

Transplante homólogo de menisco: estudo experimental em coelhos*

RICARDO DE P.L. CURY¹, OSMAR P.A. CAMARGO², JOSÉ D. PRÓSPERO³, FLÁVIA C.S. BOTTER⁴, NILSON R. SEVERINO⁵, TATSUO AIHARA¹, VICTOR MARQUES DE OLIVEIRA¹

RESUMO

Avaliou-se a viabilidade do transplante de menisco congelado mediante um estudo experimental realizado em 12 coelhos. Após a retirada do menisco medial e manutenção à temperatura de -80°C por período de 30 dias, ele foi reimplantado em um coelho diferente. Após 60 dias os meniscos foram avaliados do ponto de vista macroscópico e histológico, comparando-os com o grupo controle (joelho ileso contralateral). Em 10 meniscos transplantados ocorreu cicatrização total e, em dois, parcial, da região periférica à membrana sinovial. O tamanho e o aspecto macroscópico foram os mesmos do grupo controle em oito meniscos. Os dois meniscos que apresentaram cicatrização parcial possuíam alteração morfológica, outro tinha tamanho menor e um quarto, solução de continuidade em seu terço médio. O aspecto histológico mostrou fibras colágenas com distribuição desordenada e a presença de dois tipos de células, os fibroblastos e os fibrocondrócitos, caracterizando o processo de remodelação típica do terceiro e quarto mês pelo qual passa o menisco após ser transplantado. Não foram evidenciadas características histológicas compatíveis com rejeição do enxerto.

Unitermos – Menisco; transplante homólogo; coelho

ABSTRACT

Meniscus allograft transplantation: an experimental study in rabbits

This experimental study was designed to evaluate the feasibility of frozen meniscus allograft transplantations in rabbits. The studied population consisted of 12 rabbits submitted to unilateral medial meniscectomy. The material was frozen at -80°C for 30 days and then re-implanted into a different rabbit. Sixty days after re-implantation the meniscus was removed for gross and microscopic analysis. Results were compared to the opposite untouched knee (control group). Ten of the transplanted menisci presented complete healing and, two only, partial healing of the area peripheral to the synovial membrane. The gross size and aspect of the meniscus were the same as those of the control group in eight specimens. The two menisci with partial healing presented morphological changes, another meniscus was smaller than its control, and a fourth meniscus was torn at the medial third. Histology showed collagenous fibers displayed in a random pattern and two types of cells, fibroblasts and fibrochondrocytes. These findings are typical of the remodeling that takes place in the meniscus three or four months after transplantation. There were no histologic findings suggesting rejection of the graft.

Key words – Meniscus; allograft transplantation; rabbit

* Trabalho realizado no Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (DOT-SCMSP) (Diretor: Prof. Dr. Osmar P.A. Camargo).

1. Assistente do Grupo do Joelho do DOT-SCMSP.
2. Consultor do Grupo do Joelho; Diretor do DOT-SCMSP.
3. Diretor do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

4. Médica Veterinária; Chefe do Biotério da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

5. Chefe do Grupo do Joelho do DOT-SCMSP.

Endereço para correspondência: Santa Casa de São Paulo, Rua Dr. Cesário Motta Jr., 112 – 01221-020 – São Paulo, SP. E-mail: cepwcpf@santacasa.org.br

Recebido em 24/1/02. Aprovado para publicação em 11/7/02. Copyright RBO2002

INTRODUÇÃO

Os meniscos são estruturas de vital importância para boa função e preservação da articulação do joelho. Na presença de lesão, a sutura é o tratamento de eleição, segundo a literatura^(1,2,3,4), porém, não é aplicável a todos os casos. Quando os critérios para sutura não forem preenchidos, a meniscectomia parcial ou total deve ser realizada. Apesar de os resultados desse procedimento a curto prazo serem satisfatórios^(5,6,7), principalmente devido à baixa morbidade cirúrgica e rápida reabilitação, as conseqüências a longo prazo relacionadas à degeneração articular são bastante conhecidas^(8,9).

Com o objetivo de evitar as conseqüências da meniscectomia, outra opção terapêutica pode ser utilizada. Trata-se do transplante de menisco, primeiramente realizada em pacientes, em 1984, por Milachowski *et al*⁽¹⁰⁾. Apesar de o transplante ser uma terapêutica recente, o aparecimento de uma opção que venha ocupar essa lacuna no tratamento das lesões de menisco faz com que o procedimento venha merecendo o interesse; vários estudos experimentais têm sido realizados, tentando responder a questionamentos e dúvidas. Com o intuito de melhor aprendizado e entendimento dessas questões, tais estudos têm-se mostrado aliados importantes e imprescindíveis para chegar a um transplante de menisco ideal.

Dessa maneira, optamos por realizar um trabalho experimental em coelhos, utilizando enxertos congelados mantidos a -80°C , que seriam retirados dos próprios animais e transplantados em coelhos diferentes, simulando os transplantes homólogos, com o objetivo de avaliar a viabilidade e os resultados deste transplante, procurando criar assim uma condição real, que seria no futuro a encontrada, quando empregada em humanos.

