de quatro punhos de dois

cadáveres frescos. Os tecidos foram fixados, seccionados em criostato e processados com imuno-histoquímica fluorescente usando o anticorpo primário PGP 9.5 e um anticorpo secundário Alexa flúor 488. As lâminas foram avaliadas com microscopia confocal laser e as imagens analisadas. As imagens foram mapeadas, medidas e categorizadas como tipo I (Ruffini), tipo III (Golgi) e tipo IV (terminações nervosas livres) (BUTLER *et al.*, 2007).

## **3 MATERIAL E MÉTODO**

### **3.1 Aspectos Éticos**

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

Foi colhido TCLE (Termo de Consentimento Livre Esclarecido) – ANEXO 1 em conjunto com a abordagem do termo aplicado pela CIHDOTT. Foi explicitado a completa dissociação entre a coleta para pesquisa e a coleta da doação de órgãos, deixando claro que a negação para a pesquisa nada implicou na coleta de órgãos.

O presente projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP), via Plataforma Brasil, do Instituto Dr. José Frota com o parecer CAAE 31316620.8.0000.5047 (ANEXO A).

### **3.2 Caracterização da amostra**

#### **3.2.1 Critérios de inclusão**

Foram incluídos no estudo 20 ligamentos meniscotibiais mediais do joelho, provenientes de 20 doadores de órgãos falecidos efetivados pela Comissão Intra-Hospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante (CIHDOTT) após confirmação de morte encefálica, todos adultos, sem preferência por sexo ou idade e após assinatura do TCLE (ANEXO 1) por representante legal.

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

#### **3.2.2 Critérios de exclusão**

Foram excluídos os participantes que apresentavam sinais de lesão traumática e degenerativa em qualquer compartimento do joelho que dificultem a dissecação do LMT e participantes esqueleticamente imaturos.

### **3.2.3 Benefícios**

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

### **3.2.4 Riscos**

Como risco, destacamos o comprometimento estético da pele presente na região do joelho devido a presença de fios de sutura em evidência.

### **3.2.5 Redução dos riscos**

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

## **3.3 Ambiente de experimentação da coleta de material**

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

## **3.4 Metodologia**

### **3.4.1 Aquisição das amostras de LMT**

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

Para coleta dos LMT mediais, foi realizada um método de dissecação próprio por uma incisão posteromedial ao joelho em formato de “L” com início da parte posterior do epicôndilo medial do fêmur em direção à borda posteromedial da tibial. Foram identificados os tendões do músculo sartório, semitendíneo e grácil (pata de ganso) os quais serão rebatidos distalmente. Foi realizada uma incisão

transversa ao LCM superficial, onde foi identificada a cápsula articular e os LMT medias - ponto onde é realizada a artrotomia submeniscal para visualização da redução de uma fratura articular (Figuras 9 a 14) (CHANG *et al.*, 2012; KANDEMIR; MACLEAN, 2014; LUO *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2020). Caso fosse preciso coleta dos LMT laterais, seria realizada uma incisão em “L” de início 2 cm acima da cabeça da fíbula cruzando o tubérculo de Gerdy (TG) em direção à margem lateral da crista tibial. O trato iliotibial seria seccionado longitudinalmente e destacado anteriormente e posteriormente do TG. Seria identificada a cápsula articular e os LMT laterais (BARCO *et al.*, 2016; SOLOMON *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2020).

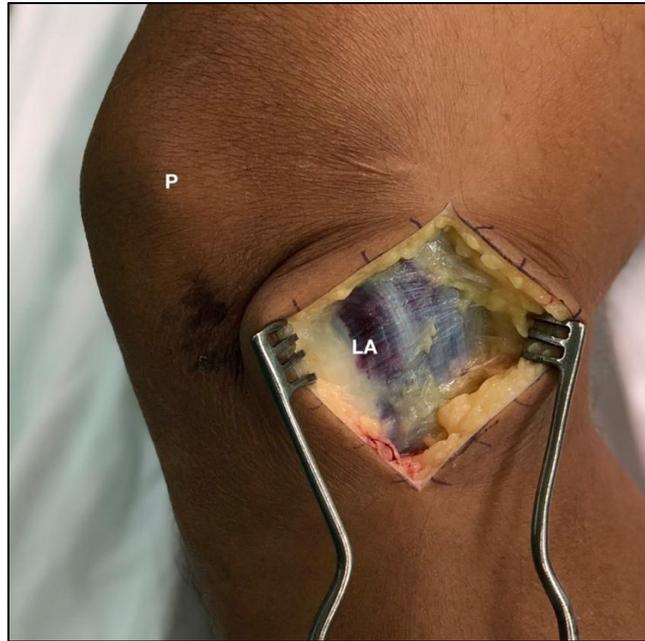
A seguir, foi realizada a medição dos ligamentos: medidas de pesos, em uma balança analítica eletrônica e medidas de comprimentos. Cada fragmento após isolado, ou foi preparado para secção criostática ou foi estocado a  $-70^{\circ}$  graus em 20% de sacarose para secção em outro momento.

**Figura 9** – Visualização medial do joelho demonstrando marcação cutânea do acesso para exérese dos LMT mediais.



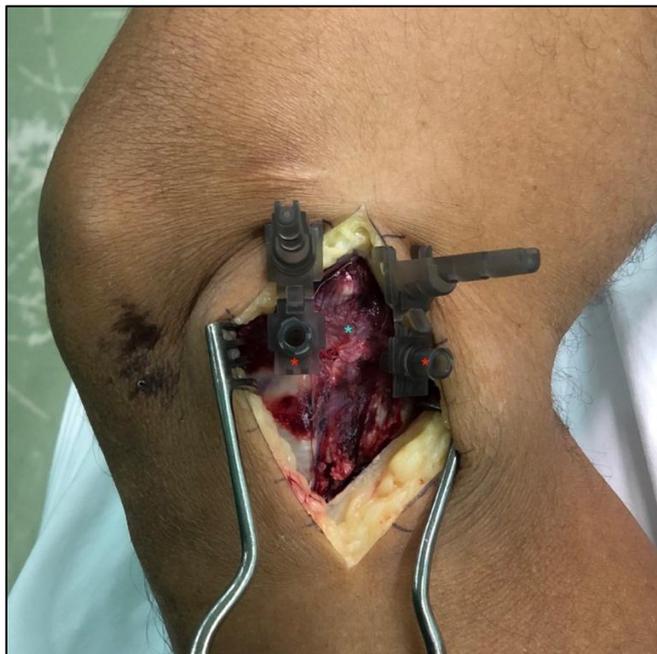
Fonte: Arquivo pessoal do autor.  
P: Patela; F: Fêmur; T: Tíbia; LA: Linha articular medial; Asterisco branco: Epicôndilo femoral medial.

**Figura 10** – Acesso para exérese dos LMT mediais. Primeira camada medial do joelho.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.  
P: Patela; LA: Linha articular.

**Figura 11** – Acesso para exérese dos LMT mediais. 2ª. camada medial do joelho. Agulhas demonstrando a posição exata da linha articular. Lig. colateral medial entre as agulhas.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.  
Asterisco azul: agulhas 25x7mm; Asterisco vermelho: Ligamento colateral medial.

**Figura 12** – Acesso para exérese dos LMT mediais. 3ª. camada medial do joelho. Lig. colateral medial rebatido proximalmente, sendo possível visualização do menisco medial e lig. meniscotibial medial (ainda inserido).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.  
 LCM: Lig. colateral medial; LMT: Lig. menisco tibial;  
 PM: Platô medial; MM: Menisco medial.

**Figura 13** – Acesso para exérese dos LMT mediais. 3ª. cam. medial do joelho. Inserção do LMT medial (rebatido proximalmente).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.  
 LMT: Lig. menisco tibial medial; MM: Cartilagem do  
 platô medial; PM: Platô medial; Asterisco vermelho:  
 Inserção tibial do LMT medial.

**Figura 14** – Acesso para exérese dos LMT mediais. Desinserção do LMT medial do menisco medial e da sua inserção tibial.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

CFM: Côndilo femoral medial; LMT: Ligamento menisco tibial; C: Cartilagem; IT: Inserção tibial do LMT medial; PM: Platô medial.

### **3.4.2 Secção criostática**

Os fragmentos foram mensurados e pesados, observando-se seus respectivos comprimentos e pesos. Em seguida, foram preparadas as bases de suporte da amostra, usando o gel *tissue-tek* e colocados no criostato até o gel atingir consistência sólida, para então os fragmentos serem posicionados sobre as bases e depois serem envolvidos com o mesmo gel, garantindo a aderência do fragmento a superfície do suporte para melhor secção criostática. Em seguida, ainda antes da secção, foi colocado uma lâmina de vidro com peso sobre a amostra contendo o fragmento, envolvido com gel *tissue-tek*, com o objetivo de aplainar a área de corte. As secções foram realizadas usando o criostato Leica CM 1850®. Os fragmentos foram seccionados em 50 micrômetros com orientação do corte longitudinal sendo inicialmente da parte proximal para parte distal (Figuras 15-17). Os cortes foram feitos e colocados na lâmina Immunoslides®, previamente

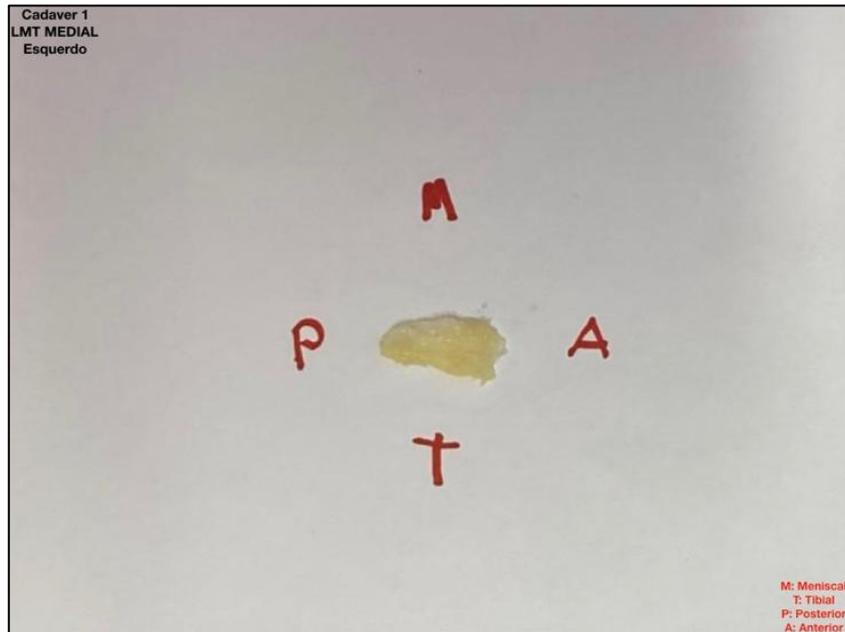
identificadas com o número do paciente e a numeração da sequência de cortes. As lâminas foram arquivadas em caixa própria em congelador a temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$  até o momento da coloração (RENÒ; RIZZI; CANNAS, 2012; RYZHAVSKII; ZADVORNAYA, 2013; SECTIONS; SPECIMENS, 2013).

**Figura 15** – Cristotato Leica 1850 programado para cortes com espessura de 50 micrometros



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

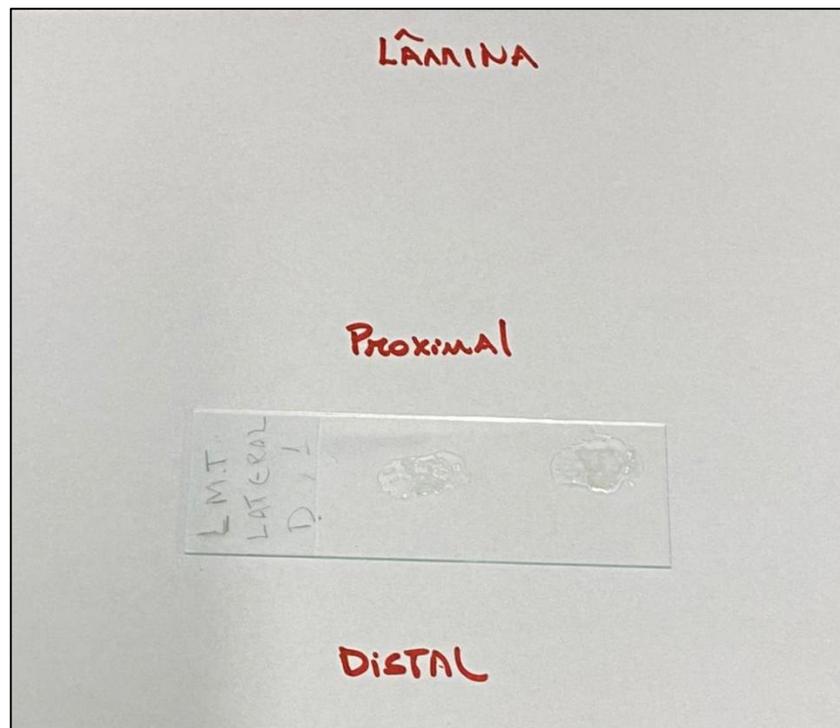
**Figura 16** – Ligamento meniscotibial medial. Planejamento e organização espacial do corte.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

M: inserção meniscal do LMT medial; T: Inserção tibial do LMT medial; A: parte anterior do LMT medial; parte posterior do LMT medial.

**Figura 17** – Lâmina após o corte. Orientação espacial do corte representando na lâmina.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

### **3.4.3 Imunofluorescência**

Nas lâminas os tecidos seccionados foram circulares com caneta hidrofóbica PAP PEN®, formando uma barreira para que as soluções que foram colocadas não dispersarem durante o método. As lâminas foram guardadas em uma caixa úmida pra minimizar a evaporação das soluções.

As lâminas foram lavadas 4 vezes por 15 min cada, com solução de 0,1M PBS (*phosphate buffered saline*) contendo 3% de Triton (Tx-100) seguido de incubação, por 2 horas em temperatura ambiente, com solução de bloqueio contendo 4% de soro normal, albumina de soro bovino, 0,1M PBS e Tx-100. Os tecidos foram então lavados por quatro vezes, com duração de 15 minutos cada, com 0,1M PBS e depois foram incubados com anticorpo primário durante 18h a 20h, a 4º graus de temperatura. O anticorpo primário usado foi a antiproteína PGP 9.5, diluído a uma concentração de 1:500 em solução contendo 0,5% Tx-100 em 0,1M PBS.

Após a incubação com o anticorpo primário, os tecidos foram lavados novamente quatro vezes por 15 min cada com 0,1M PBS, em seguida foram incubados, no escuro, por 1h30min. em temperatura ambiente com o anticorpo secundário, marcador fluorescente Alexa Flúor 488 diluído a uma concentração de 1:200 nas mesmas soluções utilizadas para o anticorpo primário.

Após o período acima, ao abrigo da luz, foram realizadas as últimas quatro lavagens, utilizando a seguinte sequência: duas vezes com 0,1M PBS por 10 min, uma vez com 0,05M PBS por 10 min e uma vez com água destilada. Por fim, as lâminas com os tecidos corados foram cobertas com lamínulas, utilizando *fluoromount*, um líquido claro utilizado para montagem de lamínulas.

Após esta etapa, as lâminas foram armazenadas a temperatura de -70° C, para posterior análise com microscopia confocal com varredura a laser (MCL).

### **3.4.4 Microscópio confocal a laser (MCL)**

As secções preparadas com imunofluorescência foram examinadas com microscópio confocal a laser equipado com epifluorescência (Zeiss® LSM 710). As secções foram vistas primeiro com epifluorescência, usando um filtro de excitação (492-630nm) para emissão de feixe (520-525) Duolexis – flúor 488. Cada secção

foi examinada no aumento de 10 vezes para orientação dos tecidos e mapeamento das estruturas. Quando identificadas, foram utilizadas objetivas de 20 vezes e de 40 vezes para ver detalhes (LIMA *et al.*, 2019).

### **3.5 Análise estatística**

Foram utilizadas a média e o desvio padrão para mensurar as dimensões dos ligamentos: comprimentos, largura e espessura dos LMT do joelho após a coleta.

Utilizamos para descrever os mecanorreceptores dos LMT mediais e laterais uma avaliação qualitativa, onde procuraremos relacionar o objeto de estudo com a realidade conhecida da biomecânica do joelho.

## 4 RESULTADOS

A média de idade dos cadáveres foi de  $40,5 \pm 15,4$  anos, sendo 16 do sexo masculino e 4 do feminino (Figura 18). O LMT medial foi identificado em 100% das dissecações, apresentando comprimento médio de  $7,07 \pm 1,34$  mm, largura média de  $32,25 \pm 3,09$  mm, espessura média  $3,53 \pm 0,27$  mm e peso médio de  $0,6728 \pm 0,1346$  g (Tabela 1).

**Figura 18** – Medição do LMT medial com paquímetro.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

**Tabela 1** - Média das dimensões dos ligamentos.

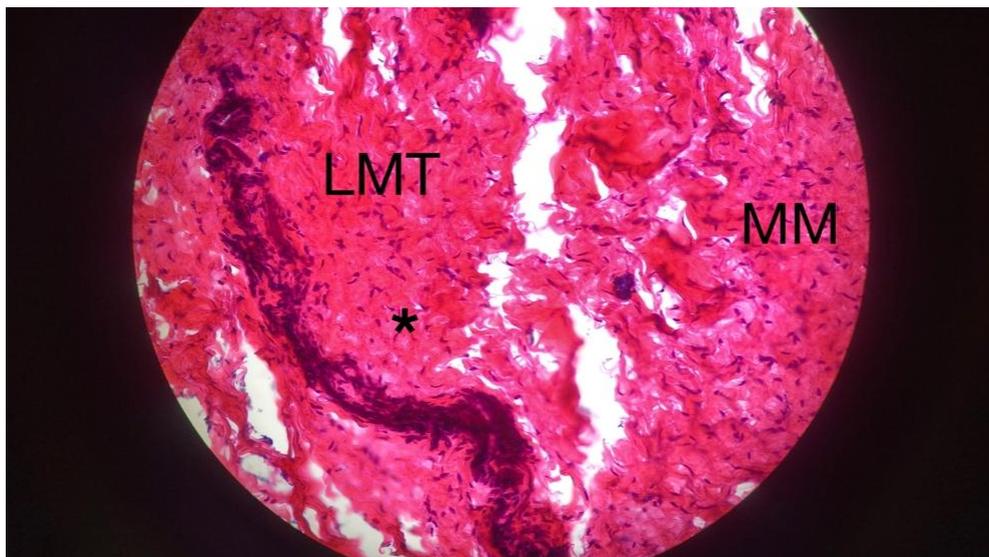
<b>Ligamentos</b>	<b>Largura (mm)</b>	<b>Comprimento (mm)</b>	<b>Espessura (mm)</b>	<b>Peso (g)</b>
1	30,00	8,30	3,5	0,68
2	31,40	8,00	3,9	0,81
3	29,00	9,00	3,8	0,67
4	36,50	4,50	3,5	0,74
5	35,00	7,00	3,7	0,65
6	33,50	8,00	3,8	0,73
7	35,00	6,30	3,6	0,42
8	39,50	7,90	3,9	0,90
9	33,00	4,50	3,2	0,59
10	31,50	6,50	3,5	0,81
11	29,50	7,00	3,3	0,74
12	37,00	5,00	3,8	0,83
13	34,50	9,43	3,2	0,77
14	30,50	8,00	3,1	0,57
15	29,50	6,50	3,2	0,52
16	29,00	7,50	3,2	0,47
17	29,50	6,00	3,3	0,46
18	30,00	7,50	3,5	0,56
19	29,50	7,00	3,8	0,68
20	31,70	7,50	3,9	0,76
<b>MÉDIA</b>	<b>32,25 ± 3,09</b>	<b>7,07 ± 1,34</b>	<b>3,53 ± 0,27</b>	<b>0,67±0,13</b>

mm: milímetro; g: gramas

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Em todos os casos o LMT medial apresentou uma origem meniscal e inserção distal na região medial da tibia. A origem meniscal apresentava-se profundamente ao LCM profundo em todos os casos. Também em todos os casos, a inserção tibial apresentava-se profundamente ao LCM superficial. A inserção tibial era em média  $5,75 \pm 0,9$  mm abaixo da cartilagem do platô medial. As secções histológicas em HE evidenciaram fibras colágenas densas e bem organizadas, típico de estrutura ligamentar, além da presença de tecido vascular (Figura 19).

**Figura 19** – Lâmina na coloração Hematoxilina-Eosina (HE). 40x.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

LMT: Ligamento meniscotibial medial; MM: Menisco medial; Asterisco: transição capsulomeniscal.