MATERIAL E MÉTODO

Utilizamos para nosso experimento, realizado na Unidade de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, 12 coelhos brancos e machos da raça Nova Zelândia. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, sob temperatura ambiente, com fornecimento de ração e água à vontade⁽¹¹⁾. Em todos os casos o menisco medial do joelho direito foi o experimental e, o do esquerdo, utilizado como grupo controle. O experimento foi dividido em três fases, realizadas durante um período total de três meses.

Fase 1: Realizada a retirada do menisco medial do joelho direito, armazenado em recipiente individual e mantido à temperatura de -80°C .

Fase 2: Após 30 dias da primeira fase, o menisco foi reimplantado em um coelho diferente, na ordem que se segue: menisco do coelho 1 reimplantado no coelho 2 e vice-versa; menisco do coelho 3 reimplantado no coelho 4 e vice-versa; e assim sucessivamente com os restantes.

Fase 3: Após 60 dias da segunda fase, os coelhos foram sacrificados e os meniscos submetidos a análise macroscópica. Foram avaliados o tamanho, o aspecto e a cicatrização periférica, sendo classificados como normais, quando apresentavam o mesmo tamanho e aspecto comparando-se com o grupo controle (joelho contralateral), e alterados, quando possuíam tamanho menor ou aspecto diferente. Quanto à cicatrização periférica, foi classificada como total, quando todo o menisco se encontrava fixo à sinovial, e parcial, quando pelo menos um dos terços do menisco não se apresentava aderido. Em seguida, os meniscos foram incluídos em parafina e realizado um corte no plano frontal em seu terço médio. Foram corados, então, pela hematoxilina-eosina e analisados sob aumento de 160x. Na análise microscópica, realizada no Serviço de Anatomia Patológica da Santa Casa de São Paulo, avaliaram-se a disposição das fibras colágenas, o tipo de célula encontrada e sua distribuição, e a presença ou não de processo inflamatório, que equivaleria a um sinal histológico de rejeição do transplante. A disposição das fibras colágenas foi classificada como ordenada ou não; quanto à distribuição das células, foi observado se elas se encontravam na periferia, nas superfícies tibial e femoral, na região central ou em todo o menisco.

Técnica cirúrgica

Fase 1: Os coelhos foram mantidos em jejum alimentar por um período de 12 horas e hídrico por seis horas. Previamente à anestesia, foi realizada antibioticoterapia com penicilina procainada (*Ariston*) na dose de 40.000U/kg/dia⁽¹²⁾, mantida por mais dois dias após o procedimento. Os animais foram também pesados, com variação de 2,6 a 3,4kg. Na anestesia, realizada pela médica veterinária, utilizou-se a associação de tiletamina e zolazepan (*Virbac*) na dose de 0,4ml/kg com fentanil-droperidol (*Janssen-Cilag*) na dose de 0,3ml/kg administrados na mesma seringa, via intramuscular, no membro posterior. Essa associação tem um período hábil de 40 a 60 minutos. Quando o procedimento ultrapassava esse período, uma segunda dose anes-

tésica era feita, utilizando-se metade da dose inicial. O animal foi mantido em respiração espontânea, com máscara de oxigênio com fluxo constante de 2,5 l/min⁽¹²⁾.

Com o coelho anestesiado realizamos a tricotomia de todo o membro posterior direito, desde a raiz da coxa até a pata do animal, sem porém incluí-la. Procedemos, então, à anti-sepsia com solução de polivinilpirrolidona-iodo (*Ceras Johnson*[®]) e, em seguida, à colocação de campos estéreis, deixando a pata do animal isolada com faixa de crepe. Iniciamos o procedimento através de uma incisão longitudinal parapatelar medial medindo em torno 4,0cm. Dissecamos o tecido celular subcutâneo, até a perfeita exposição da cápsula articular medial. Esta foi incisada juntamente com a membrana sinovial, seguindo-se os padrões da abertura da pele. Luxamos a patela lateralmente e flexionamos o joelho, obtendo assim boa exposição articular. Discreto esforço em valgo e flexão do joelho foram suficientes para conseguir a abordagem do menisco medial. Utilizamos bisturi lâmina nº 15 e tesoura de argola reta de 11cm para realização da menissectomia total. Após a sua retirada, os meniscos foram mensurados em seu maior eixo; o tamanho, em todos os animais, foi de aproximadamente 1cm. Os meniscos foram colocados em pequenos sacos feitos de papel e plástico estéreis com dimensões de 4 x 3cm, lacrados com esparadrapo, também estéril. Cada conjunto foi novamente armazenado em um novo invólucro de plástico duro, circular, de 5cm de comprimento. Após identificação com números para cada um dos meniscos, estes foram levados para o congelador (*Revco*[®]) da Unidade Estratégica do Serviço de Hematologia e Hemoterapia da Santa Casa de São Paulo, e mantidos à temperatura de -80°C.