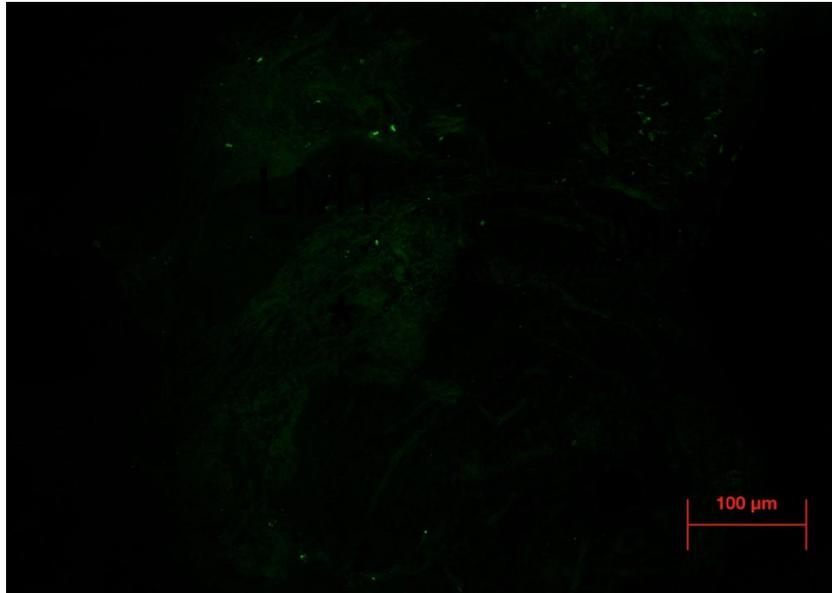
Em todos os 20 espécimes analisados com imunofluorescência, foram identificados mecanorreceptores (Figura 20). Em todos os espécimes foram identificados mecanorreceptor Ruffini-like (tipo I) (Figura 21), com diâmetros entre 40 e 60  $\mu\text{m}$  e comprimentos entre 95 e 190  $\mu\text{m}$ , e terminações nervosas livres (tipo IV), com fibras apresentando espessura entre 1 e 3  $\mu\text{m}$  com predominância de fibras paralelas (Figura 22). Foram encontradas ainda terminações nervosas não classificadas, com formatos diversos e irregulares.

As fibras do nervo fibular foram analisadas para análise comparativa, conforme demonstrado na Figura 23. Identificado presença de vasos sanguíneos também em microscopia confocal conforme Figura 24.

Como ilustrado na Figura 25, a maioria dos mecanorreceptores foi encontrado próximo das inserções do LMT medial no platô tibial, embora também estivessem presentes na parte central do ligamento e na origem meniscal.

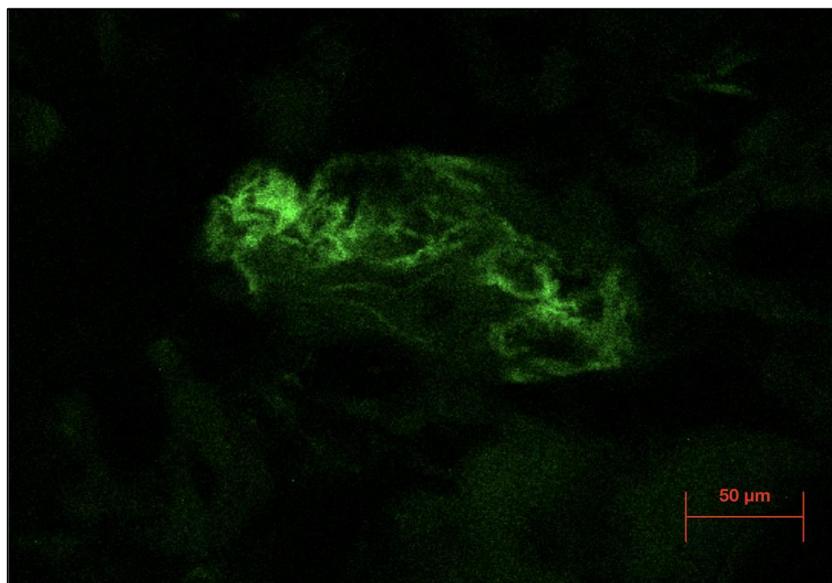
As secções incubadas sem anticorpos primários não mostraram imunorreatividade, confirmando a especificidade da imunomarcção. Terminações nervosas também foram encontradas nos controles e na cápsula adjacente ao LMT medial. No entanto, adjacente à cápsula, apenas terminações nervosas livres (tipo IV) foram encontradas.

**Figura 20** – Mecanorreceptores em uma visão geral na microscopia confocal. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 (anticorpo primário) e Alexa Fluor 488 (anticorpo secundário). Barra 100  $\mu\text{m}$ . Corte de 50 $\mu\text{m}$  de espessura do LMT medial



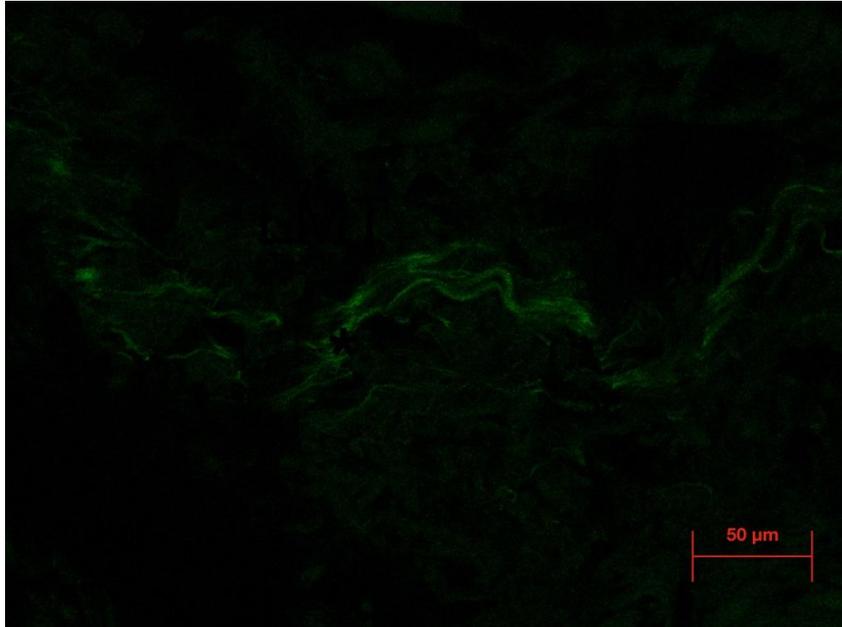
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

**Figura 21** - Mecanorreceptor Rufino-like segundo Freeman; Wyke (1967) microscopia confocal. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 (anticorpo primário) e Alexa Fluor 488 (anticorpo secundário). Barra 50  $\mu\text{m}$ . Corte de 50 $\mu\text{m}$  de espessura do LMT medial



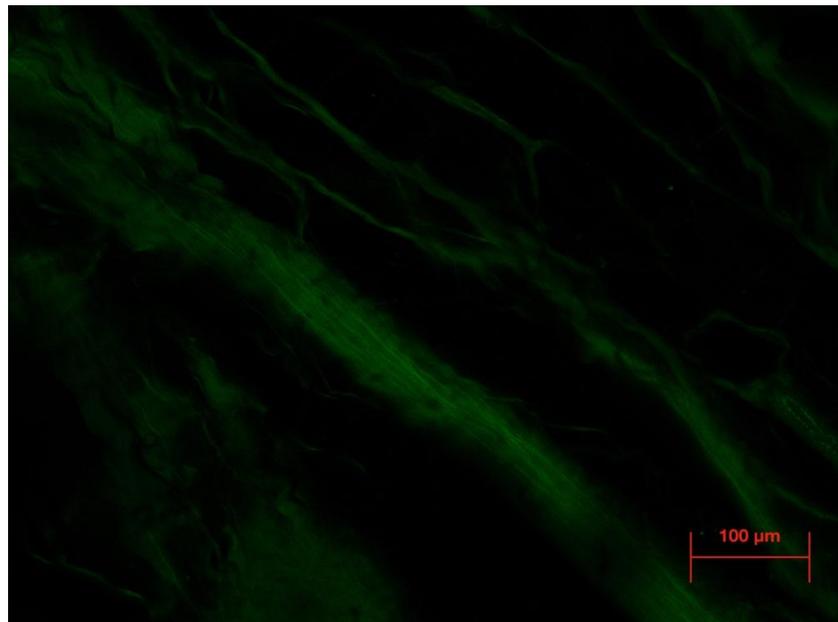
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

**Figura 22** – Terminações nervosas livres identificada na microscopia confocal. Fibras nervosas paralelas. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 (anticorpo primário) e Alexa Fluor 488 (anticorpo secundário). Barra 50  $\mu\text{m}$ . Corte de 50 $\mu\text{m}$  de espessura do LMT medial



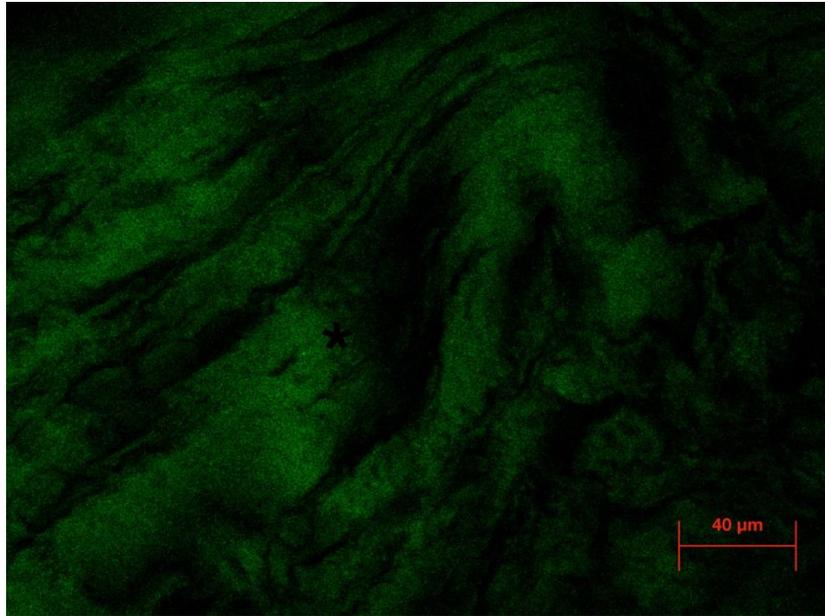
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

**Figura 23** – Nervo Fibular na microscopia confocal. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 (anticorpo primário) e Alexa Fluor 488 (anticorpo secundário). Barra 100  $\mu\text{m}$ . Corte de 50 $\mu\text{m}$  de espessura do nervo.



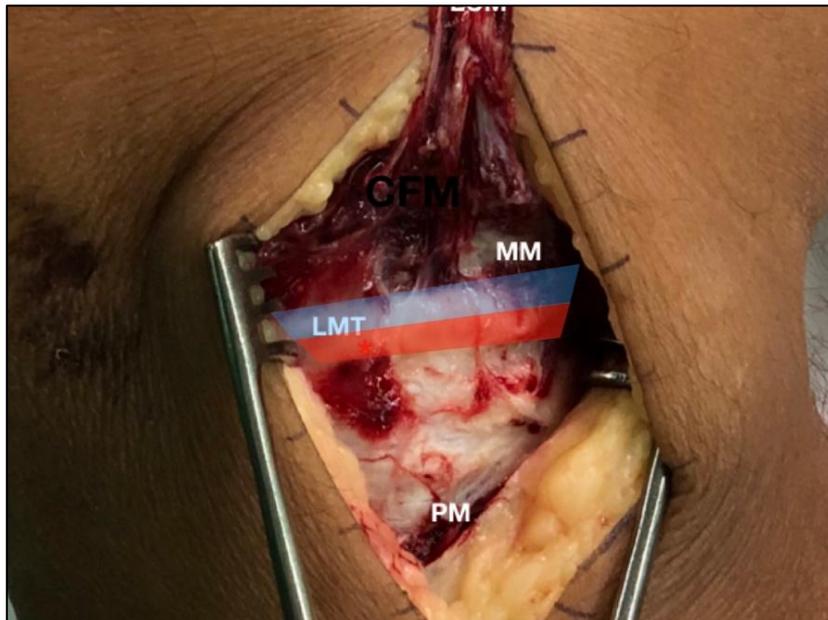
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

**Figura 24** – Vaso sanguíneo da transição meniscocapsular na microscopia confocal. Imunofluorescência obtida com coloração de PGP 9.5 (anticorpo primário) e Alexa Fluor 488 (anticorpo secundário). Barra 40  $\mu\text{m}$ . Corte de 50 $\mu\text{m}$  de espessura.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

**Figura 25** – Zonas de maior concentração de mecanorreceptores no LMT medial. Azul: inserção meniscal do LMT medial, menor zona de mecanorreceptores; Vermelho: inserção tibial do LMT medial, maior zona de mecanorreceptores.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

LMT: Ligamento meniscotibial; MM: Menisco medial; PM: Platô medial; Asterisco vermelho: Inserção tibial do LMT medial.

## 5 DISCUSSÃO

Além do desenvolvimento de um método próprio de dissecação dos LMTs mediais que permitiu achado em 100% das espécimes analisadas, o principal achado desse estudo foi a presença de mecanorreceptores dos tipos I e IV na substância do LMT medial, o que sugere um provável papel procióceptivo importante desse ligamento. Os ligamentos coronários sempre foram bastante estudados, entretanto, após o conhecimento e posterior investigação amiúde das lesões em rampa (Alencar Neto *et al.*, 2022), o número de publicações sobre os ligamentos meniscotibiais vem aumentando (BEEL *et al.*, 2022). Entretanto, não existem artigos que citam ou discorram sobre os mecanorreceptores dos ligamentos meniscotibiais, principalmente do LMT medial. O melhor conhecimento tanto da estrutura macroscópica quanto de sua arquitetura micro pode aumentar a procura por lesões dos LMTs/rampa e conseqüentemente seu reparo. Com isso, uma melhor biomecânica e menos falhas na reconstrução de LCA (BUMBERGER *et al.*, 2020; DEPHILLIPO *et al.*, 2018c; NICOLAS *et al.*, 2020).

Nicolas *et al.* (2020) demonstrou o ligamento meniscotibial medial como um ligamento pelúcido e homogêneo em sua estrutura macroscópica. Em sua estrutura microscópica, o LMT medial apresentou fibras colágenas organizadas, mas não paralelas entrelaçadas com fibroblastos e adipócitos. Nesse estudo, foi realizada a dissecação de dez cadáveres frescos através de acesso posterior e capsulotomia posteromedial. Para coloração das lâminas, foi analisado apenas em Hematoxilina e Eosina e posteriormente analisados em microscópio óptico (DI FRANCIA *et al.*, 2020; NICOLAS *et al.*, 2020). Em nosso estudo, obtivemos achados semelhantes quanto à estrutura macroscópica e microscópica do LMT medial.

Lima *et al.* (2020), utilizaram a microscopia confocal para identificar mecanorreceptores no Ligamento Anterolateral (LAL) do joelho. Nesse estudo, foi realizada a dissecação de 20 cadáveres frescos e análise com reação entre *Protein Gene Product* (PGP) e Alexa Fluor 488. Foi evidenciado terminações livres e mecanorreceptores do tipo I (LIMA *et al.*, 2019). O uso da microscopia confocal tem sido, cada vez mais, empregada na análise de mecanorreceptores e permite uma análise mais precisa e tridimensional, contudo, se apresenta como uma tecnologia de alto custo. Nenhum estudo até o momento, analisou a presença de mecanorreceptores ou terminações nervosas livres nos LMTs.

Com a padronização da técnica de dissecação e utilizando espécimes recém-falecidos, o LMT medial foi dissecado com êxito em 100% dos casos no presente estudo. Nenhum estudo utilizou falecidos selecionados para a doação de órgãos. Grande parte dos estudos que analisaram a anatomia e histologia da parte medial do joelho, fizeram com cadáveres congelados (CAVAIGNAC *et al.*, 2021; DEPHILLIPO *et al.*, 2018c; E-KHOURY *et al.*, 1984a; LAPRADE *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2010). Ao utilizar nosso tipo de seleção de falecidos, foi possível realizar dissecação em um tecido mais fresco e de fácil identificação. É provável também que a utilização de cadáveres embalsamados possam dificultar as disseções, uma vez que o LMT medial é adjacente à cápsula posteromedial do joelho e a separação completa dos planos é comprometida neste tipo de espécimes. No estudo de Nicolas *et al.* (2020), o qual utilizou cadáveres congelados, não foi possível identificar histologicamente a diferenciação entre tecido capsular e tecido do ligamento meniscotibial (DI FRANZIA *et al.*, 2020; NICOLAS *et al.*, 2020). Bezerra *et al.* (2007) dissecaram 80 cadáveres embalsamados e identificaram LMT medial em apenas 23,5% destes (20 joelhos) (BEZERRA *et al.*, 2007). Logo, nenhum estudo anterior utilizou espécimes de falecidos ou até apenas em morte cerebral. Isto permitiu a diferenciação mais nítida das camadas profundas do joelho, bem como uma análise mais fidedigna da vascularização e mensuração da real dimensão dos LMTs mediais.

As medidas de comprimento, largura, espessura e peso do LMT medial encontrados foram divergentes do que os descritos em outros trabalhos (BEZERRA *et al.*, 2007; CAVAIGNAC *et al.*, 2021; E-KHOURY *et al.*, 1984a; LAPRADE *et al.*, 2007; MILLAR, 1991; MINE *et al.*, 2000). Tal fato deve-se principalmente pelo entendimento da real localidade do LMT medial. Após a padronização de nossa técnica de dissecação, percebemos que o LMT medial tratava-se mais de uma estrutura com maior largura do que comprimento, percorrendo praticamente toda a borda posteromedial da inserção meniscocapsular medial. Bezerra *et al.* (2007) descreve o LMT medial como uma estrutura de difícil dissecação encontrada na borda posteromedial da tíbia e com limites e dimensões imprecisas (BEZERRA *et al.*, 2007). Em um estudo com dez cadáveres fresco, Liu *et al.* (2010), considerou o LMT medial como o comprimento da região central da borda periférica do menisco ao centro da inserção tibial do menisco. Neste estudo, verificou-se que o comprimento médio era  $6.5 \pm 1.3$  mm (LIU *et al.*, 2010). Caivagnac *et al.* (2021) analisou quatorze

cadáveres fresco para avaliação das inserções profundas do LCM com o tendão semimembranáceo. Nesse estudo, não foi mensuradas dimensões do LMT medial, porém evidenciou-se fibras colágenas paralelas (CAVAIGNAC *et al.*, 2021). Em um dos primeiros estudos que descreveram os ligamentos coronários, E-khoury *et al.* (1984) fizeram uma correlação entre achados de imagem por artrografia e posterior dissecação dos mesmos dez cadáveres previamente estudados. Nesse estudo, não foi possível identificar plano de clivagem diretamente entre os ligamentos coronários e o menisco medial. Entretanto, a ausência de análise histológica, o uso de cadáveres embalsamados e as demais limitações da época são as principais limitações desse estudo (E-KHOURY *et al.*, 1984a).

No joelho, outros ligamentos foram estudados previamente na pesquisa de mecanorreceptores por diversos autores. Ao observarem a presença de mecanorreceptores de diversos tipos no Ligamento Cruzado Posterior (LCP), Del Valle *et al.* (1998) e Katonis *et al.* (1991) sugeriram que este ligamento tivesse algum papel proprioceptivo (DEL VALLE *et al.*, 1998; KATONIS *et al.*, 1991). Franchi; Zaccherotti; Aglietti (1995) constataram que o LCP possui mecanorreceptores que ocupam cerca de 1% da área total do ligamento e possui uma rede neural complexa, sendo encontrados mecanorreceptores do tipo I, II, III e IV (FRANCHI; ZACCHEROTTI; AGLIETTI, 1995). Lephart *et al.* (1992) concluíram que por meio de uma associação de suas características mecânicas e sensoriais os ligamentos contribuem para a estabilidade articular (LEPHART *et al.*, 1992). No LCA, a presença de mecanorreceptores foi historicamente bem documentada na literatura (ZIMNY; SCHUTTE; DABEZIES, 1986). Pietrosimone *et al.* (2015) relataram que o LCA humano 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. Esse achado pode sugerir que o papel proprioceptivo dos ligamentos do pivô central tenham papel mais importante de que as estruturas periféricas neste quesito (PIETROSIMONE *et al.*, 2015). Assim como no LCP, no LCA também podem ser encontrados os 4 tipos de mecanorreceptores (Criss; Onate; Grooms, 2020; Haus; Halata, 1990; Pietrosimone *et al.*, 2015; Zimny; Schutte; Dabezies, 1986) descritos por Freeman e Wyke (FREEMAN; WYKE, 1967). Yan, Sasaki e Hitomi (2010) analisaram a inervação do LCL através de histologia. Nesse estudo foram encontrados mecanorreceptores do tipo I, III e IV (YAN; SASAKI; HITOMI, 2010). De forma semelhante, utilizando técnica de análise com

cloreto de ouro, Avila *et al.* (1989) não identificaram terminações nervosas “paciniformes” (tipo II) ao estudarem o LCL (AVILA *et al.*, 1989). 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 na estabilização primária do joelho.