Procedemos, então, à redução da luxação da patela e ao fechamento da cápsula articular e pele com pontos separados, com fio *mononylon* 5.0 preto (*Ethicon*[®]).

Após o procedimento, os animais foram levados para a sala de recuperação, onde observamos os tempos de período pós-anestésico. Com a recuperação total, eles foram devolvidos às suas gaiolas. Os animais foram mantidos à temperatura ambiente, alimentados com ração e água. Foram feitos curativos diários com soro fisiológico a 0,9%, mantidos sem oclusão, até a retirada dos pontos, no sétimo dia após a cirurgia.

Em todos os animais o pós-operatório evoluiu sem intercorrências, com curativos de bom aspecto e sem infecção.

Fase 2: Após 30 dias do primeiro procedimento, realizamos a segunda fase do experimento. Repetimos as etapas da primeira fase quanto a jejum, anestesia, antibioticoterapia,

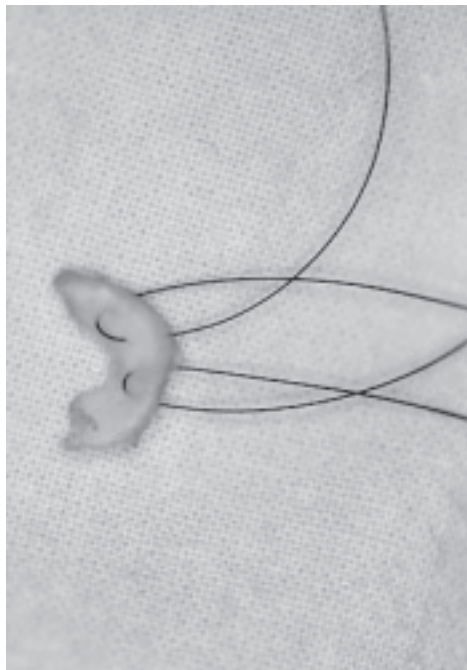


Fig. 1 – Preparação para sutura do menisco utilizando-se de fio *mononylon* 6.0. Passagem dos fios entre o corno anterior e terço médio do menisco e terço médio e corno posterior (fase 2).

Fig. 1 – Preparation for meniscal suture with a 6.0 nylon. The suture passes through the anterior horn and the medial third of the meniscus, and then from the medial third to the posterior horn (phase 2).

assepsia e anti-sepsia. O peso dos coelhos nesta fase variou de 3,7 a 4,2kg. Realizamos a mesma incisão de pele e abertura da cápsula articular com exposição do joelho através da luxação lateral da patela.

Os meniscos foram retirados do congelador e dos dois invólucros em que se mantinham armazenados, e colocados em um recipiente com solução salina (soro fisiológico a 0,9%) à temperatura ambiente, para que ocorresse seu descongelamento por um período de 20 minutos.

Em seguida, foram reimplantados em coelhos diferentes, sendo o menisco do coelho nº 1 colocado no nº 2, e vice-versa; o menisco nº 3 colocado no coelho nº 4 e vice-versa, e assim sucessivamente com o restante dos coelhos.

A sutura dos meniscos foi realizada através de pontos passados de dentro para fora da articulação⁽¹³⁾, utilizando-se de fio *mononylon* 6.0 preto (*Ethicon*[®]). Foram realizados dois pontos, o primeiro na região entre o corno anterior e o terço médio do menisco, e o segundo entre o terço médio e o corno posterior (fig. 1). Após a passagem dos pontos através da cápsula, afastamos a pele para a região posterior, obtendo assim perfeita visualização da saída dos quatro fios. Procedemos, então, à fixação do menisco através da amarração dos fios, que permaneceram no tecido celular subcutâneo.

O fechamento da cápsula, pele e curativo, seguiu os moldes da primeira fase. Mantivemos também o mesmo

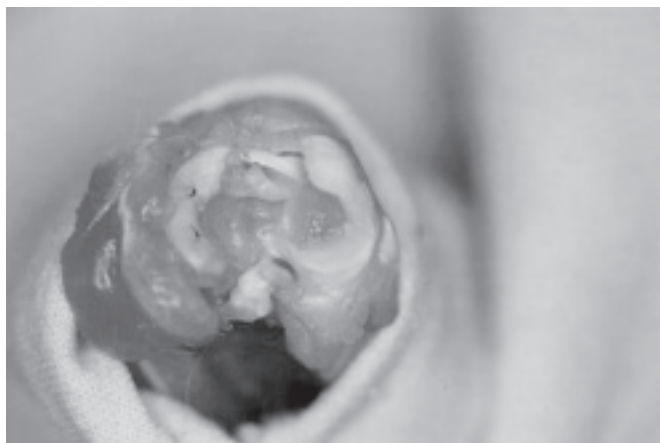


Fig. 2 – Aspecto macroscópico do menisco medial dois meses após transplante

Fig. 2 – Aspect of the medial meniscus two months after transplantation



Fig. 3 – Coelho 2: cicatrização parcial do menisco, com o corno posterior e terço médio desinseridos e fixos apenas pelo corno anterior. Pós-operatório dois meses após o transplante.