Ao pesquisar sobre a inervação dos meniscos, Mine *et al.* (2000), utilizando técnica de imuno-histoquímica com anticorpos para substância P e PGP 9.5, identificaram mecanorreceptores do tipo I, II e IV, principalmente na porção externa e nos cornos anteriores e posteriores (MINE *et al.*, 2000). Ao estudar a distribuição dos mecanorreceptores nos ligamentos e tendões ao redor do joelho humano, Cabuk 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, semelhantes aos achados desse estudo onde encontramos mais mecanorreceptores na inserção óssea do LMT medial. Ainda no estudo de Cabuk e Kuşku Çabuk (2016), utilizando-se imuno-histoquímica com S100, foram encontrados mecanorreceptores do tipo I, III e IV. O Ligamento Colateral Lateral (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 (ÇABUK; FATMAGÜL KUŞKU ÇABUK, 2016). Lima *et al.* (2020) tiveram achados semelhantes ao estudo anterior onde demonstraram mecanorreceptores do tipo I e terminações nervosas livres no LAL (LIMA *et al.*, 2019; ALENCAR NETO *et al.*, 2022).

Um dos principais sistemas nociceptivos das articulações são as terminações nervosas livres (GRIGG; SCHAIBLE; SCHMIDT, 1986). Estas são inativas durante estímulos normais, porém ativam-se quando a articulação é submetida à mudanças 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 também na sinóvia (ÇABUK; FATMAGÜL KUŞKU ÇABUK, 2016). No presente trabalho, observamos mecanorreceptores tipo IV e terminações nervosas livres não

classificadas em todo o LMT medial, principalmente adjacentes aos vasos e nas inserções ligamentares, próximo à cápsula articular e sinóvia.

Fibras de adaptação lenta e com baixos limiares mecânicos, as terminações do tipo I (Freeman; Wyke, 1967) funcionam no controle do posicionamento articular e da cinestesia (SOLOMONOW, 2006). Elas 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 (HALATA; RETTIG; SCHULZE, 1985; SOLOMONOW, 2006). Uma via de aferência por mecanorreceptores do tipo I coordena o movimento proprioceptivo da articulação (ÇABUK; FATMAGÜL KUŞKU ÇABUK, 2016). Durante a flexoextensão, ocorre um maior movimento no lado lateral do joelho, sendo que o côndilo femoral lateral percorre uma distância maior devido à geometria articular do joelho na proporção de a cada 1mm que o côndilo medial móvel, o côndilo lateral percorre 7mm (AMIRI *et al.*, 2006, 2007). Semelhante ao descrito por Cabuk e Kuşku Çabuk (2016), acreditamos que tanto os ligamentos cruzados como o complexo lateral (LCL e LAL) participam dinamicamente da estabilização desse movimento, o que explica a presença bem documentada de mecanorreceptores do tipo I nessas estruturas.

Com achados de corpúsculos de Ruffini-like nos LMTs mediais, podemos suspeitar da característica proprioceptiva deste ligamento. Krych *et al.* (2019) relacionou a lesão isolada dos LMTs mediais com dor crônica medial ao analisar pacientes a ressonância de pacientes com extrusão meniscal (KRYCH *et al.*, 2019). Este achado corrobora com nosso estudo que identificou terminações nervosas livres nos LMT, justificando também seu componente algico. Não identificamos corpúsculos de Meissner e Pacini, como é comum na articulação do ombro (PINHEIRO JÚNIOR, 2015). Estas fibras nervosas apresentam uma maior espessura do axônio, conseqüentemente apresentam uma velocidade maior na condução do estímulo do que as fibras das terminações nervosas livres, o que demonstra que antes de sentirmos qualquer tipo de dor, o sistema proprioceptivo de proteção articular já tinha sido acionado. Vale salientar que a diferenciação do tipo de fibra (classificação de Freeman & Wyke) de forma isolada como se cada tipo de fibra realizasse apenas um tipo de função não representa mais os achados atuais. Isso justifica citarmos achados de “ruffini-like”, uma vez que acreditamos que estes corpúsculo tem morfologia e provável função semelhante aos descritos por Freeman & Wyke, entretanto não excluindo demais funcionalidades destes

córpusculos (FREEMAN; WYKE, 1967).

Diversos estudos analisaram o mecanismo de lesão dos LMT mediais (DEPHILLIPO *et al.*, 2018b, 2019; SIMS; JACOBSON, 2004; VIEIRA *et al.*, 2019). O mecanismo mais aceito é uma súbita contração violenta do semimembrâneo em joelhos LCA deficientes durante a translação excessiva anterior da tíbia, levando a um destacamento do LMT medial e conseqüentemente criando a lesão em rampa (VIEIRA *et al.*, 2019). Krych *et al.* (2019) analisaram 3244 ressonâncias com extrusão meniscal onde 0,62% destas possuíam extrusão isolada. Neste estudo, chegaram à conclusão que a extrusão isolada do menisco medial dá-se por lesão do LMT medial (KRYCH *et al.*, 2019). Dephillipo *et al.* (2018) dissecaram 12 cadáveres para avaliar a importância do LMT medial para estabilidade do joelho em joelhos com lesão de LCA e pós-reconstrução do LCA. Conclui-se que a lesão do LMT em joelhos com lesão de LCA aumenta a translação anterior, rotação interna e externa. Além disso, após a reconstrução de LCA e não reparo do LMT medial, os joelhos restauraram a estabilidade anterior, porém ainda permaneceram com lassidão rotatória interna e externa. Com isso, podemos denotar a importância do reparo do LMT/lesão em rampa como meio para evitar falhas na reconstrução de LCA (DEPHILLIPO *et al.*, 2018b).

O reparo de lesões em rampa é tecnicamente exigente. As primeiras técnicas utilizavam um gancho através do portal posteromedial (ALESSIO-MAZZOLA *et al.*, 2020; GÜLENÇ *et al.*, 2020). Isso envolve uma longa curva de aprendizado, podendo danificar a cartilagem, menisco e ligamento meniscotibial, além do risco de lesão vascular (NEGRÍN *et al.*, 2018a). As técnicas mais recentes descrevem métodos *all-inside* com ou sem uso do portal posteromedial (ALESSIO-MAZZOLA *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2018; GÜLENÇ *et al.*, 2020; NEGRÍN *et al.*, 2018a). Essas técnicas são caras, deixam os dispositivos dentro do joelho e correm o risco de causar lesão vascular devido à abordagem anterior para posterior. Choi *et al.* criaram uma técnica de sutura *all-inside* sem a adição do portal posteromedial por *piecrusting* do ligamento colateral medial. Apesar de evitar o portal pósteromedial, essa técnica causa uma lesão até então inexistente, não sendo possível realizar o desbridamento correto nem encurtar o ligamento meniscotibial se for retraído. Como fruto desta tese, desenvolvemos uma técnica própria de sutura de lesão em rampa do menisco medial. Em nossa técnica com o passador de sutura *Scorpion*<sup>®</sup>, conseguimos ótima visualização e inspeção correta da extensão da lesão e grau de

retração meniscotibial. Além disso, podemos reduzir a retração com *Scorpion*<sup>®</sup>, utilizando-os para fazer 3 suturas com o mesmo fio de alta resistência. Outra vantagem é poder usar a mesma pinça para reparar outras lesões meniscais (laterais, radiais, longitudinais). Algumas armadilhas e armadilhas devem ser observadas durante esta técnica. A principal desvantagem é sempre a necessidade do portal posteromedial, que em nossa opinião, deve ser realizado para o correto desbridamento e inspeção da rotura do menisco lateral.

Em nosso estudo verificou-se maior distribuição de mecanorreceptores junto à sua inserção óssea. Tal constatação é consoante com outros estudos de outros ligamentos do joelho (LIMA *et al.*, 2019; AVILA *et al.*, 1989; DELLON, 1994; FRANCO *et al.*, 2015; HAUS; HALATA, 1990; MINE *et al.*, 2000). Por fim, os mecanorreceptores nos ligamentos, informam ao sistema nervoso central sobre a tensão ligamentar, mantendo assim a estabilidade articular através da atividade muscular além de conduzirem a informação sensorial da dor.

Com o achado de mecanorreceptores no LMT medial, podemos entender melhor como a lesão em rampa estar associada a falha nas reconstruções cirúrgicas do LCA. Após um lesão em rampa, há descontinuidade entre o menisco e o LMT medial levando a falta de percepção e ativação dos mecanorreceptores deste último, culminando assim em um perda global de propriocepção e controle muscular em um joelho submetido a reconstrução de LCA, demonstrando assim uma possível causa nesta falha.

## 5.1 Limitações

Podemos citar como possível limitação do presente estudo o número de joelhos estudados. A Lei local vigente no país de execução deste trabalho limita o acesso livre a cadáveres congelados em grande quantidade, de tal modo que conseguimos apenas 20 espécimes de falecidos, selecionados para a doação de órgãos. Contudo, baseado em estudos semelhantes da literatura, cremos que a amostra utilizada foi suficiente para validar as conclusões (AMAN *et al.*, 2019; LIMA *et al.*, 2019; ÇABUK; FATMAGÜL KUŞKU ÇABUK, 2016; CAVIGNAC *et al.*, 2021; KATONIS *et al.*, 1991; LAPRADE *et al.*, 2007).

Podemos citar como possível limitação a ausência de uma padronização nos tipos de coloração de artigos prévios os quais analisam terminações nervosas.

Podem ser utilizadas substâncias 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 (AVILA *et al.*, 1989; FRANCHI; ZACCHEROTTI; AGLIETTI, 1995; FREEMAN; WYKE, 1967; ZIMNY; SCHUTTE; DABEZIES, 1986). 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. (JEW *et al.*, 2003). Nossa linha de pesquisa utiliza tal protocolo com frequência em estudo de mecanorreceptores e até então com bastante êxito no encontro e análise das terminações nervosas.

Mais uma limitação foi o uso da classificação de Freeman e Wyke (1967a, 1967b), principalmente devido ao fato desta classificação não contemplar os achados de neuromarcações modernas (FREEMAN; WYKE, 1967). Em nosso estudo foram encontradas terminações nervosas não classificadas, com formatos diversos e irregulares. Alguns autores, como Rein *et al.* (2015), propuseram um “tipo V” à classificação, englobando essas terminações não classificadas (REIN *et al.*, 2015). Entretanto, 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.

Vale salientar que Di Francia *et al.* (2020), consideraram a região pertencente ao LMT medial como apenas tecido capsulossinovial não demonstrando ser um ligamento (NICOLAS *et al.*, 2020). Bezerra *et al.* (2007) referiram dificuldade na identificação específica deste 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.

Por fim, a falta de outros estudos semelhantes sobre o LMT medial e sua inervação como demonstrou Alencar Neto *et al.* (2022) dificultou a interpretação dos resultados e na escolha do protocolo ideal (ALENCAR NETO *et al.*, 2022).

## 5.2 Perspectivas futuras

O ligamento meniscotibial medial é um dos principais focos de estudos atualmente em cirurgia do joelho, uma vez que pode ser uma das causas de falhas da principal cirurgia do joelho a reconstrução do ligamento cruzado anterior. A maioria dos estudos são consoantes em citar o aumento da prevalência e diagnóstico da lesão em rampa, a qual já foi conhecida com *Hidden Lesion* por ser considerada escondida. Este estudo faz parte de uma linha de pesquisa contínua na profunda análise deste ligamento. O próximo passo é identificar o impacto clínico do reparo deste ligamento, principalmente com nossa técnica de sutura desenvolvida. O estudo dos mecanorreceptores em associação com a eletroneurofisiologia também faz parte dos rumos futuros da nossa linha de pesquisa. 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 meniscotibial medial apresenta estrutura nervosa periférica.

Identificados mecanorreceptores Ruffini-like (tipo I) e terminações nervosas livres (tipo IV).

O ligamento meniscotibial medial é uma estrutura ligamentar distinta no aspecto medial do joelho, exibindo comprimento médio de 7,07mm, largura média de 32,25 mm, espessura média 3,53 mm e peso médio de 0,6728g.

Os achados levam a crer que o ligamento meniscotibial medial apresenta importância para a propriocepção e estabilização rotatória do joelho.

## REFERÊNCIAS

ABRAHAM, J.; MATHEW, S. Merkel Cells : A Collective Review of Current Concepts. **Int J Appl Basic Med Res.**, v.9, n.1, p.18-22, 2019.

ALENCAR NETO, J.B. *et al.* Anatomy of the Medial Meniscotibial Ligament of the Knee: A Systematic Review. **Revista Brasileira de Ortopedia**, p. 6-10, 2022.

ALESSIO-MAZZOLA, M. *et al.* Management of ramp lesions of the knee: a systematic review of the literature. **Musculoskeletal Surgery**, v.104, n.2, p.125-133, 2020.

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

AMIRI, S. *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, S. *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.

ASAI, K. *et al.* Excessive anterior tibial translation in the contralateral uninjured limb is significantly associated with ramp lesion in anterior cruciate ligament injury. **Journal of Experimental Orthopaedics**, v. 8, n. 1, p. 4-9, 2021.

AVILA, G.A *et al.* The mechanoreceptor innervation of the human fibular collateral ligament. **J.Anat.**, v. 162, n. 0021-8782 (Print), p. 1–7, 1989.

BARCO, R. *et al.* Salvi Prat-Fabregat Pilar Camacho-Carrasco. **EFORT Open Rev**, v. 1, n. 3, p. 225-232, 2016.

BARWAR, N. *et al.* Does a staged treatment of high energy tibial plateau fractures affect functional results and bony union? A case series. **Chinese Journal of Traumatology**, p. 0-4, 2020.

BEEL, W. *et al.* Ramp lesions are six times more likely to be observed in the presence of a posterior medial tibial bone bruise in ACL-injured patients. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 30, n. 1, p. 184-191, 2022.

BEZERRA, F.S. *et al.* Quantitative and descriptive analysis of the meniscotibial ligament in human corpses. **Brazilian Journal for Morphological Sciences**, v. 24, n. 4, p. 211-213, 2007.

BIKKINA, R. S. *et al.* The “ Floating ” Meniscus : MRI. **American Journal of Roentgenology**, v. 184, n. 1, p. 200-205, 2005.

BIN, H.; YU, L. Distribution, quantity and gene expression of mechanoreceptors in ligaments and tendons of knee joint in rabbits. **Journal of Molecular Histology**, n. 0123456789, 2020.

BINCH, A.L.A. *et al.* Nerves are more abundant than blood vessels in the degenerate human intervertebral disc. **Arthritis Research and Therapy**, v.17, n.1, p.1-10, 2015.

BLACK, A.K. *et al.* Technique for Arthroscopically Assisted Superficial and Deep Medial Collateral Ligament-Meniscotibial Ligament Repair With Internal Brace Augmentation. **Arthroscopy Techniques**, v.7, n.11, p. e1215-e1219, 2018.

BUMBERGER, A. *et al.* Ramp lesions are frequently missed in ACL-deficient knees and should be repaired in case of instability. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v.28, n.3, p.840-854, 2020.

BUTLER, R.J. *et al.* The Effect of a Subject-Specific Amount of Lateral Wedge on Knee. **Journal of Orthopaedic Research September**, v.25, n. June, p.1121-1127, 2007.

ÇABUK, H.; FATMAGÜL KUŞKU ÇABUK. Mechanoreceptors of the ligaments and tendons around the knee. **Clinical anatomy**, v.29, n.6, p.789-95, 2016.

CAMPBELL, L.K. *et al.* Protein Gene Product 9.5 (PGP 9.5) Is Not a Specific Marker of Neural and Nerve Sheath Tumors: An Immunohistochemical Study of 95 Mesenchymal Neoplasms. **Modern Pathology**, v.16, n.10, p. 963-969, 2003.

CANALE, S.T.; BEATY, J.M.; AZAR, F.M. **Campbell’s operative orthopaedics**. 14. Edition, Elsevier, 2021.

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

CHANG, S.M. *et al.* Posterior coronal plating of bicondylar tibial plateau fractures through posteromedial and anterolateral approaches in a healthy floating supine position. **Orthopedics**, v.35, n.7, p.583-588, 2012.

CHEN, Z. *et al.* Meniscal Ramp Lesion Repair Using the FasT-Fix Technique: Evaluating Healing and Patient Outcomes with Second-Look Arthroscopy. **Journal of Knee Surgery**, v.31, n.8, p.710-715, 2018.

CHOI, K.Y. *et al.* Medial Meniscal Ramp Lesion Repair Through Anterior Portals Using a Medial Collateral Ligament Pie-Crusting Technique. **Arthroscopy Techniques**, v.10, n.4, p. e1073-e1077, 2021.

CRISS, C.R.; ONATE, J. A.; GROOMS, D. R. Neural activity for hip-knee control in those with anterior cruciate ligament reconstruction: A task-based functional connectivity analysis. **Neuroscience Letters**, v.730, n. April, p.134985, 2020.

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. **Journal of Arthroplasty**, v.13, n.8, p.916-922, 1998.

DELLON, A.L.; HORNER, G. Innervation of the Human Knee Joint and Implications for Surgery. **Clin Orthop Relat Res.**, n.301, p.221-226, 1994.

DEPHILLIPO, N. *et al.* Effect of Meniscocapsular and Meniscotibial Lesions in ACL-Deficient and ACL-Reconstructed Knees A Biomechanical Study. **Am J Sports Med**, v.46, n.10, p.2422-2431, 2018a.

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

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

DEPHILLIPO, N.N. *et al.* Incidence and Detection of Meniscal Ramp Lesions on Magnetic Resonance Imaging in Patients With Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. **Am J Sports Med**, v.45, n.10, p.1–5, 2016.

DEPHILLIPO, N.N. *et al.* Quantitative and Qualitative Assessment of the Posterior Medial Meniscus Anatomy Defining Meniscal Ramp Lesions. **Am J Sports Med**, v.47, n.2, p.372-378, 2019.

DI FRANZIA, R. *et al.* Ramp Lesions of the Posterior Segment of the Medial Meniscus: What Is Repaired? A Qualitative Histological Study of the Meniscocapsular and Meniscotibial Attachments. **Clinical orthopaedics and related research**, v.478, n.12, p.2912-2918, 2020.

E-KHOURY, G.Y. *et al.* Meniscotibial (Coronary) Ligament Tears. **Skeletal Radiology**, v.11, n.3, p.191-196, 1984a.

E-KHOURY, G.Y. *et al.* Meniscotibial (Coronary) Ligament Tears. **Skeletal Radiology**, v.11, n.3, p.191-196, 1984b.

FRACP, A.P.M. Meniscotibial ligament strains: a prospective survey ~ Nine ' developed. **Br J Sp Med**, v.25, n.2, p.94-95, 1991.

FRANCHI, A.; ZACCHEROTTI, G.; AGLIETTI, P. Neural system of the human posterior cruciate ligament in osteoarthritis. **Journal of Arthroplasty**, v.10, n.5, p.679-682, 1995.

FRANCIA, D.; NICOLAS, Q.; QUINTIN-ROU, I. Ramp Lesions of the Posterior Segment of the Medial Meniscus : What Is Repaired ? A Qualitative Histological Study of the Meniscocapsular and Meniscotibial Attachments. **Clin Orthop Relat Res**, v.478, n.12, p.2912-2918, 2020.

FRANCO, C.D. *et al.* Innervation of the Anterior Capsule of the Human Knee Implications for Radiofrequency Ablation. **Reg Anesth Pain Med**, v.40, n.4, 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, 1967.

GRIFFITH, C.J. *et al.* Medial Knee Injury: Part 1, Static Function of the Individual Components of the Main Medial Knee. **Am J Sports Med**, v.37, n.9, p.1762-1770, 2009.

GRIGG, P.; SCHAIBLE, H.G.; SCHMIDT, R.F. 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.

GÜLENÇ, B. *et al.* Surgical Treatment of Meniscal RAMP Lesion. **Journal of Knee Surgery**, v.33, n.3, p.255-259, 2020.

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.

HAUCH, K.N.; VILLEGAS, D.F.; DONAHUE, T.L.H. Geometry, time dependent and failure properties of human meniscal attachments. **Journal Biomechanics**, v.43, n.3, p.463-468, 2010.

HAUS, J.; HALATA, Z. Innervation of the anterior cruciate ligament. **International Orthopaedics**, v.14, n.3, p.293-296, 1990.

JEONG, J.J. *et al.* Immediate arthroscopy following ORIF for tibial plateau fractures provide early diagnosis and treatment of the combined intra-articular pathologies. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v.27, n.10, p.3327-3333, 2019.

JEW, J.Y. *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.

KANDEMIR, U.; MACLEAN, J. Surgical approaches for tibial plateau fractures. **The journal of knee surgery**, v.27, n.1, p.21-29, 2014.