Fig. 3 – Rabbit no. 2 at two months post-transplantation: partial meniscal healing. Note the posterior horn and the medial third of the meniscus unattached, with only the anterior horn attached.

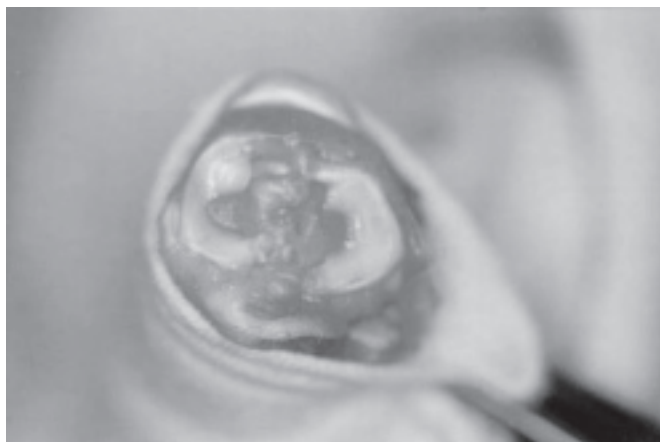


Fig. 4 – Aspecto macroscópico do menisco do joelho contralateral (grupo controle)

Fig. 4 – Aspect of the control meniscus of rabbit no. 2 (opposite knee)

protocolo quanto aos curativos e retirada de pontos. Da mesma maneira da fase anterior, não houve intercorrências pós-operatórias, com os curativos, de aspecto limpo e sem infecção.

Fase 3: Após 60 dias da segunda fase, os coelhos foram sacrificados com acepromazina (*Univet*®) 1mg/kg IM, como medicação pré-anestésica e, após 10 minutos, foi administrado o tiopental sódico (Abbott) em superdosagem de 30mg/kg intracardíaco⁽¹²⁾. Os meniscos foram assim submetidos à análise macroscópica e microscópica.

TABELA 1
Distribuição quanto à cicatrização periférica, tamanho e aspecto
Distribution according to peripheral healing, size and aspect

Menisco	Cicatrização periférica	Tamanho	Aspecto
1	Total	Normal	Normal
2	Parcial	Alterado	Alterado
3	Total	Normal	Normal
4	Parcial	Alterado	Alterado
5	Total	Alterado	Normal
6	Total	Normal	Normal
7	Total	Normal	Normal
8	Total	Normal	Alterado
9	Total	Normal	Normal
10	Total	Normal	Normal
11	Total	Normal	Normal
12	Total	Normal	Normal

Fonte: DOT-SCMSP

RESULTADOS

Macroscopia

Observamos que 10 dos 12 meniscos transplantados apresentavam cicatrização total, pois encontravam-se aderidos à cápsula articular através de sua porção periférica em toda

sua extensão (fig. 2). Dois meniscos (coelhos nº 2 e nº 4) apresentavam cicatrização parcial, com o corno posterior e terço médio desinseridos e fixos apenas pelo corno anterior (fig. 3).

Quanto ao tamanho, os meniscos que apresentaram cicatrização parcial (coelhos nº 2 e nº 4), além do coelho nº 5, possuíam comprimento menor (0,5; 0,3 e 0,7cm, respectivamente) quando comparados com o grupo controle (fig. 4). Os nove meniscos restantes possuíam dimensões semelhantes às dos meniscos controles.

Outro menisco (coelho nº 8) apresentou solução de continuidade em seu terço médio, estendendo-se até a periferia capsular. Contudo, os cornos anterior e posterior en-

contravam-se aderidos à sinovial e seu tamanho não se encontrava alterado (tabela 1).

Microscopia

Na avaliação histológica (tabela 2) de nosso experimento encontramos nos 12 meniscos a presença de dois tipos de células dispostas entre as fibras colágenas. Uma com núcleo circular, com característica compatível com o fibroblasto, e um segundo tipo de célula, com núcleo mais alongado e fusiforme, caracterizando o fibrocondrócito (fig. 5). Não houve, porém, o predomínio de um grupo sobre o outro em todas as lâminas analisadas. Quanto à distribuição, também não se evidenciou localização preferencial

TABELA 2
Distribuição quanto à orientação das fibras colágenas, tipo e distribuição celular e reação inflamatória
Distribution according to the orientation of collagen fibers, cell type and distribution, and inflammatory reaction

Menisco	Fibras colágenas	Células	Distribuição celular	Reação inflamatória
1	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
2	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
3	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
4	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
5	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
6	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
7	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
8	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
9	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
10	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
11	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente
12	Desordenadas	Fibroblastos e fibrocondrócitos	Global	Ausente

Fonte: DOT-SCMSP

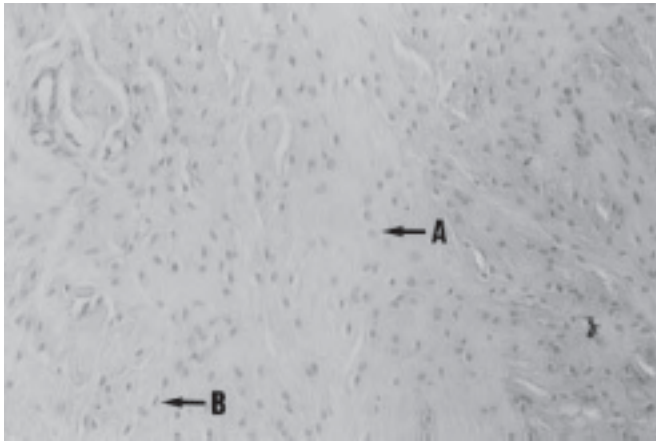


Fig. 5 – Histologia do menisco do coelho após dois meses do transplante. Aspecto desordenado das fibras colágenas e presença de fibroblastos (A) e fibrocondrócitos (B) (HE, 160x).

Fig. 5 – Histologic aspect of a rabbit meniscus two months after transplantation with a random distribution of collagen fibers. Note the fibroblasts (A) and fibrochondrocytes (B) (HE staining, 160x).

dos grupos celulares, seja na região periférica do menisco, ou na região central, e, sim, distribuição relativamente homogênea por todo o menisco.

Quanto à matriz extracelular, encontramos, em todas as lâminas, fibras colágenas dispostas de maneira irregular, em feixes desordenados (fig. 5), diferente da distribuição ordenada observada no grupo controle (fig. 6).

Em relação ao aspecto imunológico, não observamos, em nenhum dos meniscos transplantados, características histológicas compatíveis com rejeição do enxerto. Em apenas um menisco (coelho nº 10) encontramos a presença de alguns linfócitos dispostos entre as fibras colágenas. Porém, o aspecto geral não apresentava diminuição do número das células do menisco, nem hipertrofia sinovial, apenas um desarranjo nas fibras colágenas semelhante aos demais meniscos. Macroscopicamente, achava-se aderido à sinovial e de dimensões normais quando comparados com o grupo controle.

DISCUSSÃO

Segundo autores^(14,15,16), podemos observar nos meniscos de animais como cães, cabras e ovelhas um padrão histológico muito semelhante ao encontrado em humanos, caracterizado por um tecido fibrocartilaginoso, composto por entrelaçado de fibras colágenas interpostas por fibrocondrócitos. Ghadially *et al*⁽¹⁷⁾ descreveram em coelhos, que foi o animal utilizado em nosso experimento, o mesmo pa-



Fig. 6 – Histologia do menisco medial do joelho contralateral (grupo controle) (HE, 160x).

Fig. 6 – Histologic aspect of the medial meniscus of the opposite knee (control group) (HE staining, 160x).

drão histológico acima mencionado. Por serem animais de fácil obtenção, baixo custo de manutenção, de médio porte, facilitando o alojamento, tornou-se a nossa opção nessa pesquisa. Em relação ao tipo de enxerto empregado, existem na literatura três tipos mais utilizados para transplantes de menisco: os autólogos, os artificiais e os homólogos⁽¹⁸⁾, sendo o último grupo o grande alvo das pesquisas, por serem opções biológicas, apresentarem remodelação tanto nos estudos experimentais⁽¹⁶⁾ como nos achados clínicos⁽¹⁹⁾ e manterem as propriedades biomecânicas do menisco original. Porém, esses resultados estão também diretamente ligados à maneira pela qual os meniscos, após ser retirados de seu doador, são armazenados, podendo ser congelados (-80°C), criopreservados, liofilizados e frescos.

Em nosso experimento retiramos o menisco medial do joelho direito dos coelhos, na primeira fase, mantendo-os à temperatura de -80°C por 30 dias. Após esse período, os meniscos foram reimplantados em animais diferentes (segunda fase). Dessa maneira, procuramos reproduzir e simular as condições em que o enxerto homólogo congelado é realizado em humanos. Optamos por um enxerto biológico, que utiliza o próprio menisco, que, em condições de armazenamento (-80°C), cumpre as suas funções, além de possuir custo acessível.