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

- KRYCH, A.J. *et al.* Isolated meniscus extrusion associated with meniscotibial ligament abnormality. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, p.1–7, 2019.
- LABARRE, C.; GRAVELEAU, N.; BOUGUENNEC, N. Meniscal Ramp Lesions Repair: An Under-Meniscus All-Inside Suture in Cases of Isolated Meniscotibial Ligament Tears. **Arthroscopy Techniques**, v.10, n.6, p.e1417-e1424, 2021.
- LAPRADE, R.F. *et al.* The anatomy of the medial part of the knee. **Journal of Bone and Joint Surgery - Series A**, v.89, n.9, p.2000-2010, 2007.
- LEPHART, S.M. *et al.* Proprioception following anterior cruciate ligament reconstruction. **Journal of Sport Rehabilitation**, v.1, n.3, p.188-196, 1992.
- LI, Y. *et al.* Highly Selective Biomimetic Flexible Tactile Sensor for Neuroprosthetics. **Research A Science Partner Journal**, v. 2020, 2020.
- LIMA, D.A. *et al.* Study of the Nerve Endings and Mechanoreceptors of the Anterolateral Ligament of the Knee. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery**, v.35, n.10, Oct. p.2918-2927, 2019.
- LIMA, D.A. **Estudo das terminações nervosas e mecanorreceptores do ligamento anterolateral do joelho**. 2019. 87f. Tese (Doutorado) Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas, 2019.
- LIN, Yu-Te *et al.* Nerve Endings of the wrist joint: a preliminary report of the dorsal radiocarpal ligament. **Journal of Orthopaedic Research**, p.1225-1230, Jun. 2006.
- LIU, F. *et al.* Morphology of the medial collateral ligament of the knee. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, v.5, n.1, p.1-8, 2010.
- LOUGHER, L.; SOUTHGATE, C.R.W.; HOLT, M.D. Coronary ligament rupture as a cause of medial knee pain. **Arthroscopy**, v.19, n.10, p.10-11, 2003.
- LUO, C.F. *et al.* Three-column fixation for complex tibial plateau fractures. **Journal of Orthopaedic Trauma**, v.24, n.11, p.683-692, 2010.
- MARIANI, P. P. Posterior horn instability of the medial meniscus a sign of posterior meniscotibial ligament insufficiency. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v.19, n.7, p.1148-1153, 2011.
- MARIESWARAN, M. *et al.* Review Article A Review on Biomechanics of Anterior Cruciate Ligament and Materials for Reconstruction. **Applied Bionics and Biomechanics**, v. 2018, p.1-14, 2018.
- MATHIE, H. A. *et al.* Quantifying Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis infection of bovine monocyte derived macrophages by confocal microscopy. **Journal of Microbiological Methods**, v.168, p.105779, 2020.

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

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

MINE, T. *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.

NEGRÍN, R. *et al.* Lesiones meniscales RAMP, y lesiones del ligamento meniscotibial posteromedial Meniscal RAMP Lesions, and Posteromedial Meniscotibial Ligament Lesions. **Rev Chil. Ortop. Traumatol.**, v.59, n.1, p.16-21, 2018b.

NEGRÍN, R. *et al.* Meniscal Ramp Lesion Repair Using an All-Inside Technique. **Arthroscopy Techniques**, v.7, n.3, p.e265–e270, 2018a.

NEUBARTH, N.L. *et al.* Meissner corpuscles and their spatially intermingled afferents underlie gentle touch perception. **Science**, v.19, n.368, p.2751, 2020.

NICOLAS, Q. *et al.* “Ramp lesions” of the posterior segment of the medial meniscus: what is repaired? An anatomical and histological study. **Orthopaedic Journal of Sports Medicine**, v.8, n.2\_suppl, p. 2325967120S0001, 2020.

NIKOLAEV, Y.A. *et al.* Lamellar cells in Pacinian and Meissner corpuscles are touch sensors. **Sci Adv**, v.16, n.6, p.1-10, 2020.

NOGUEIRA-BARBOSA, M.H.; NOVELINO, S.M. Magnetic resonance imaging in the assessment of meniscal anatomic variants and of the perimeniscal ligamentous anatomy: potential interpretation pitfalls. **Radiologia Brasileira**, v.44, n.2, p.117-122, 2011.

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

PIETROSIMONE, B.G. *et al.* Neural excitability alterations after anterior cruciate ligament reconstruction. **Journal of Athletic Training**, v.50, n.6, p.665-674, 2015.

PINHEIRO JÚNIOR, J.A. **Análise dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres da banda anterior do ligamento glenoumeral inferior com imunofluorescência e microscopia confocal.** 2015. 60f. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Cirurgia, 2015.

REIN, S. *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.

RENÒ, F.; RIZZI, M.; CANNAS, M. Gelatin-based anionic hydrogel as biocompatible substrate for human keratinocyte growth. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.23, n.2, p.565-571, 2012.

RICCI, V. *et al.* Anatomy and ultrasound imaging of the tibial collateral ligament: A narrative review. **Clinical Anatomy**, v.35, n.5, p.571-579, 2022.

RYZHAVSKII, B.Y.; ZADVORNAYA, O.V. 3B-Hydroxysteroid Dehydrogenase in the Brain Ependymocytes. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v.155, n.1, p.113-114, 2013.

SCOTT, W.N.; DIDUCH, D.R.; IORIO, R.; LONG, W.J. **Insall & Scott surgery of the knee**. 5<sup>th</sup>.ed. New York: Elsevier, 2018. Disponível em: <http://gate.lib.buffalo.edu/login?url=https://www.clinicalkey.com/dura/browse/bookChapter/3-s2.0-C20141045747>.

SECTIONS, C.; SPECIMENS, C. Preparation of Cryostat Sections from Biopsies and Colorectal Specimens. **Histopathology of Chronic Constipation**, p.37-42, 2013.

SEITZ, A. *et al.* Forces acting on the anterior meniscotibial ligaments. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v.20, n.8, p.1488-1495, 2012.

SELECTION, E. Lower-Extremity Peripheral Nerve Blocks in the Perioperative Pain Management of Orthopaedic Patients. **J Bone Joint Surg Am**, v.94, n.22, p.1-13, 2012.

SHA, L. *et al.* A morphologic and quantitative comparison of mechanoreceptors in the tibial remnants of the ruptured human anterior cruciate ligament. **Medicine (United States)**, v.96, n.5, p.1-5, 2017.

SILVERMAN, E.R. *et al.* The Anatomic Relationship of the Tibial Nerve to the Common Peroneal Nerve in the Popliteal Fossa : Implications for Selective Tibial Nerve Block in Total Knee Arthroplasty. **Pain Res Manag**, v. 2017, 2017.

SIMS, W. F.; JACOBSON, K. E. The Posteromedial Corner of the Knee: Medial-Sided Injury Patterns Revisited. **American Journal of Sports Medicine**, v.32, n.2, p.337-345, 2004.

SMITH, P.A. *et al.* Impact of Medial Meniscotibial Ligament Disruption Compared to Peripheral Medial Meniscal Tear on Knee Biomechanics. **The Journal of Knee Surgery**, v.1, n.212, 2020.

SOLOMON, L. B. *et al.* Posterolateral and anterolateral approaches to unicondylar posterolateral tibial plateau fractures: A comparative study. **Injury**, v.44, n.11, p.1561-1568, 2013.

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

STOJ, V.J. *et al.* International Journal of Women ' s Dermatology Pacinian corpuscle hyperplasia : A review of the literature q. **International Journal of Women's Dermatology**, v.7, n.3, p.335-341, 2021.

THAUNAT, M. *et al.* Classification and Surgical Repair of Ramp Lesions of the Medial Meniscus. **Arthroscopy Techniques**, v.5, n.4, p.e871–e875, 2016.

URBAN, S.; PRETTERKLIEBER, B.; PRETTERKLIEBER, M. L. The anterolateral ligament of the knee and the lateral meniscotibial ligament – Anatomical phantom versus constant structure within the anterolateral complex. **Annals of Anatomy**, v.226, p.64-72, 2019.

VIEIRA, T.D. *et al.* Arthroscopic Dissection of the Distal Semimembranosus Tendon: An Anatomical Perspective on Posteromedial Instability and Ramp Lesions **Arthroscopy Techniques**, v.8, n.9, p.e987-e991, 2019.

WARREN, L.F.; MARSHALL, J.L. The supporting structures and layers on the medial side of the knee: an anatomical analysis. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v.61, n.1, p.56-62, 1979.

YAN, J.; SASAKI, W.; HITOMI, J. 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.

ZHANG, J. *et al.* Combined lateral peripatellar and posteromedial approaches for Schatzker type IV tibial plateau fractures involving posteromedial plane : a prospective study. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v.21, n.1, p.1-6, 2020.

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

## ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP)

INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -  
IJF/ PREFEITURA DE  
FORTALEZA



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Análise dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos ligamentos meniscolibiais do joelho com imunofluorescência e microscopia confocal

**Pesquisador:** Jonatas Brito de Alencar Neto

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 31316620.8.0000.5047

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

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.205.877

#### Apresentação do Projeto:

Os ligamentos meniscolibiais, também conhecido como ligamentos coronários, são uma banda fibrosa que conecta perifericamente os meniscos à tibia. Atualmente, as lesões em rampa do menisco foram associadas à lesão concomitante dos ligamentos meniscolibiais, sendo causas de instabilidade em joelhos LCA-deficientes. O estudo dessa estrutura é fundamental para definirmos suas principais características e entendermos melhor seu funcionamento, para que possamos tratá-lo de forma adequada nos casos de ruptura do mesmo. 12 ligamentos meniscolibiais de joelho, obtidos durante a artrotomia submeniscal em acesso posteromedial à fraturas do platô medial, serão cuidadosamente dissecados 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 PGP9.5 (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.

**Critério de Inclusão:** Serão incluídos no estudo 20 ligamentos meniscolibiais do joelho (10 LMT mediais e 10 LMT laterais), provenientes de 10 doadores de órgãos falecidos efetivados pela Comissão Intra-Hospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante (CIHDOTT) após confirmação de morte encefálica, todos adultos, sempre preferências por sexo ou idade e após assinatura do TCLE.

**Endereço:** Rua Barão do Rio Branco, nº 1816  
**Bairro:** Centro **CEP:** 50.025-061  
**UF:** CE **Município:** FORTALEZA  
**Telefone:** (85)3255-5093 **Fax:** (85)3255-5093 **E-mail:** cep@ijf@outlook.com

INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA -  
IJF/ PREFEITURA DE  
FORTALEZA



Continuação do Parecer: 4.205.877

ANEXO 1) por representante legal. A confidencialidade referente aos participantes do estudo será respeitada, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, identificá-lo, será mantido em sigilo. Critério de Exclusão: Serão excluídos os participantes que apresentavam sinais de lesão traumática e regenerativa que dificultem a dissecação do LMT.