Um dos pontos importantes na técnica cirúrgica realizada em pacientes, para o sucesso do procedimento, é a fixação estável dos enxertos. Em nosso experimento os meniscos foram fixados à cápsula articular através de duas suturas de dentro para fora⁽¹³⁾, utilizando-se de *mononylon* 6.0. A

primeira através do corno posterior e terço médio, e a segunda, através do terço médio e corno anterior. Essa foi a maneira realizada para estabilizar o menisco, já que, em um animal do porte de um coelho, a feitura de túneis tibiais torna-se um procedimento de difícil realização. Observamos que 10 dos 12 meniscos transplantados encontravam-se cicatrizados e aderidos à cápsula articular através de sua porção periférica. Dois meniscos (coelhos nº 2 e nº 4) apresentavam desinserção do corno posterior e terço médio, permanecendo fixos apenas pelo corno anterior. Um terceiro menisco (coelho nº 8) apresentou solução de continuidade em seu terço médio estendendo-se até a periferia capsular. Os cornos anterior e posterior encontravam-se fixos. Quanto ao tamanho do menisco, além da alteração citada nos espécimens anteriores, o coelho nº 5 possuía comprimento menor (0,7cm), comparando-se com o tamanho original. Os demais oito meniscos restantes possuíam as mesmas dimensões originais.

Nossos resultados coincidem com os trabalhos experimentais da literatura, que também mostram um índice alto de cicatrização do menisco ao hospedeiro, apesar de alguns casos de soltura do corno posterior^(14,16,20). Acreditamos que a não cicatrização do corno posterior não ocorreu em dois casos de nossa série (coelhos nº 2 e nº 4), principalmente, por problemas técnicos, em se tratando de casos operados na fase inicial da pesquisa, quando à pouca familiaridade com o procedimento se somava a fragilidade das duas suturas feitas com fio nº 6.0.

Na avaliação histológica, em nosso experimento encontramos dois tipos de células dispostas entre as fibras colágenas, o fibroblasto e o fibrocondrócito. Esse achado identifica um processo de diferenciação celular, já que o fibroblasto é uma célula precursora do fibrocondrócito. Quanto à distribuição, não se notou uma localização preferencial dos grupos celulares, seja na região periférica do menisco, ou na região central, e, sim, um aspecto relativamente homogêneo.

Uma das questões levantadas na literatura diz respeito ao processo de remodelação histológica pelo qual passa o menisco ao ser transplantado. Sabe-se que técnicas de armazenamento à temperatura de -80°C (menisco congelado) levam à morte de todas as células, porém sem alterar as características da matriz colágena⁽²¹⁾. Já os meniscos criopreservados possuem a capacidade de manter em torno de 10% das células de origem ao ser transplantados. Portanto, qual seria a origem das células encontradas nos meniscos transplantados? Seriam decorrentes de diferenciação de

células do próprio menisco? Seriam resultado da proliferação e diferenciação de células da membrana sinovial do hospedeiro em fibrocondrócitos? A tese mais aceita, confirmada por Arnoczky *et al*⁽¹⁴⁾, Jackson *et al*⁽¹⁵⁾ e também observada por outros autores como Mikic *et al*^(16,22) e Fabriciani *et al*⁽²¹⁾, é de que a reabitação do menisco ocorre através de células provenientes do hospedeiro, que invadem o transplante e se diferenciam em fibrocondrócitos. Arnoczky *et al*⁽¹⁴⁾, após eliminarem todas as células do menisco a ser transplantado, utilizando alta temperatura (196°C), observam e identificam os estágios de repopulação celular. Na primeira semana após o transplante, nenhuma célula foi observada no menisco. Em torno da segunda semana, notou-se a presença de células na superfície tibial e femoral do menisco, com concentração maior próxima à periferia sinovial. Eram de aspecto poligonal e mononucleares. Por volta do primeiro mês as células foram observadas por toda a superfície tibial e femoral, bem como em camadas mais profundas do menisco e também eram de aspecto poligonal. No terceiro mês, já havia uma distribuição mais homogênea, permanecendo acelular apenas o centro do menisco. As células eram de aspecto poligonal e também fusiformes (fibrocondrócitos). Por fim, no sexto mês, a maioria das células era composta por fibrocondrócitos, distribuídos por todo o menisco, com exceção da região central.

Esse movimento de migração de periferia para região central do menisco, sugerindo que a invasão celular seja feita pelo hospedeiro, é confirmado por Jackson *et al*⁽¹⁵⁾, que evidenciaram a presença do DNA do hospedeiro nas células do menisco transplantado, em trabalho experimental realizado em cabras. Debeer *et al*⁽²³⁾ comprovam os achados de Jackson⁽¹⁵⁾, agora através da análise de um menisco lateral criopreservado transplantado em um indivíduo de 32 anos. Um ano após o transplante, também encontraram o mesmo DNA do receptor no enxerto de menisco.

Apesar de nossos cortes histológicos terem sido realizados no segundo mês, eles se assemelham bastante aos achados descritos por Arnoczky *et al*⁽¹⁴⁾ no terceiro mês. A presença e a distribuição de fibroblastos e fibrocondrócitos por todo menisco sugerem que este esteja sofrendo um processo de reabitação celular e remodelação, mesmo que este processo não tenha sido confirmado em cortes histológicos em fases evolutivas.

Quanto à matriz extracelular, encontramos, em toda as lâminas, as fibras colágenas dispostas de maneira irregular, em feixes desordenados, diferente da distribuição or-

denada observada no menisco controle. Tal achado também é compatível com a literatura consultada. Arnoczky *et al*⁽¹⁴⁾ também observaram alteração na arquitetura do colágeno do menisco. Isso foi evidenciado através da perda da orientação normal de algumas fibras, tanto superficiais como profundas. Segundo os autores, essa desorganização, principalmente no terceiro mês, poderia representar uma alteração temporária decorrente de um processo de remodelação normal. Questionam se esse padrão tecidual estaria relacionado com a capacidade dos novos fibrocondrócitos de sintetizar matriz colágena normal. Porém, após seis meses o padrão encontra-se praticamente normal, não interferindo nas características biomecânicas do transplante.

Do ponto de vista imunológico, a reação contra o enxerto ocorre mais precisamente contra os antígenos presentes em sua células. As técnicas de armazenamento como congelamento e liofilização, que se caracterizam por levar à morte das células presentes, a princípio causariam menor reação imunológica do hospedeiro contra o enxerto. Associa-se a isso o fato de o menisco ser uma estrutura privilegiada por possuir densa matriz extracelular que isolaria as suas células do sistema imunológico do hospedeiro. Dessa maneira, sinais histológicos de reação imunológica contra enxertos congelados^(14,22,24) e mesmo os criopreservados⁽²⁵⁾ não foram encontrados nos trabalhos experimentais citados.

Em nossa revisão da literatura, os maus resultados clínicos não foram relacionados à reação imunológica contra o enxerto. Milachowski *et al*⁽¹⁰⁾ correlacionam seus três maus resultados, num total de 22 transplantes, com um caso de infecção e dois casos de instabilidade residual do LCA. Garrett *et al*⁽²⁶⁾, em sua série de 28 meniscos criopreservados e 16 congelados, acreditam que seus maus resultados ocorreram em transplantes realizados em articulações com alterações degenerativas avançadas. De Boer e Koudstaal⁽²⁷⁾ relatam três maus resultados num total de 25 enxertos criopreservados, sendo em dois por haver deformidade em varo associado e outro pela presença de instabilidade ligamentar.

Encontramos apenas um relato em nossa revisão bibliográfica no qual os autores⁽²⁸⁾ observam sinais evidentes de rejeição do menisco transplantado. Chamam a atenção para um transplante criopreservado de menisco realizado em um paciente de 33 anos, que após dez semanas de cirurgia apresentava quadro de dor importante. Submetido à retirada do enxerto, o que se observou na análise histológica foi a perda da orientação das fibras colágenas, com proliferação e

penetração da membrana sinovial no menisco. Havia diminuição importante no número de fibrocondrócitos, contrastando com um denso infiltrado linfocitário e algumas células gigantes. Esse aspecto, segundo os autores, seria típico de rejeição, apesar de não terem sido realizados testes de histocompatibilidade entre o doador e receptor.

Em relação aos nossos resultados, apenas um menisco (coelho nº 10) mostrou a presença de alguns linfócitos. Porém, o aspecto geral não apresentava hipocelularidade nem hipertrofia sinovial, apenas um desarranjo nas fibras colágenas compatível com o processo de remodelação no segundo mês. Macroscopicamente, achava-se aderido à sinovial e de dimensões normais, comparando com o grupo controle.

No restante dos meniscos não foram observadas alterações que sugerissem qualquer processo de rejeição ao enxerto.

A curto prazo, este experimento demonstrou a viabilidade de uma nova terapêutica cirúrgica, na tentativa da manutenção das funções dos meniscos. Trata-se do início de uma nova série de indagações sobre a integração do transplante a longo prazo, a conservação das qualidades físicas de tal enxerto e, portanto, de sua segura indicação dentro da cirurgia ortopédica.

CONCLUSÕES

- 1) O transplante homólogo de menisco congelado manteve as características biológicas do menisco original, em relação ao tamanho e aspecto, além de apresentar cicatrização periférica na membrana sinovial.
- 2) No transplante homólogo de menisco congelado, não foi evidenciado aspecto de rejeição imunológica, do ponto de vista histológico.
- 3) O transplante homólogo de menisco congelado após ser reimplantado sofre um processo de remodelação caracterizado pela presença de células precursoras ao fibrocondrócito, como o fibroblasto, e também pela disposição irregular das fibras colágenas, no 60º dia de pós-operatório.

REFERÊNCIAS

1. Sommerlath K., Hamberg P.: Proceeding of the International Society of the Knee. Healed meniscal tears in unstable knees – A seven-year follow-up. *Am J Sports Med* 15: 404-405, 1987.
2. Arciero R.A., Taylor S.C.: Inside-outside and all-inside meniscus repair: indications, techniques, and results. *Operat Tech Orthop* 5: 58-69, 1995.

3. Perdue Junior P.S., Hummer III C.D., Colosimo A.J., Heidt Junior R.S., Dormer S.G.: Meniscal repair: outcomes and clinical follow-up. *Arthroscopy* 12: 694-698, 1996.
4. Barret G.R., Field M.H., Treacy S.H., Ruff C.G.: Clinical results of meniscus repair in patients 40 years and older. *Arthroscopy* 14: 824-829, 1998.
5. McGinity J.B., Geuss L.F., Marvin R.A., Falls N.L.: Partial or total meniscectomy. *J Bone Joint Surg [Am]* 59: 763-766, 1977.
6. Northmore-Ball M.D., Dandy D.J., Jackson R.W.: Arthroscopic, open partial, and total meniscectomy. A comparative study. *J Bone Joint Surg [Br]* 65: 400-404, 1983.
7. Matsusue Y., Thomson N.L.: Arthroscopic partial medial meniscectomy in patients over 40 years old: a 5- to 11-year follow-up study. *Arthroscopy* 12: 39-44, 1996.
8. Fairbank T.J.: Knee joint changes after meniscectomy. *J Bone Joint Surg [Br]* 30: 664-670, 1948.
9. Tapper E.M., Hoover N.W.: Late results after meniscectomy. *J Bone Joint Surg [Am]* 51: 517-526, 1969.
10. Milachowski K.A., Weismeier K., Wirth C.J.: Homologous meniscus transplantation. Experimental and clinical results. *Int Orthop* 13: 1-11, 1989.
11. Harkness J.E., Wagner J.E.: "Biologia e manejo" in _____: *Biologia e clínica de coelhos e roedores*, 3ª ed. São Paulo, Roca, p. 9-19, 1993.
12. Harkness J.E., Wagner J.E.: "Procedimentos clínicos" in _____: *Biologia e clínica de coelhos e roedores*, 3ª ed. São Paulo, Roca, p. 57-77, 1993.
13. Henning C.E.: Arthroscopic repair of meniscus tears. *Orthopedics* 6: 1130-1132, 1983.
14. Arnoczky S.P., Dicarolo E.F., O'Brien S.J., Warren R.F.: Cellular repopulation of deep-frozen meniscal autografts: an experimental study in the dog. *Arthroscopy* 8: 428-436, 1992.
15. Jackson D.W., Whelan J., Simon T.M.: Cell survival after transplantation of fresh meniscal allografts. DNA probe analysis in a goat model. *Am J Sports Med* 21: 540-550, 1993.
16. Mikic Z.D., Brankov M.Z., Tubic M.V., Lazetic A.B.: Allograft meniscus transplantation in the dog. *Acta Orthop Scand* 64: 329-332, 1993.
17. Ghadially F.N., Thomas I., Yong N., Lalonde J.M.A.: Ultrastructure of rabbit semilunar cartilages. *J Anat* 125: 499-517, 1978.
18. Stone K.R.: Meniscus replacement. *Clin Sports Med* 15: 557-571, 1996.
19. De Boer H.H., Koudstaal J.: The fate of meniscus cartilage after transplantation of cryopreserved nontissue-antigen-matched allograft. A case report. *Clin Orthop* 266: 145-151, 1991.
20. Arnoczky S.P., Warren R.F., McDevitt C.A.: Meniscal replacement using a cryopreserved allograft. An experimental study in the dog. *Clin Orthop* 252: 121-128, 1990.
21. Fabbriani C., Lucania L., Milano G., Panni A.S., Evangelisti M.: Meniscal allografts: cryopreservation vs deep-frozen technique. An experimental study in goats. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 5: 124-134, 1997.
22. Mikic Z.D., Brankov M.Z., Tubic M.V., Lazetic A.B.: Transplantation of fresh-frozen menisci: an experimental study in dogs. *Arthroscopy* 13: 579-583, 1997.
23. Debeer P., Decorte R., Delvaux S., Bellemans J.: DNA analysis of a transplanted cryopreserved meniscal allograft. *Arthroscopy* 16: 71-75, 2000.
24. Cummins J.F., Mansour J.N., Howe Z., Allan D.G.: Meniscal transplantation and degenerative articular change: an experimental study in a rabbit. *Arthroscopy* 13: 485-491, 1997.
25. Schmidt M.B., Arnoczky S.P., Mow V.C., Warren R.F.: Biomechanical evaluation of cryopreserved meniscal allografts. *Trans Orthop Res Soc* 11: 458, 1986.
26. Garrett J.C.: Free meniscal transplantation. A prospective study of 44 cases. *Arthroscopy* 9: 368-369, 1993.
27. De Boer H.H., Koudstaal J.: Failed meniscus transplantation. A report of three cases. *Clin Orthop* 306: 155-162, 1994.
28. Hamlet W., Liu S.H., Yang R.: Destruction of a cryopreserved meniscal allograft: a case for acute rejection. *Arthroscopy* 13: 517-521, 1997.