**Metodologia de Análise de Dados:** A fim de analisar a densidade de fibras nervosas nos LMT serão utilizadas 12 imagens panorâmicas obtidas de seções pré-selecionadas utilizando mosaico e característica tridimensional, com dois níveis de profundidade. As imagens obtidas serão convertidas em bitmap com 600 pixels e inseridas no software de análise de imagem (Sistema de Análise Morfométrica-versão 1.0), desenvolvido e validado pela Universidade Federal do Ceará, Brasil. Este software semi-automático calcula a área ocupada por fibras nervosas manchado em verde claro com base em diferenças de cor. A densidade será definida pelo quociente entre área ocupada pelas fibras nervosas à área total selecionado. (35)/(36) Os resultados serão expressos na forma de médias após análise dos dados utilizando o software GraphPad Prism® (versão 6.0 para Windows®, GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA, 2015).

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:** Identificar e avaliar a morfologia dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos ligamentos meniscolibiais do joelho utilizando o método de imunofluorescência sob microscopia confocal com varredura a laser e avaliar a densidade destes em diferentes níveis de profundidade. **Objetivo Secundário:** Revisar a literatura sobre associação dos LMT com a instabilidade rotatória do joelho e sua função proprioceptiva.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:** Como risco, destacamos o comprometimento estético da pele presente na região do joelho devido a presença de fios de sutura em evidência. **Benefícios:** O participante do estudo não receberá benefício direto com o estudo, a não ser contribuir para a realização de novos estudos que ajudem no avanço da medicina.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa relevante com o desenho metodológico adequado. O pesquisador atendeu as solicitações

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

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



Continuação do Parecer: 4.205.877

de ajustes ao projeto feitas no parecer anterior.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O pesquisador apresentou o termo de anuência do centro cirúrgico e da CIHDOTT, cronograma, orçamento, folha de rosto e TCLE.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sem pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

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

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1593967_E1.pdf	10/08/2020 08:15:41		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa_Jonatas_Brito_FINAL.pdf	10/08/2020 08:09:58	Jonatas Brito de Alencar Neto	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	10/08/2020 08:09:31	Jonatas Brito de Alencar Neto	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_Centro_cirurgico_UJFassinada.pdf	13/07/2020 07:18:33	Jonatas Brito de Alencar Neto	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_CIHDOTT_IJF.pdf	13/07/2020 07:16:11	Jonatas Brito de Alencar Neto	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Anuência	TCLE_final.doc	13/07/2020 07:14:28	Jonatas Brito de Alencar Neto	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	30/04/2020 07:15:26	Jonatas Brito de Alencar Neto	Aceito
Orçamento	Orçamento.docx	22/04/2020 15:18:32	Jonatas Brito de Alencar Neto	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Rua Barão do Rio Branco, nº 1818  
 Bairro: Centro CEP: 60.025-061  
 UF: CE Município: FORTALEZA  
 Telefone: (85)3255-5093 Fax: (85)3255-5093 E-mail: cepijf@outlook.com

## **ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)**

Você está sendo convidado pelo **Prof. M.S. Jonatas Brito de Alencar Neto**, médico ortopedista, para participar da pesquisa intitulada “**Análise dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos ligamentos meniscotibiais do joelho com imunofluorescência e microscopia confocal**”. Você não deve participar contra a sua vontade. A presente pesquisa segue as recomendações das resoluções 466/12 e 510/16 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares. Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade.

Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

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

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

Essa pesquisa tem como objetivo identificar, avaliar a morfologia e mapear a distribuição dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos ligamentos meniscotibiais do joelho, utilizando o método de imunofluorescência sob microscopia confocal com varredura a laser.

O principal benefício dessa pesquisa é contribuir cientificamente para uma melhor compreensão da anatomia, distribuição e concentração dos mecanorreceptores presentes nos ligamentos meniscotibiais do joelho. Como risco, destacamos o comprometimento estético da pele presente na região do joelho devido a presença de fios de sutura em evidência. Como forma de reduzir esse risco, utilizaremos a menor incisão possível. Destacamos ainda que apenas será ressecado os ligamentos meniscotibiais do joelho, permanecendo o restante do falecido inalterado.

Afirmamos a garantia do anonimato/privacidade do participante na pesquisa, onde não será preciso colocar o nome do mesmo. Além disso, será mantido o sigilo das informações por ocasião da publicação dos resultados, visto que não será divulgado dado que identifique o participante.

Você ficará com uma via original deste TCLE e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa poderá perguntar diretamente para o pesquisador Jonatas Brito de Alencar Neto, no endereço Rua Joaquim Nabuco, 1850 - Aldeota, Fortaleza - CEP 60175-025. Tel. (85) 99956-1797.

Dúvidas a respeito da ética desta pesquisa poderão ser questionadas ao **Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ** – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344/46. (Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira).

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

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

### **Consentimento Livre**

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

**Prof. M.S. Jonatas Brito de Alencar Neto (Pesquisadora responsável)** - Preceptor da Residência de Ortopedia, do Instituto Dr. José Frota, no endereço R. Barão do Rio Branco, 1816 - Centro, Fortaleza - CE, 60025-061. Tel. (85) 3255 5205

**Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ** – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344/46. (Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira).



**ANEXO C – CARTA DE ANUÊNCIA DO CENTRO CIRÚRGICO DO INSTITUTO  
DR. JOSÉ FROTA (IJF)**



**IJF  
INSTITUTO DR. JOSÉ FROTA  
FORTALEZA/CE**

**CENTRO CIRÚRGICO**

Declaramos para os devidos fins, que aceitaremos o pesquisador Jonatas Brito de Alencar Neto, a desenvolver o seu projeto de pesquisa Análise dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos ligamentos meniscotibiais do joelho com imunofluorescência e microscopia confocal que está sob a orientação da Profa Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante cujo objetivo é identificar e avaliar a morfologia dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos ligamentos meniscotibiais do joelho utilizando o método de imunofluorescência sob microscopia confocal com varredura a laser e avaliar a densidade destes em diferentes níveis de profundidade., no Centro cirúrgico do Instituto Dr José Frota em parceria com a Universidade Federal do Ceará.

A aceitação está condicionada ao cumprimento do (a) pesquisador (a) aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se a utilizar os dados e materiais coletados, exclusivamente para os fins da pesquisa.

Fortaleza, 26 de junho de 2020.

**Viádia Freitas de Oliveira**  
Gerente do Bloco Cirúrgico  
CRM 5530

**Chefe do Centro Cirúrgico – IJF**  
**Dra Viádia Freitas de Oliveira**  
CRM5530

## ANEXO D – CARTA DA COMISSÃO INTRA-HOSPITALAR DE DOAÇÃO DE ÓRGÃOS E TECIDOS PARA TRANSPLANTE (CIHDOTT)

### Carta de Anuência da Comissão Intra-Hospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante (CIHDOTT)

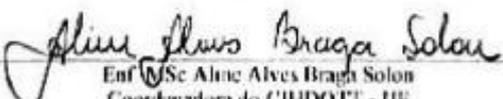


Comissões Intra-Hospitalares de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplante (CIHDOTT) Organização por Procura de Órgãos e Tecidos (OPO)

Declaramos para os devidos fins, que aceitaremos o pesquisador Jonatas Brito de Alencar Neto, a desenvolver o seu projeto de pesquisa Análise dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos ligamentos meniscotibiais do joelho com imunofluorescência e microscopia confocal que está sob a orientação da Profa Dra. Maria Luzete Costa Cavalcante cujo objetivo é identificar e avaliar a morfologia dos mecanorreceptores e terminações nervosas livres dos ligamentos meniscotibiais do joelho utilizando o método de imunofluorescência sob microscopia confocal com varredura a laser e avaliar a densidade destes em diferentes níveis de profundidade, no Centro cirúrgico do Instituto Dr José Frota em parceria com a Universidade Federal do Ceará.

A aceitação está condicionada ao cumprimento do (a) pesquisador (a) aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se a utilizar os dados e materiais coletados, exclusivamente para os fins da pesquisa.

Fortaleza, 07 de julho de 2020,

  
Enf. MSc Aline Alves Braga Solon  
Coordenadora do CIHDOTT - IF

## ANEXO E – PROTOCOLO DE JEW MODIFICADOR PARA PREPARO DAS PEÇAS PARA IMUNOFLOURESCÊNCIA

**Especime n°.** \_\_\_\_\_  
 Idade \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_  
 Origem Femoral:  
 Inserção Tibial:  
 Inserção Meniscal:  
 Comprimento \_\_\_\_\_ Largura \_\_\_\_\_ Peso \_\_\_\_\_  
 Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

### INSTRUÇÃO DE PREPARAÇÃO DO TECIDO:

#### Paraformaldeido e Sacarose:

#### Necessario para o preparo:

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

#### **0.1 M de paraformaldeido 4%:**

Adicionar 40g de paraformaldeido 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 paraformaldeido 4%

Data do preparo: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Quantidade: \_\_\_\_\_

CÁLCULOS:

#### Necessario para o preparo:

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

## PROTOCOLO PARA CORTE DE TECIDOS

### Necessario para o corte:

- Pincas
- Laminas Imunoslides
- Navalhas e laminas 15
- Gazes
- Pinceis finos
- Tissue tek
- Camera para Fotos
- Régua
- Balanca
- Lápis preto
- Câmara úmida
- Caixa para laminas

1. Tirar o tecido do freezer  $-70^{\circ}$ .
2. Pesá-lo e usar uma câmera digital para tirar uma foto incluindo a leitura da pesagem.
3. Medir a dimensão do tecido e tirar uma foto indicando a orientação e a régua.
4. Montar o tecido sobre a base de corte, em seguida fixar a base sobre a máquina de corte. Tirar uma foto para lembrar a orientação do tecido na base. Para que possamos saber como orientar na lâmina.
5. Colocar a base do tecido no criostato Jung SM 3000 por cerca de 5-10 minutos a  $-20^{\circ}$ .
6. Espremer OCT na base do tecido até cobrir toda a superfície da base.
7. Depois que o OCT ficar branco. Espremer um pouco mais de OCT no topo do OCT congelado, colocar o tecido no OCT, usar uma lâmina limpa e pressioná-la contra o tecido até torna-la colada ao OCT total e uniformemente.
8. Espremer mais OCT até cobrir o tecido e esperar até ele ficar totalmente branco.
9. Montar a base para o criostato Jung. Ajustar a altura e a direção da base e do tecido.
10. Cortar o tecido na espessura desejada ( $50\ \mu\text{m}$ ) e colocar na lâmina (numerar a lamina antecipadamente). Cortar em  $10\ \mu\text{m}$  02 amostra de cada peça para coloracao em HE. Preparar tannem uma lamina para coloracao de um NERVO para controle da coloração com PGP
11. Colocar as lâminas na camera umida, em geladeira e realizar a coloração no dia seguinte.

### OBSERVAÇÕES OCORRIDAS DURANTE O CORTE DAS PECAS

---

---

---

---

---

---

---

---

## 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 aluminio 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: \_\_\_\_\_

**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 as 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-protger 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: