

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA/MESTRADO**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA**

**CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCOMAXILOFACIAL**

**INFLUÊNCIA DA CONDILOTOMIA SOBRE A ARTICULAÇÃO  
TEMPOROMANDIBULAR DE COELHOS COM OSTEOARTRITE  
QUIMICAMENTE INDUZIDA**

**FELIPE ERNESTO ARTUZI CD**

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Edela Puricelli

**Linha de pesquisa:** Biomateriais e técnicas terapêuticas em Odontologia

**Porto Alegre  
2012**

**FELIPE ERNESTO ARTUZI CD**

**INFLUÊNCIA DA CONDILOTOMIA SOBRE A ARTICULAÇÃO  
TEMPOROMANDIBULAR DE COELHOS COM OSTEOARTRITE  
QUIMICAMENTE INDUZIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia/Mestrado, da Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Edela Puricelli.

**Porto Alegre  
2012**

Aos meus pais **ADI** e **TERESINHA**,  
por serem pessoas incansáveis na busca do melhor para mim e para os meus  
irmãos, pelas palavras de incentivo e, acima de tudo, pelo amor incondicional.  
Meus eternos agradecimentos por proporcionarem a minha formação  
profissional...

**A VOCÊS DEDICO ESTE TRABALHO.**

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **EDELA PURICELLI**, minha orientadora e referência mundial na Odontologia, pelo exemplo de pessoa dedicada e competente. Agradeço pelo acolhimento e o incentivo permanente na busca da excelência profissional. Pela confiança depositada no desenvolvimento deste trabalho, assim como, pelas lições de profissionalismo, ética e amizade.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus queridos irmãos **VANESSA** e **CARLOS EDUARDO**, por existirem e serem, além de irmãos, verdadeiros amigos, companheiros e compreensivos. Por não medirem esforços nos momentos em que precisei.

À minha tia e madrinha, **LOURDES ARTUZI**, pela dedicação, amor e cuidado, sendo considerada minha segunda mãe. Pela convivência muito próxima à família e disponibilidade em todos os momentos.

A todos os familiares, pela proximidade nas relações, desde a minha infância e pelo incentivo em relação ao meu crescimento profissional.

Aos meus avós maternos e paternos (*in memoriam*), pelo amor e atenção a mim dedicados, por terem sido pessoas simples e que contribuíram para a formação do meu caráter. Pelos exemplos de união familiar e perseverança.

Ao meu cunhado **MARCELO** e à família **CRESCENTE DE SOUZA**, pela amizade, convívio e pelos momentos de alegria.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **DEISE PONZONI**, pelo exemplo de seriedade e dedicação. Pelos ensinamentos tão valiosos para a minha formação profissional, transmitidos desde o meu curso de graduação. Por ser uma pessoa muito querida e próxima durante o mestrado, aumentando a minha admiração e respeito.

Aos professores da Cirurgia, Prof. Dr. **CARLOS EDUARDO ESPINDOLA BARALDI**, Prof. Dr. **MARCEL FASOLO DE PARIS** e Prof. Dr. **ÂNGELO LUIZ FREDDO**, pela amizade e pelo conhecimento transmitido durante a nossa convivência nos ambulatórios e blocos cirúrgicos.

À **ISABEL PUCCI**, pelo acolhimento e confiança depositados em mim. Agradeço por incentivar e possibilitar o meu crescimento profissional. Por abraçar e defender de modo persuasivo a Odontologia.

Aos colegas de mestrado **MAÍRA** e **RENAN**, por acompanharem de perto todo o desenvolvimento do meu trabalho. Pela amizade conquistada e auxílio em todos os momentos que precisei. Desejo-lhes sucesso nesta nova etapa.

À Enfermeira **MARTA GIOTTI CIOATO**, à Médica Veterinária **FABÍOLA SCHONS MEYER** e a toda à equipe de profissionais da Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/UFRGS, agradeço por não terem medido esforços em viabilizar este trabalho, pela amizade formada, pelos momentos de convívio e alegria compartilhados durante a fase de realização dos procedimentos cirúrgicos.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **LUISE MEURER**, pela disponibilidade e orientação na interpretação das lâminas histológicas. Ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/UFRGS, juntamente com os técnicos em histologia, **FLÁVIA**, **JORGE** e **SOLANGE**, pelo convívio e por terem reservado um pouco do seu tempo na elaboração do material de pesquisa.

Aos amigos e novos colegas de mestrado **VIVIANE PACHECO** e **JULES BEMFICA**, pela amizade e por serem pessoas extremamente prestativas em todas as atividades da Pós-Graduação.

Aos bolsistas da disciplina de Cirurgia, **ALESSANDRA** e **RAFAEL**, pelo auxílio nos procedimentos cirúrgicos e na preparação das peças histológicas.

Aos funcionários do Bloco Cirúrgico e da Zona 18 do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/UFRGS, pessoas que conheci no período do mestrado. Pelo auxílio e dedicação, tornando a caminhada mais bonita e agradável.

Aos meus amigos e colegas Cirurgiões-Dentistas da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, pelas contribuições valiosas quanto ao conhecimento transmitido em relação à profissão. Pela amizade, convívio e pela compreensão das minhas ausências motivadas por este trabalho.

Aos funcionários das Disciplinas de Cirurgia Bucomaxilofacial da Faculdade de Odontologia da UFRGS: **VERA**, **LOPES**, **MARLI** e **LURDES**, pela atenção prestada e amizade cultivada durante toda a fase de minha formação acadêmica.

Às Bibliotecárias da Faculdade de Odontologia da UFRGS, **REJANE**, **ELOÍSA** e **IDA**, pelo constante auxílio na busca de artigos científicos utilizados na elaboração desta dissertação.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial à Faculdade de Odontologia e ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por possibilitarem a minha formação e contribuírem para o desenvolvimento do ensino, da pesquisa e da extensão em saúde.

Aos amigos, que pacientemente dividiram os momentos pelos quais vivenciei neste período do curso de mestrado, agradeço pelo incentivo e apoio.

Ao Programa **REUNI** e ao **FIPE-Fundo de Incentivo à Pesquisa do HCPA/UFRGS**, pela ajuda financeira concedida, permitindo que eu pudesse me dedicar aos estudos e desenvolver esta dissertação.

A todos que direta ou indiretamente participaram da elaboração deste trabalho,

**Muito obrigado...**

## RESUMO

ARTUZI, Felipe Ernesto. **Influência da Condilotomia sobre a Articulação Temporomandibular de Coelhos com Osteoartrite Quimicamente Induzida**. 2012. 86f. Dissertação – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

**Introdução:** A osteoartrite (OA) é caracterizada como sendo uma doença degenerativa das articulações, apresentando uma reação inflamatória de baixo grau. Dependendo da severidade da osteoartrite, os tratamentos podem ser cirúrgicos ou não cirúrgicos. A condilotomia é uma opção de técnica cirúrgica sem interposição articular, em que se realiza uma fratura guiada, a partir de uma osteotomia oblíqua no processo condilar da mandíbula. Após a cirurgia, o côndilo assume uma posição mais anterior e inferior, com recaptura do disco, possibilitando funcionalidade articular e processo de reparo. **Proposição:** O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da condilotomia nas estruturas teciduais do côndilo da articulação temporomandibular de coelhos portadores de osteoartrite quimicamente induzida. **Materiais e métodos:** Foram utilizados dois grupos de animais com degeneração de articulação temporomandibular (ATM) quimicamente induzida. O grupo controle (n=15) acompanhou o grupo teste conforme os tempos de morte dos animais. O grupo teste (n=15) foi submetido à fratura cirúrgica guiada do côndilo mandibular, após 40 dias a partir da indução da doença. A análise histológica da superfície do côndilo mandibular foi realizada considerando-se a severidade da osteoartrite, por meio do escore proposto por Pritzker *et al.* (2006). Realizou-se a quantificação de colágeno tipo I na camada da cartilagem articular por meio da coloração de Picrossírius, sob efeito de luz polarizada. Os animais foram mortos nos tempos de 20, 40 e 60 dias após a cirurgia. **Resultados:** A severidade da osteoartrite observada na articulação temporomandibular dos animais do grupo teste no tempo de 60 dias foi comparativamente menor em relação ao grupo teste no tempo de 20 dias e ao grupo controle no tempo de 60 dias. Observou-se um grau maior na severidade da OA no grupo teste de 20 dias em comparação ao grupo controle no mesmo tempo avaliado. A quantidade de colágeno tipo I na camada de cartilagem do grupo controle foi menor em relação ao grupo teste, principalmente na região anterior do côndilo mandibular no grupo controle de 60 dias. **Conclusão:** A condilotomia é uma técnica cirúrgica eficaz na redução da severidade da osteoartrite quimicamente provocada na superfície condilar da ATM de



coelhos. O colágeno tipo III, predominante na camada de cartilagem das articulações com osteoartrite, foi substituído por colágeno tipo I, após a realização da condilotomia.

**Palavras-chave:** osteoartrite, osteotomia, cômulo mandibular, cartilagem articular

## ABSTRACT

ARTUZI, Felipe Ernesto. **Influence of Condylotomy on Temporomandibular Joint Osteoarthritis of Chemically Induced Rabbits**. 2012. 86f. Dissertação – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

**Background:** Osteoarthritis (OA) is a degenerative joint disease, associated with low-grade inflammation. Treatment involves non-surgical and surgical options, depending on the severity of OA. Condylotomy is an alternative procedure that does not require articular interposition, in which an oblique osteotomy of the mandibular condyle is performed to guide the fracture. After surgery, the condyle shifts to an anterior-inferior position, with disk recapture, allowing joint functionality and repair process. **Purpose:** This study aimed to evaluate the effects of condylotomy on tissue structures of the temporomandibular joint (TMJ) condyle in rabbits with chemically induced OA. **Materials and methods:** Animals with chemically induced temporomandibular joint (TMJ) degeneration were divided into two groups: control group (n=15), which followed the experimental group as for the time points when deaths occurred; and experimental group (n=15), which underwent surgical fracture guided by osteotomy of the mandibular condyle 40 days after disease induction. Histological analysis of the articular surface of the mandibular condyle was performed considering the severity of OA, using the grading system proposed by Pritzker *et al.* (2006). The Picrosirius-polarization method was used to quantify type I collagen in the articular cartilage. The animals were killed 20, 40 and 60 days after surgery. **Results:** The severity of OA in the TMJ of experimental animals at day 60 was comparatively lower than that of experimental animals at day 20 and controls at day 60. Experimental animals showed a higher OA severity grade than controls at day 20. The amount of type I collagen in the articular cartilage of control animals was lower than that of experimental animals, especially in the anterior region of the mandibular condyle of controls at day 60. **Conclusion:** Condylotomy is an effective surgical technique for reducing the severity of chemically induced OA in the condylar surface of the rabbit TMJ. Type III collagen, which predominates in osteoarthritic articular cartilage, was replaced by type I collagen after condylotomy was performed.

**Keywords:** osteoarthritis, osteotomy, mandibular condyle, articular cartilage.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Monoiodoacetato de sódio.....	30
Figura 2 – Fórmula estrutural do monoiodoacetato de sódio.....	30
Figura 3 - ATM de coelho do estudo piloto, 40 dias pós indução de OA. Observa-se degeneração da camada de cartilagem (b). Área remanescente de cartilagem (a). Áreas de ossificação superficiais (*). Degeneração de condrócitos (seta vermelha). Camada reduzida de tecido conjuntivo fibroso (seta preta).....	34
Figura 4 - Crânio seco. A: Traço da osteotomia vertical oblíqua no ramo mandibular com afastamento dos segmentos ósseos em 4mm (seta). Fixação padrão dos segmentos ósseos. B: Posição do segmento proximal, com avanço do côndilo mandibular. ....	14
Figura 5 - Localização anatômica da ATM para injeção do monoiodoacetato de sódio.....	36
Figura 6 - Pré-operatório. Coelho sob efeito de anestesia geral com intubação orotraqueal. Área operatória após tricotomia. ....	37
Figura 7 - Paramentação completa da equipe durante o procedimento cirúrgico.....	38
Figura 8 - Procedimento cirúrgico da Condilotomia. Definição da linha de incisão externa (A); descolamento do músculo masseter e exposição do ramo mandibular (B); delimitação de 2 mm entre os traços das osteotomias (C); segmento ósseo liberado (D); segmentos mobilizados (E), microplaca e microparafusos fixando o segmento proximal em posição anteriorizada, segundo protocolo do estudo (F). ....	39
Figura 9 - Sistema de fixação interna rígida utilizada (microplaca 1.5 x 20 mm e microparafusos 1.5 x 3.5 mm).....	39
Figura 10 - Peças operatórias. Crânio seccionado no sentido sagital antes e depois da fixação em formalina. A: Anatomia do músculo masseter (seta branca). B: Normoclusão e adaptação da miniplaca. Observa-se osso neoformado (setas pretas). ....	41
Figura 11 - Côndilo mandibular sem osteoartrite. Exemplo para o destaque das regiões anterior (1), central (2) e posterior (3), 40x, Picrossírius. ....	43
Figura 12 - Côndilo mandibular sem osteoartrite. Observa-se a conformação normal da superfície e a intensidade da coloração da cartilagem por safranina-O (seta), evidenciando normal quantidade de proteoglicanos, 40x, Safranina-O. ....	44
Figura 13 - Côndilo mandibular sem osteoartrite. Observa-se a intensa coloração de safranina-O na cartilagem, evidenciando a presença normal de proteoglicanos. A: componente temporal (a), disco articular (b), presença marcante da safranina-O na cartilagem (seta), 100x. B: Disco articular (a), superfície com contorno regular (b), disposição normal de células na camada hipertrófica (seta), 200x, Safranina-O. ....	45
Figura 14 – Gráfico Box-Plot representando as medianas para a avaliação da severidade da OA nos diferentes grupos, por meio do escore de Pritzker, <i>et al.</i> (2006).....	46

Figura 15 - ATM GC <sub>20</sub> . Superfície articular do côndilo. Observa-se irregularidade superficial (a); componente temporal (b); osteófitos em formação (setas), 40x, Safranina-O.....	47
Figura 16 - ATM GC <sub>20</sub> . A: Aspecto da camada de cartilagem condilar. Redução acentuada de proteoglicanos, evidenciada pela discreta coloração de safranina-O (a), matriz extracelular com redução na quantidade de proteoglicanos (b), 200x. B: Áreas de ossificação na região superficial do côndilo, com presença de osteoblastos (seta vermelha), tecido cartilaginoso, evidenciado pela intensa coloração de safranina-O (seta preta), 100x, Safranina-O. ....	48
Figura 17 - ATM GC <sub>20</sub> . Disco articular rompido, com formação condroplásica (a). Osteófito em formação (b). Irregularidade da superfície, com perda da camada de cartilagem (seta), 100x, Safranina-O.....	48
Figura 18 - ATM GC <sub>20</sub> . Redução na espessura da camada de cartilagem (setas pretas), apresentando áreas de ossificação (setas vermelhas), 200x, Safranina-O. ....	49
Figura 19 - ATM GC <sub>20</sub> . Fenda na camada de cartilagem, atingindo o tecido ósseo subcondral (seta). Áreas de ossificação (*), 100x, Safranina-O. ....	49
Figura 20 - ATM GC <sub>20</sub> . Fibrilação invadindo a camada hipertrófica da cartilagem (seta). Redução do número de células na região superficial (*), 200x, Safranina-O.....	50
Figura 21 - ATM GC <sub>40</sub> . Observa-se irregularidade do côndilo, com delgada camada de tecido conjuntivo recobrendo a superfície óssea (seta). Desprendimento de um fragmento de cartilagem (*), 40x, Safranina-O. ....	50
Figura 22 - ATM GC <sub>40</sub> . Fibrilação atingindo a região do tecido ósseo subcondral (seta), 200 x, Safranina-O.....	51
Figura 23 - ATM GC <sub>60</sub> . Observa-se achatamento das superfícies articulares; disco articular rompido (a); redução na coloração de safranina-O devido à perda de proteoglicanos (seta vermelha), erosão da superfície (seta preta), cisto (*), 40x, Safranina-O. ....	52
Figura 24 - ATM GC <sub>60</sub> . Observa-se reduzida coloração por safranina-O (seta preta), fenda (seta vermelha), fibrilação (*), 100x, Safranina-O. ....	52
Figura 25 - ATM GC <sub>60</sub> . Observa-se erosão com desnudamento da superfície e exposição de trabéculas ósseas (seta), 200x, Safranina-O. ....	52
Figura 26 - ATM GC <sub>60</sub> . A: Observa-se área de erosão na cartilagem articular (seta). B: presença de aglomerados celulares (setas), próximos à região com reduzida quantidade de células (a), 400x, Safranina-O. ....	53
Figura 27 - ATM GT <sub>20</sub> . Observa-se achatamento condilar e irregularidade da superfície articular (setas), 40x, Safranina-O. ....	53
Figura 28 - ATM GT <sub>20</sub> . Região superficial do côndilo. Observa-se ausência da camada de cartilagem. Recobrimento da superfície óssea por tecido conjuntivo denso (a), tecido ósseo subcondral (b), 100x, Safranina-O. ....	54

- Figura 29 - ATM GT<sub>20</sub>. Região superficial do côndilo mandibular, mostrando áreas de ossificação em meio à região fibrosa (setas pretas). Presença de vasos sanguíneos em meio ao tecido conjuntivo denso (setas vermelhas), 200x, Safranina-O.....54
- Figura 30 - ATM GT<sub>20</sub>. Presença de osteoclastos na região anterior do côndilo mandibular (setas pretas) e osteoblastos (setas vermelhas), evidenciando intenso remodelamento ósseo, 400x, Safranina-O.....55
- Figura 31 - ATM GT<sub>20</sub>. Região superficial do côndilo mandibular apresentando espessa camada de fibras, com ausência de cartilagem; presença de vasos sanguíneos (setas), 200x, Safranina-O.....55
- Figura 32 - ATM GT<sub>40</sub>. Região superficial do côndilo. Observa-se redução de coloração por Safranina-O na camada de cartilagem (setas), 40x, Safranina-O.....56
- Figura 33 - ATM GT<sub>40</sub>. Superfície condilar evidenciando a perda da coloração por Safranina-O (setas), 200x, Safranina-O.....56
- Figura 34 - ATM GT<sub>60</sub>. Processo de reparo avançado na superfície articular. Área de interrupção da camada de cartilagem na região anterior do côndilo (seta preta), camada de cartilagem (setas vermelhas), 40x, Safranina-O.....57
- Figura 35 - ATM GT<sub>60</sub>. Área de ausência da camada de cartilagem (seta preta), região de tecido cartilaginoso (seta vermelha), 100x, Safranina-O.....57
- Figura 36 – Gráfico Box-Plot representando as medianas para a quantificação de colágeno tipo I na região anterior do côndilo. ....60
- Figura 37 – Gráfico Box-Plot representando as medianas para a quantificação de colágeno tipo I na região central do côndilo. ....60
- Figura 38 – Gráfico Box-Plot representando as medianas para a quantificação de colágeno tipo I na região posterior do côndilo.....61
- Figura 39 - ATM GC<sub>60</sub>. Observa-se reduzida birrefringência de coloração vermelho-alaranjada em toda a extensão do côndilo mandibular (setas), evidenciando perda de colágeno, 40x, Picrossírius. ....61
- Figura 40 - ATM GC<sub>40</sub>. Reduzida espessura da camada de cartilagem (seta), com marcada presença de colágeno tipo III, evidenciada pela birrefringência de coloração esverdeada. Região central do côndilo, 200x, Picrossírius. ....62
- Figura 41 - ATM GT<sub>60</sub>. Presença de intensa birrefringência de coloração vermelho-alaranjada em toda a extensão da superfície do côndilo mandibular (seta), evidenciando a presença do colágeno tipo I, 40x, Picrossírius. ....62
- Figura 42 - ATM GT<sub>20</sub>. Região central do côndilo mandibular com recobrimento por tecido fibroso (seta). Presença de fibras grossas na camada de cartilagem, evidenciadas pela

birrefringência vermelho-alaranjada e características do colágeno tipo I (\*), 200x, Picrossírius. .... 63

Figura 43 - ATM GT<sub>20</sub>. Região central do côndilo mandibular, mostrando recobrimento por tecido fibroso (a) e discreta quantidade de cartilagem (setas), com presença de birrefringência vermelho-alaranjada. Tecido ósseo subcondral (\*), 200x, Picrossírius. .... 63

Figura 44 - ATM GT<sub>60</sub>. Região posterior do côndilo mandibular. Presença de birrefringência com coloração vermelho-alaranjada. Espessura normal da camada de cartilagem (seta), 200x, Picrossírius. .... 64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Cronologia experimental e divisão dos grupos estudados. Fase I: tempos de indução e realização da cirurgia. Fase II: tempos de eutanásia dos animais.....	35
Tabela 2 - Comparações entre medianas, em função de grupo e tempo para análise do escore proposto por Pritzker <i>et al.</i> ,(2006).....	47
Tabela 3 - Comparações entre medianas, em função de grupo e tempo para a quantificação de colágeno tipo I nas diferentes regiões do côndilo mandibular. ....	58
Tabela 4 - (Anexo I): Comparações entre medianas, em função de grupo e tempo (Região 1, anterior do côndilo mandibular).....	80
Tabela 5 - (Anexo I): Comparações entre medianas, em função de grupo e tempo (Região 2, central do côndilo mandibular).....	81
Tabela 6 - (Anexo I): Comparações entre medianas, em função de grupo e tempo (Região 3, posterior do côndilo mandibular).....	82

## LISTA DE ANEXOS

Anexo I: Tabelas referentes à quantificação de colágeno do tipo I na superfície do côndilo mandibular .....	80
Anexo II: Quadro referente ao escore proposto por Pritzker et al., (2006) para determinação de severidade da osteoartrite.....	83
Anexo III: Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais do HCPA .....	86



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATM	Articulação Temporomandibular
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
EPI	Equipamento de Proteção Individual
Fig.	Figura
G	Gauge
GC	Grupo Controle
GPPG	Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação
GT	Grupo Teste
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
IV	Intravenosa
MEC	Matriz extracelular
mg	Miligrama
mm	Milímetro
µl	Microlitro
MIA	Monoiodoacetato de sódio
N	Newton
OA	Osteoartrite
UEA	Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UPE	Unidade de Patologia Experimental

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	20
1.1	Articulação Temporomandibular (ATM).....	20
1.2	Osteoartrite .....	22
1.3	Condilotomia.....	24
1.4	Colágeno da ATM.....	27
1.5	Modelo animal.....	28
1.6	Monoiodoacetato de sódio (MIA).....	29
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	32
2.1	Objetivo geral .....	32
2.2	Objetivos específicos.....	32
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	33
3.1	Locais de realização.....	33
3.2	Cálculo amostral .....	33
3.3	Estudo piloto.....	33
3.4	Grupos de estudo e desenho experimental .....	34
3.5	Injeção do monoiodoacetato de sódio na cavidade articular.....	35
3.6	Acesso cirúrgico para a realização da condilotomia .....	36
3.7	Cuidados pós-operatórios .....	39
3.8	Preparo histológico .....	40
3.9	Análise dos resultados .....	41
3.9.1	Análise histológica .....	41
3.9.2	Análise estatística .....	42
3.9.3	Considerações éticas.....	42
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	44
4.1	Análise histológica do côndilo mandibular .....	44
4.2	Quantificação do colágeno tipo I no côndilo mandibular.....	58
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	65
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	72
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	73
	<b>ANEXOS</b> .....	79

Anexo I - Tabelas referentes à quantificação de colágeno do tipo I na superfície do côndilo mandibular.....	80
Anexo II - Quadro referente ao escore proposto por Pritzker et al., (2006) para determinação de severidade da osteoartrite.....	83
Anexo III - Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais do HCPA.....	86

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Articulação temporomandibular (ATM)

A articulação temporomandibular (ATM) é uma diartrose bilateral entre os côndilos da mandíbula, as eminências articulares do osso temporal e as fossas mandibulares (AVERY, 2005). As duas articulações presentes, embora anatomicamente distintas, funcionam em conjunto, sem a realização de movimentos independentes (TEN CATE, 2008).

A ATM é classificada como sendo do tipo sinovial, que geralmente permite movimentos significativos. Nela, dois ossos são unidos e circundados por uma cápsula e, desse modo, criam uma cavidade articular. Esta é preenchida por líquido sinovial e formada por uma membrana sinovial que reveste as superfícies não articulares. O processo mastigatório exige que a mandíbula seja capaz de realizar não somente movimentos de abertura e fechamento, mas também protrusivos, retrusivos, laterais e uma combinação deles. Para consegui-los, o côndilo realiza movimentos de translação e rotação (TEN CATE, 2008).

As estruturas ósseas da ATM são a fossa glenóide no osso temporal e a cabeça do côndilo da mandíbula, suportado pelo processo condilar. Anteriormente, a fossa é limitada por uma crista óssea, descrita como eminência articular, também envolvida na articulação. O côndilo é a superfície articulante da mandíbula. A superfície articular da cabeça do côndilo é bastante convexa ântero-posteriormente e levemente convexa médio-lateralmente (TEN CATE, 2008). Ela cresce pelo desenvolvimento de novos condroblastos, que aparecem dispersos na camada de cartilagem. Posteriormente, há o surgimento de nova matriz de cartilagem e substituição por osso, ocorrendo uma ossificação do tipo endocondral (AVERY, 2005).

A cartilagem articular é uma forma especializada de tecido conjuntivo formada por uma matriz extracelular e por condrócitos. A matriz extracelular da cartilagem articular é composta por água, colágeno, proteoglicanos, glicoproteínas estruturais, e pequenas quantidades de lipídios e componentes inorgânicos. Os proteoglicanos são macromoléculas complexas e consistem de uma proteína principal associada aos glicosaminoglicanos (DIJKGRAAF, *et al.*, 1995a).

Diferentemente da maioria das articulações sinoviais, em que as superfícies articulares são cobertas com cartilagem hialina, a articulação temporomandibular é coberta por uma camada de fibrocartilagem. A camada articular fibrosa, superficialmente inserida, é

composta por fibroblastos e fibrócitos dispersos em meio a colágeno principalmente do tipo I, podendo ocorrer, com a idade, o aparecimento de células cartilaginosas. (TEN CATE, 2008).

A fibrocartilagem é uma combinação de tecido conjuntivo denso regular e cartilagem hialina. Em um corte contendo fibrocartilagem, podem ser observados condrócitos e uma pequena quantidade de material amorfo da matriz circunvizinha. Dentro das áreas fibrosas existem núcleos que estão achatados ou alongados, correspondendo aos fibroblastos. A matriz extracelular da fibrocartilagem contém quantidades significativas de colágeno tipo I, característico da matriz de tecido conjuntivo, e de colágeno tipo II, característico da cartilagem hialina. As células na fibrocartilagem sintetizam uma ampla variedade de moléculas da matriz extracelular, permitindo que o tecido responda às alterações no ambiente externo (ROSS, PAWLINA, 2009).

A cartilagem condilar consiste, essencialmente, em uma camada proliferativa de células replicantes que funcionam como células progenitoras para o crescimento tecidual. Esta camada fornece células que são capazes de se diferenciar em fibroblastos e em condrócitos. Os condroblastos elaboram uma matriz extracelular de proteoglicanos e colágeno tipo II. Ao mesmo tempo, há um aumento no tamanho dos condroblastos, formando a camada hipertrófica. Após a produção dessa cartilagem, ocorre ossificação endocondral que envolve a mineralização da cartilagem (zona de cartilagem calcificada), invasão vascular, perda dos condrócitos e diferenciação dos osteoblastos, para produzir osso sobre a estrutura cartilaginosa mineralizada. Assim, a cabeça do côndilo mandibular tem uma capacidade de crescimento multidirecional. A cartilagem pode se proliferar em qualquer combinação de direção superior e posterior de acordo com a necessidade de fornecer a melhor posição anatômica do arco mandibular (TEN CATE, 2008).

O remodelamento da superfície condilar pode ocorrer em resposta às mudanças funcionais e fisiológicas no decorrer da vida. Pode haver formação óssea aumentando a dimensão vertical da face, representando um remodelamento progressivo da ATM (HALL, NICKERSON, McKENNA, 1993). O remodelamento regressivo leva a uma perda de dimensão vertical. Já o periférico adiciona tecido às margens da articulação. Frequentemente está associado a uma mudança artrítica, compensando as relações modificadas dos maxilares em virtude da utilização e perda dos dentes. Pode-se considerar como sendo resultado de uma disfunção oclusal (MONGINI, 1980; TEN CATE, 2008).

## 1.2 Osteoartrite

A osteoartrite é uma doença caracterizada pela degeneração da cartilagem articular e concomitante osteogênese subcondral reparativa/adaptativa (FUJISAWA, *et al.*, 2003). Pode ser definida como uma reação inflamatória de baixo grau. Na ATM, é compreendida como sendo resultado primário ou secundário a algum trauma, sendo possível sua ocorrência, em caso de sobrecarga articular aguda ou crônica (MERCURI, 2008). Assim, o estresse mecânico excessivo tem sido reportado como um dos fatores causadores da osteoartrite (FUJISAWA, *et al.*, 2003).

A artrite da ATM pode ser progressiva (ISHIMARU, GOSS, 1992). O processo inflamatório de baixo grau inicia na matriz da superfície articular, com envolvimento secundário da cápsula e do osso subcondral. A artrite é primária à osteoartrite, sendo que nesta, a degeneração atinge a região condilar. Inicialmente, a cartilagem articular sofre fibrilação, tornando-se frágil, desgastada e fina, resultando em remodelamento do osso subcondral (MERCURI, 2008). Eventualmente a cartilagem é destruída (ISHIMARU, GOSS, 1992). Além de osteófitos, erosão e achatamento, a osteoartrite pode causar uma inclinação distal dos côndilos, indicando que a doença é mais frequentemente observada na parte ântero-superior do mesmo (CHO, AHN, JUNG, 2009).

A remodelação do tecido ósseo é um mecanismo biológico com o objetivo de manter o equilíbrio entre a morfologia da articulação e sua função. Quando o esforço funcional excede a capacidade de remodelação, o equilíbrio entre a forma e a função evolui para um estado patológico. Assim, o processo de remodelação é substituído por uma doença degenerativa (DE BONT, *et al.*, 1985). Já a partir de exames radiográficos é possível observar alterações condilares, como achatamento ósseo, esclerose, erosão da cortical e formação de osteófitos marginais (CHO, AHN, JUNG, 2009). Dentro da patofisiologia a exposição óssea leva ao afinamento e também à eburneação. O fluido sinovial pode entrar no espaço medular através de microperfurações. Tal processo resulta em cavitação e erosão, com alteração na morfologia condilar. Pode haver tentativas de reparação, a partir da formação de osteófitos (ISHIMARU, GOSS, 1992).

O primeiro estágio da osteoartrite é reparativo e caracterizado pela proliferação de condrócitos. Tais células apresentam um aumento na atividade metabólica (CLEDES, *et al.*, 2006; DIJKGRAAF, *et al.*, 1995b). Bioquimicamente, ocorre aumento da síntese de componentes da matriz extracelular e de DNA, resultando em proliferação celular.

Eventualmente, um equilíbrio inicial entre reparação e degeneração será estabelecido (DIJGRAAF, *et al.*, 1995b).

Numa fase mais precoce da osteoartrite, a síntese de componentes da matriz extracelular é excedida pela síntese e atividade de proteases, resultando em degeneração e perda da cartilagem articular. Histologicamente observa-se o desenvolvimento de edema e de subsequentes irregularidades. A síntese de componentes da matriz extracelular, incluindo proteoglicanos, colágeno e glicoproteínas estruturais, e a síntese de DNA são aumentadas proporcionalmente à severidade da doença. Entretanto, a composição das subunidades dos proteoglicanos sintetizados é anormal (DIJGRAAF, *et al.*, 1995b).

Apesar do aumento da síntese de componentes da matriz extracelular, seu conteúdo é alterado. Isso é causado pela atividade degenerativa intrínseca da cartilagem, devido ao aumento da síntese e liberação de enzimas proteolíticas pelos condrócitos. O conteúdo de tais enzimas inclui fosfatase ácida, proteases séricas, metaloproteinases, proteoglicanase e colagenase. O colapso do colágeno é predominantemente mediado pela colagenase. Ela causa a clivagem e adelgaçamento das fibras colágenas. O colapso dos proteoglicanos é mediado pelas metaloproteases, proteases séricas, enzimas lisossômicas e outras proteases. O nível de proteoglicanos na cartilagem com osteoartrite é reduzido proporcionalmente à severidade da doença. As fibras colágenas tornam-se desprotegidas, resultando no desgaste da superfície articular, observada histologicamente. A perda dos proteoglicanos resulta em redução da quantidade de água na cartilagem e em subsequente perda das características biomecânicas, tais como a resiliência e a elasticidade. Geralmente, a osteoartrite manifesta-se clinicamente após o desenvolvimento de uma sinovite secundária, causando dor articular e, frequentemente, limitação dos movimentos da articulação. Além disso, o envolvimento da membrana sinovial inicia uma cascata de eventos secundários, criando um círculo vicioso e resultando em mais danos à cartilagem, devido à síntese de citocinas e proteases (DIJGRAAF, *et al.*, 1995b).

Na fase intermediária da osteoartrite, a síntese de componentes da matriz extracelular falha, incluindo a água e os proteoglicanos. A síntese e a atividade das proteases remanescentes aumentam, resultando em uma progressiva degeneração e perda da cartilagem articular. A degradação e a necrose dos condrócitos são observadas. O entrelaçamento das fibras colágenas mostra sinais de avançada desorganização e desintegração. Observa-se o aumento do número de fibras elásticas. O aparecimento de fibronectina na cartilagem osteoartrítica pode ser uma resposta reparadora dos condrócitos à perda dos componentes da matriz extracelular. Devido à subsequente perda da lisura da superfície articular, pode ocorrer

um deslocamento de disco, com ou sem redução. Clinicamente, a dor e a limitação do movimento articular estão presentes (DIJKGRAAF, *et al.*, 1995b).

Na última fase da osteoartrite, denominada residual, a redução dos componentes da matriz extracelular, incluindo água, proteoglicanos e colágeno é acentuada. Histologicamente observa-se a fibrilação da cartilagem e, eventualmente, o descobrimento do tecido ósseo subcondral. O colágeno é severamente desorganizado e desintegrado. Bioquimicamente ocorre um aumento continuado da síntese de proteases no caso da osteoartrite residual. A angiogênese discal pode ser detectada. Também, podem ocorrer a perfuração e o deslocamento do disco. A membrana sinovial pode aparecer hipervascularizada e hipertrófica. Esta fase, clinicamente, é caracterizada pela dor e dificuldade de movimento da articulação. Ruídos podem estar presentes se o deslocamento do disco ou a perfuração existirem. Em caso de osteoartrite residual da fibrocartilagem articular, os sinais e sintomas clínicos podem ter cessado (DIJKGRAAF, *et al.*, 1995b).

### **1.3 Condilotomia**

Dependendo da severidade da osteoartrite, os tratamentos indicados podem ser cirúrgicos ou não cirúrgicos (CHOI, YUN, KIM, 2002). Entre as técnicas cirúrgicas empregadas com interposição, está a artroplastia biconvexa (PURICELLI, 1997) e outras técnicas de artroplastia (ERDEM, ALKAN, 2001; SAWHNEY, 1986). Já a condilotomia, é uma opção de técnica cirúrgica sem interposição (TASANEN, LAMBERG, 1974). A osteoartrite está geralmente associada a desarranjos crônicos e, dessa forma, as terapias com placas de posicionamento anterior do côndilo nem sempre são úteis (OKESON, 2000).

Os pacientes com dor, ruído e hipomobilidade articulares, que não respondem satisfatoriamente a terapias clínicas conservadoras, em períodos mais longos do que seis meses, podem ser candidatos a este tratamento cirúrgico (PURICELLI, 2000; TASANEN, JOKINEN, 1981; TASANEN, LAMBERG, 1974). Como a sobrecarga mecânica das estruturas articulares é o principal fator causal da osteoartrite, o tratamento através da condilotomia proporciona a redução desta carga (OKESON, 2000).

A condilotomia é uma técnica em que se realiza uma fratura cirúrgica guiada, a partir de uma osteotomia oblíqua no processo condilar da mandíbula (PURICELLI, 2000). Inicialmente, o fundamento terapêutico da condilotomia foi ocasionalmente observado por William Campbell (1965), radiologista inglês. Ele percebeu que os pacientes com fraturas de côndilo raramente queixavam-se de dor, ruído ou hipomobilidade nos controles tardios. A



partir de então, o cirurgião Terence Ward (1957), que atuava no mesmo hospital que Campbell, adotou tal conceito, utilizando a técnica da condilotomia oblíqua em seus pacientes com disfunção de ATM. Sendo esta técnica uma modificação da proposta cirúrgica de KostECKA (1934), a qual é realizada de forma oblíqua na região subcondilar e utilizada para tratamento de prognatismo e de mordida aberta anterior. O procedimento era realizado por meio da introdução percutânea de uma serra cordoada de Gigli. Assim, a osteotomia do côndilo era efetuada sem a exposição do campo operatório, denominando-se, então, condilotomia fechada (HALL, NICKERSON, McKENNA, 1993). Nickerson e Veaco (1989) propuseram a modificação da técnica, devido à possibilidade de lesão de importantes artérias ou ramos do nervo facial, denominando-a de condilotomia modificada. Preconizaram a exposição do campo operatório, com acesso intrabucal, adaptando os conhecimentos da técnica de osteotomia vertical do ramo mandibular (HALL, NICKERSON, McKENNA, 1993; McKENNA, 2006; PURICELLI, 2000).

A técnica da condilotomia, largamente empregada por Puricelli (2000) baseia-se nos conceitos de Ward, com acesso intrabucal e visualização direta do campo operatório. O traço da osteotomia bicortical localiza-se em medial do tubérculo vestibular do forame da mandíbula. Dirige-se da incisura ao bordo posterior da mandíbula, aproximadamente no limite superior do terço médio do ramo. O segmento posterior, assim delimitado, mantém a inserção do músculo pterigoideo lateral, sem a presença dos ligamentos esfenomandibular e estilomandibular.

Estudos clínicos (ALBURY, 1997; HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000a; HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000b; McKENNA, CORNELLA, GIBBS, 1996) mostram os efeitos positivos da técnica da condilotomia modificada, no tratamento das complicações relacionadas ao deslocamento de disco com e sem redução. Os resultados mostram diminuição da dor (ALBURY, 1997; HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000a; HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000b) e da sensibilidade à palpação (HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000a; HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000b; McKENNA, CORNELLA, GIBBS, 1996); do ruído e do travamento em abertura bucal (HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000b; HALL, NICKERSON, McKENNA, 1993); e, também, redução da cefaléia (ALBURY, 1997; HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000a; HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000b). Além disso, os pacientes apresentaram aumento na abertura bucal máxima (HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000a; HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000b) e melhora da posição côndilo-disco (HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000a; HALL, NICKERSON, McKENNA, 1993; McKENNA, CORNELLA, GIBBS, 1996; WERTHER, HALL, GIBBS, 1995), visualizada por meio de ressonância

magnética (RM). Após a cirurgia, o côndilo é movimentado para uma posição mais anterior e inferior, possibilitando a recaptura funcional do disco (PURICELLI, 2000; WERTHER, HALL, GIBBS, 1995). Também, após o procedimento cirúrgico, pode-se observar por imagem, uma progressiva remodelação óssea da superfície condilar, principalmente na parte posterior e superior da cabeça do côndilo. Dessa forma, sugere-se que a aplicação da técnica da condilotomia favorece a recaptura do disco, evita a evolução do processo degenerativo da articulação, a qual poderia progredir para uma condição de osteoartrite (HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000a; HALL, NAVARRO, GIBBS, 2000b; McKENNA, CORNELLA, GIBBS, 1996). Entretanto, não está ainda evidente se essa nova formação óssea é capaz de reverter os danos articulares causados pela osteoartrite (HALL, NICKERSON, McKENNA, 1993).

Ainda que o deslocamento do disco articular e a osteoartrite geralmente tenham um curso de evolução concomitante e estejam provavelmente associados, ambos são classificados como diferentes desordens articulares. A osteoartrite é considerada uma degeneração da cartilagem articular e do tecido ósseo subcondral, enquanto que o deslocamento envolve a alteração na posição do disco e de suas estruturas de sustentação (STEGENGA, 2000). No estudo de Ali e Sharawy (1994) a provocação cirúrgica do deslocamento anterior do disco da articulação temporomandibular de coelhos resultou em alterações histopatológicas na cartilagem, as quais eram compatíveis com osteoartrite.

Em relação aos sinais e sintomas, a condilotomia fechada, como técnica cirúrgica empregada no tratamento da osteoartrite, possibilitou bons resultados clínicos em 47 pacientes operados, conforme mostra o estudo de Tasanen e Lamberg (1974). Os pacientes apresentaram maior abertura bucal e melhora na condição da fala. As cefaleias e as dores pré-auriculares desapareceram. Assim como, as condições do sono melhoraram. Tasanen e Jokinen (1981) também verificaram melhora nos sinais e sintomas da osteoartrite em 24 pacientes submetidos à mesma técnica. Radiograficamente observaram um aumento no espaço intra-articular após o procedimento cirúrgico.

No estudo de Albury (1989), o autor relatou um caso clínico de paciente, com diagnóstico de osteoartrite, que apresentou progressiva remodelação da superfície do côndilo direito após ser submetido à técnica da condilotomia associada à coronoidotomia. Tal processo seria uma resposta fisiológica adaptativa à redução das forças mecânicas produzidas no côndilo mandibular. O efeito de tal técnica observado apenas por manifestações clínicas da doença, não evidenciam a capacidade de reverter o processo degenerativo causado pela osteoartrite (TASANEN, LAMBERG, 1974; TASANEN, JOKINEN, 1981; HALL, NICKERSON, McKENNA, 1993; McKENNA, 2006).

Em humanos, o diagnóstico de osteoartrite geralmente não é sugerido até a condição atingir um estágio avançado, quando as articulações tornam-se funcionalmente comprometidas e dolorosas (GUINGAMP, *et al.*, 1997). A confirmação da doença, portanto, é definida a partir da história clínica do paciente e das informações obtidas através de imagens (ZARB, CARLSSON, 1999). Dessa forma, são necessários estudos experimentais, que mostrem a influência da condilotomia sobre as estruturas anatômicas da articulação temporomandibular, por meio das quais se evidencia a manifestação da doença.

#### **1.4 Colágeno da ATM**

A cartilagem da ATM é um tipo especializado de tecido conjuntivo composto de uma matriz extracelular e de condrócitos. Entretanto, na superfície articular, as células que predominam são os fibrócitos, caracterizando-a, dessa forma, como sendo uma fibrocartilagem. Enquanto que em outras articulações sinoviais, a cartilagem presente é hialina. As propriedades biomecânicas do tecido cartilaginoso, tais como resiliência e elasticidade são determinadas pela composição bioquímica da MEC. Os componentes do espaço intercelular são a água, o colágeno, os proteoglicanos, as glicoproteínas estruturais e pequenas quantidades de lipídios e componentes inorgânicos. O colágeno constitui mais de 60% do peso seco da fibrocartilagem da ATM, sendo organizado em feixes. Assim, forma uma rede, com ancoragem de proteínas, tais como fibronectina e condronectina. A fibrocartilagem contém predominantemente o colágeno tipo I, ou uma combinação de colágeno tipo I e tipo II. Pequenas quantidades de colágeno tipo IX e tipo XI são também encontrados (DIJKGRAAF, *et al.*, 1995a).

A integridade da cartilagem articular depende de um equilíbrio entre os agentes catabólicos e anabólicos (MAN, 2009). A osteoartrite é caracterizada pela progressiva degeneração dos componentes da matriz extracelular da cartilagem, entre eles o colágeno. Este processo ocorre devido ao aumento da atividade proteolítica, sendo mediada por fatores externos e internos que estimulam os condrócitos a sintetizar enzimas proteolíticas. Inicialmente, porém, não há alteração no conteúdo e no tipo de colágeno presente na cartilagem. Observa-se, neste estágio, somente a desorganização da rede de fibras. Já numa etapa mais tardia da doença, ocorre a redução de todos os componentes da MEC, incluindo o colágeno (DIJKGRAAF, *et al.*, 1995b; SALO, RAUSTIA, 1995). Em um estudo realizado

com deslocamento anterior de disco articular de ATM de coelhos, os autores encontraram reduzidas quantidades de colágeno tipo I e tipo II na cartilagem articular após 2 semanas a partir do experimento (SHARAWY, ALI, CHOI, 2003). O colágeno tipo I pode ser encontrado precocemente em reparo tecidual de defeitos criados em superfície condilar de ATM de coelhos, enquanto que o colágeno tipo II foi observado após 4 meses a partir do defeito criado, coincidindo com a diferenciação da camada hipertrófica (ROBINSON, 1993). Em ATM de humanos com osteoartrite, por meio de análise histológica, foram encontradas discretas quantidades de colágeno tipo II em torno dos condrócitos. Entretanto, houve uma marcada concentração em relação ao colágeno tipo III nas zonas articular e de calcificação da cartilagem dos côndilos mandibulares em relação aos controles não degenerados. Assim, o colágeno tipo III é considerado como um componente comum da fibrocartilagem da ATM, sendo sintetizado juntamente com o colágeno tipo II, em casos de reparo tecidual (SALO, RAUSTIA, 1995).

### **1.5 Modelo animal**

O coelho é um modelo animal adequado para representar a ATM humana. Possui similaridades anatômicas com esta e também reproduz seus movimentos fisiológicos lateralizados e ântero-posteriores. (MILLS, DANIEL, SCAPINO, 1988; ALI, SHARAWY, 1994; PONZONI, PURICELLI, 2000; CLEDES, *et al.*, 2006). Além disso, as características histológicas e histoquímicas são similares, tais como, a organização celular e a distribuição dos colágenos tipo I e II, dos proteoglicanos e da elastina. Algumas diferenças, entretanto, também existem entre a articulação temporomandibular humana e a dos coelhos, sendo a mais notável a ausência da fossa glenoidea nos animais, de tal forma que há uma articulação incompleta superior e posterior ao côndilo, deixando um íntimo contato com o músculo temporal e um importante acesso para manipulação experimental. Pode-se destacar também, que o corpo mandibular do coelho, ainda que apresente um ligamento na região sinfisária, separando anatomicamente a mandíbula em duas partes, funciona como uma única estrutura (MILLS, DANIEL, SCAPINO, 1988; MILLS, *et al.*, 1994; KAPILA, *et al.*, 1995). Outras características da ATM dos coelhos é que a superfície do osso escamoso apresenta uma eminência convexa ântero-posteriormente e côncava médio-lateralmente. Além disso, a parte anterior da superfície articular do côndilo é convexa em toda a sua extensão (MILLS, DANIEL, SCAPINO, 1988).

Apesar destas diferenças, as similaridades fornecem vantagens significativas na utilização de coelhos em pesquisas com a articulação temporomandibular (MILLS, DANIEL, SCAPINO, 1988; MILLS, *et al.*, 1994; KAPILA, *et al.*, 1995), especialmente envolvendo a osteoartrite (ALI, SHARAWY, 1994; CLEDES, *et al.*, 2006; LANG, ZIMNY, VIJAYAGOPAL, 1993).

Kapila e colaboradores (1995), realizaram um estudo em que foram utilizados 22 coelhos da raça Nova Zelândia, com indução de artrite na articulação temporomandibular por meio da injeção de uma dose de 100 µL a 5 mg/ml de ovalbumina na cavidade articular. Previamente, os animais receberam doses subcutâneas da proteína como teste de sensibilidade. As avaliações histológicas entre 5 e 55 dias mostraram a redução generalizada de glicosaminoglicanos do disco e redução localizada de colágeno na superfície articular do côndilo. Assim, o modelo utilizado foi adequado para definir as alterações inflamatórias que o antígeno provocou na ATM de coelhos, apresentando substancial similaridade histopatológica com a artrite reumatóide humana.

O deslocamento anterior de disco é um método cirúrgico utilizado para o desenvolvimento de degeneração da articulação temporomandibular. Esta técnica cirúrgica, quando utilizada em coelhos, causa alterações histopatológicas consistentes com a osteoartrite que são similares àquelas descritas pelo mesmo fator em humanos (ALI, SHARAWY, 1994).

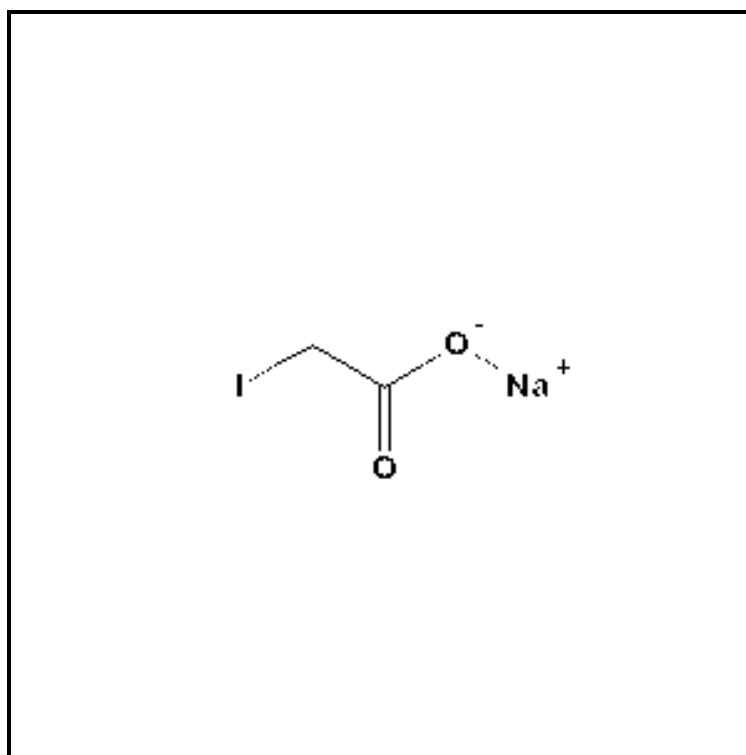
### **1.6 Monoiodoacetato de sódio (MIA)**

Os iodoacetatos são derivados iodados do ácido acético e utilizados como reagentes alquilantes sulfidrílicos e inibidores enzimáticos nas pesquisas bioquímicas. São substâncias altamente reativas que introduzem radicais alquila em moléculas biologicamente ativas e, assim, impedem o seu funcionamento. Muitos são utilizados como agentes antineoplásicos, mas a maioria é tóxica, com propriedades cancerígenas, mutagênicas, teratogênicas e imunossupressoras. Eles também têm sido utilizados como componentes de gases venenosos. Além disso, são compostos que combinam com uma enzima específica de forma a evitar a ligação enzima-substrato e, portanto, a reação catalítica (PUBCHEM PUBLIC CHEMICAL DATABASE, 2010).



**Figura 1- Monoiodoacetato de sódio<sup>1</sup>.**  
**Fonte: Dados da pesquisa.**

O ácido iodoacético sal sódico ou mono-iodoacetato de sódio (Fig. 1) é um derivado do iodoacetato que apresenta a fórmula molecular  $C_2H_2INaO_2$ , ou estrutural (Fig. 2).



**Figura 2 - Fórmula estrutural do monoiodoacetato de sódio.**  
**Fonte: PubChem Compounds, 2010.**

<sup>1</sup> SIGMA-ALDRICH CORPORATION, Analytical, Biology, Chemistry & Materials Science, St. Louis, MO, USA.

O uso do ácido iodoacético sal sódico para induzir osteoartrite foi primeiramente descrito por Kalbhen em 1987, num estudo que envolveu frangos e ratos. Tal substância, quando injetada na articulação, causa a inibição da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, a qual atua em uma das etapas da glicólise celular (GUZMAN, *et. al.*, 2003). Assim, ocorre a inibição de tal processo e, por conseguinte, a morte de condrócitos (DOWLING, DART, MATTHEWS, 2004). Já na matriz extracelular, pode-se observar a redução na quantidade de proteoglicanos (JANUSZ, *et. al.*, 2001).

A progressiva perda de condrócitos resulta em modificações histológicas que se assemelham às características da osteoartrite, incluindo colapso da matriz cartilaginosa, fibrilação e formação de osteófitos no osso subcondral (BOVE, *et. al.*, 2003). A severidade das lesões na cartilagem, a redução da mobilidade articular e a inibição da síntese de proteoglicanos estão diretamente relacionadas à dose do MIA (JANUSZ, *et. al.*, 2001).

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

- Avaliar histologicamente a influência da condilotomia sobre a osteoartrite quimicamente induzida nas estruturas anatômicas teciduais da articulação temporomandibular de coelhos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar histologicamente a cartilagem e o tecido ósseo subcondral do côndilo mandibular, após a realização da técnica da condilotomia na articulação temporomandibular com osteoartrite quimicamente induzida.

- Quantificar o conteúdo de fibras colágenas do tipo I da superfície do côndilo mandibular, após a realização da técnica da condilotomia na articulação temporomandibular com osteoartrite quimicamente induzida.



### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Locais de realização**

Na realização deste trabalho de pesquisa em cirurgia experimental foram envolvidos o setor de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; a Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (UEA-HCPA)/UFRGS; e a Unidade de Patologia Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (UPE-HCPA)/UFRGS.

#### **3.2 Cálculo amostral**

O tamanho da amostra para o experimento foi estimado utilizando o programa estatístico *G\*Power 3*, com o comando do teste exato de Fisher, considerando erros alpha e beta de 5% e 20% respectivamente. O desfecho primário, considerado para a estimativa do número de animais necessários para a realização do estudo, foi a proporção de 6 graus na variável severidade de lesão articular, conforme proposto por Pritzker, *et al.*, (2006). Foram utilizadas proporções de 0,9 e zero para os grupos controle e teste, respectivamente. Foi estimado que seriam necessários 5 animais por grupo para cada momento experimental, totalizando 30 animais.

#### **3.3 Estudo piloto**

O presente trabalho foi precedido de um estudo piloto envolvendo dois animais. Assim, realizou-se a indução química da osteoartrite, por meio da injeção de uma solução de monoiodoacetato de sódio na articulação temporomandibular bilateralmente. Um coelho foi morto em 20 e o outro em 40 dias após a indução da doença. Quatro lâminas coradas com hematoxilina e eosina determinaram, por análise histológica, a presença de doença articular no seu maior grau aos 40 dias (Fig. 3). Esta análise foi decisiva para a realização da condilotomia em igual tempo após a indução da osteoartrite.

Também, realizou-se uma simulação da fratura cirúrgica e da fixação com microplaca em crânio seco de coelho, onde foi possível determinar o reposicionamento condilar, após o afastamento dos segmentos ósseos em 4 mm (Fig. 4).

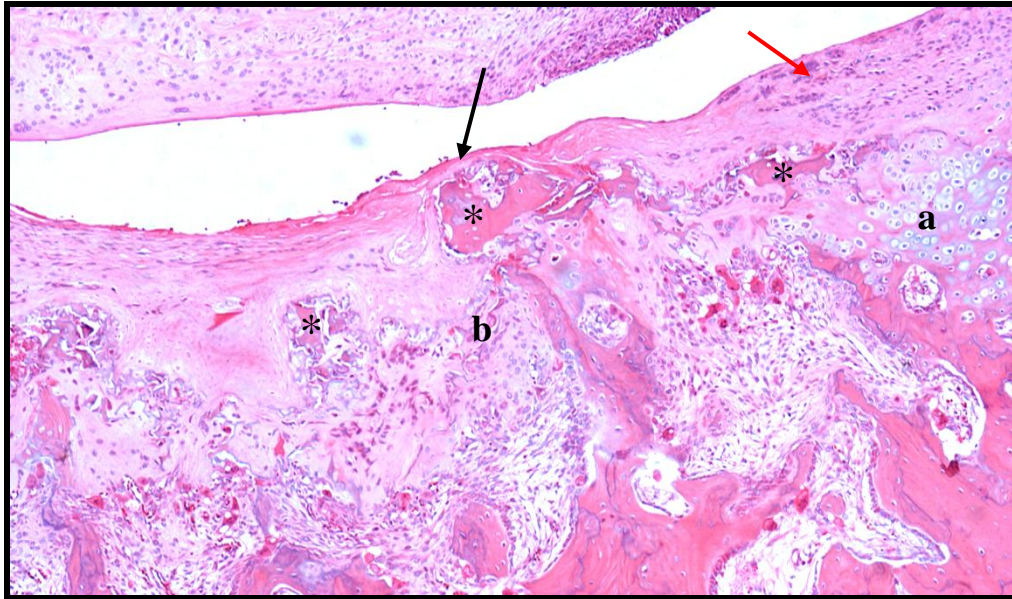


Figura 3 – ATM de coelho do estudo piloto, 40 dias pós indução de OA. Observa-se degeneração da camada de cartilagem (b). Área remanescente de cartilagem (a). Áreas de ossificação superficiais (\*). Degeneração de condrócitos (seta vermelha). Camada reduzida de tecido conjuntivo fibroso (seta preta).  
Fonte: Dados da pesquisa.

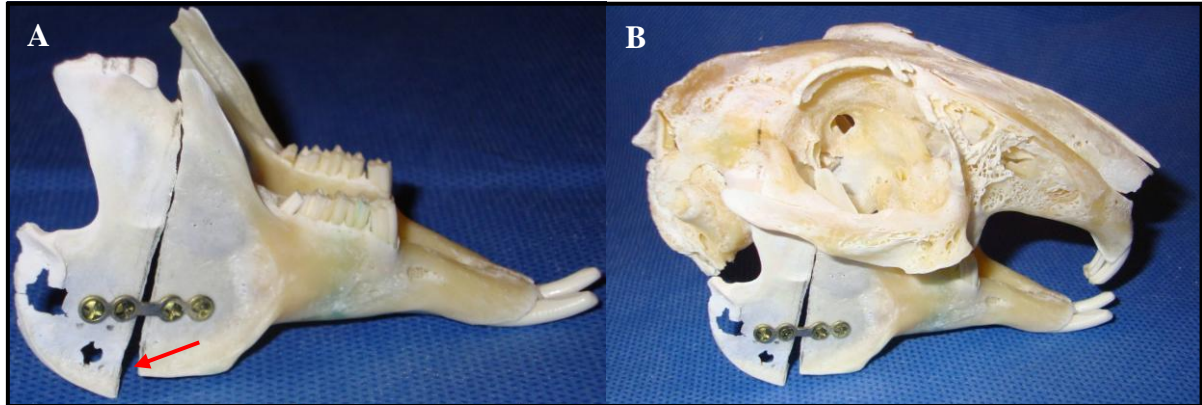


Figura 4 - Crânio seco. A: Traço da osteotomia vertical oblíqua no ramo mandibular com afastamento dos segmentos ósseos em 4mm (seta). Fixação padrão dos segmentos ósseos. B: Posição do segmento proximal, com avanço do côndilo mandibular.  
Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.4 Grupos de estudo e desenho experimental

O presente estudo é caracterizado como experimental em animais. Foram utilizados coelhos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus* L.) machos, adultos jovens, com 4 meses de idade, pesando entre 3 e 4 quilos. Os animais foram mantidos sob alimentação *ad libitum* à base de água, ração para coelhos e de folhas verdes, em gaiolas

individuais, com ambiente sob ciclo de luz, temperatura e umidade adequadas. Foi realizado um controle do peso dos animais durante a fase experimental.

Os coelhos foram divididos aleatoriamente em dois grupos, um teste (GT), (n=15) e um controle (GC), (n=15). Cada grupo foi subdividido e catalogado em outros três subgrupos, conforme o tempo de morte dos coelhos, ou seja, GC<sub>20</sub> (n=5), GC<sub>40</sub> (n=5) e GC<sub>60</sub> (n=5) dias, para o grupo controle; e GT<sub>20</sub> (n=5), GT<sub>40</sub> (n=5) e GT<sub>60</sub> (n=5) dias, para o grupo teste. O experimento foi desenvolvido na ATM direita dos animais. A articulação esquerda não sofreu intervenção. A partir do tempo pré-determinado de 40 dias, observado no estudo piloto com presença da doença articular, o grupo teste foi submetido à cirurgia para condilotomia. O grupo controle acompanhou o grupo teste conforme os tempos pré-determinados de morte dos animais (Tab. 1).

**Tabela 1 - Cronologia experimental e divisão dos grupos estudados.**

**Fase I: tempos de indução e realização da cirurgia.**

**Fase II: tempos de eutanásia dos animais. Protocolo cirúrgico e experimental**

Grupos	Fase I		Fase II		
	Dia 0	Dia 40	Dia 20 Eutanásia	Dia 40 Eutanásia	Dia 60 Eutanásia
GT	Indução OA (n=15)	Condilotomia (n=15)	(n=5)	(n=5)	(n=5)
GC	Indução OA (n=15)	-	(n=5)	(n=5)	(n=5)

### 3.5 Injeção do monoiodoacetato de sódio na cavidade articular

A nossa proposta para a indução química da osteoartrite na articulação temporomandibular de coelhos envolveu uma dose de 0,5 mg/ATM de monoiodoacetato de sódio. Os animais foram sedados com Ketamina (15 mg/kg) e Midazolam (1 mg/kg), via intramuscular. O tempo necessário de espera para os animais ficarem adequadamente sedados foi, em média de 10 minutos, sendo que permaneciam nesta condição, em média, durante 15 minutos. Para possibilitar uma adequação do local de injeção do MIA, a região pré-auricular foi tricotomizada. Por meio de palpação digital foi localizada toda a extensão do processo

zigomático até próximo ao conduto auditivo. Com azul de metileno, foi traçada uma linha sobre a pele, definindo-se a localização de tal processo. Assim, demarcou-se um ponto cinco milímetros acima e anterior ao limite final do contorno do processo zigomático, identificado por apalpação do operador. A introdução da agulha (30 Gauge) adaptada a uma seringa descartável, ambas para insulina, alcançou 8 mm de profundidade perfurando a cápsula articular. A resistência mecânica focal durante a punção, bem como a movimentação mandibular, atestou a posição correta da agulha. Dessa forma, foi injetada uma solução com 0,5 mg de MIA diluído em 50 µl de soro fisiológico na articulação temporomandibular direita dos coelhos (Fig. 5).



**Figura 5 - Localização anatômica da ATM para injeção da solução de monoiodoacetato de sódio.**  
**Fonte: Dados da pesquisa.**

### 3.6 Acesso cirúrgico para a realização da condilotomia

Os animais foram sedados com Ketamina<sup>2</sup> (15 mg/kg) e Midazolam<sup>3</sup> (1 mg/kg), acrescido de Meperidina<sup>4</sup> (5 mg/Kg), via intramuscular. Após 10 minutos, foram levados a uma sala de preparo onde foi realizada a tricotomia da região de ângulo mandibular lado direito.

Na sala cirúrgica, enquanto o animal recebeu oxigênio 100%, foi realizado o acesso venoso com cateter<sup>5</sup> 24 G para fluidoterapia (4 ml/kg/h) com ringer lactato<sup>6</sup> 500 ml. Também foi realizado acesso arterial com cateter<sup>7</sup> 22 G, para monitorização da pressão. A

<sup>2</sup> Cetamin (Cloridrato de Cetamina 10%), Rhobifarma Indústria Farmacêutica Ltda., Cotia, SP, Brasil.

<sup>3</sup> Dormium (Midazolam 15mg/3ml), União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, SP, Brasil.

<sup>4</sup> Cloridrato de Petidina 50mg/ml, União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, SP, Brasil.

<sup>5</sup> Jelco (Cateter Intravascular Periférico), Smiths Medical Itália, Milão, Itália.

<sup>6</sup> Baxter (Solução de Ringer Lactato), Baxter Hospitalar Ltda., São Paulo, SP, Brasil.

<sup>7</sup> Jelco (Cateter Intravascular Periférico), Smiths Medical Itália, Milão, Itália.

indução da anestesia geral foi realizada com Isoflurano<sup>8</sup> 5% fornecido através de máscara facial. Os animais foram intubados com tubo endotraqueal<sup>9</sup> 3.0 (Fig. 6). A anestesia geral foi mantida com Isoflurano 2 a 3% e Fentanil<sup>10</sup> (7 µg/Kg). Foram monitorizados os seguintes parâmetros anestésicos: frequência cardíaca e respiratória, capnometria, oximetria e pressão arterial. A prevenção de infecção foi realizada por meio da injeção intramuscular de Enrofloxacino<sup>11</sup> (5 mg/kg).



**Figura 6 - Pré-operatório. Coelho sob efeito de anestesia geral com intubação orotraqueal. Área operatória após tricotomia.**  
Fonte: Dados da pesquisa.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em ambiente adequado, sob manutenção da cadeia asséptica. O operador, bem como os auxiliares cirúrgicos, foram paramentados com EPI completo, ou seja, avental e luvas estéreis, gorro, máscara e óculos (Fig. 7). O procedimento cirúrgico iniciou com a antissepsia da pele à base de solução alcóolica de Clorexidina 0,5%<sup>12</sup>. Após a tricotomia da área, a incisão da pele foi realizada com lâmina de bisturi nº 15 e cabo nº 3, na região do bordo inferior do corpo mandibular, iniciando-se no ângulo e estendendo-se até 4 cm no sentido distal (Fig. 8-A). O descolamento do músculo masseter foi sequencialmente efetivado para exposição do ramo mandibular (Fig. 8-B). Após a exposição da cortical, a osteotomia sob irrigação constante com água destilada<sup>13</sup>

<sup>8</sup> Isoflurano 1ml/1ml, Instituto Biochimico Indústria Farmacêutica Ltda., Itatiaia, RJ, Brasil.

<sup>9</sup> Portex, Tracheal Tube, SIMS Portex Ltda., UK.

<sup>10</sup> Fentanest (Citrato de Fentanila 0,05mg/ml), Cristália Produtos Farmacêuticos Ltda., Itapira, SP, Brasil.

<sup>11</sup> Zelotril (Enrofloxacina 10%), União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, SP, Brasil.

<sup>12</sup> Riohex (Digliconato de Clorexidina 0,5%), Rioquímica indústria farmacêutica Ltda., São José do Rio Preto, SP, Brasil.

<sup>13</sup> KabiPac (Água para injeção 1000ml), Fresenius Kabi Brasil Ltda., Aquiraz, CE, Brasil.



foi realizada por meio de uma broca cilíndrica<sup>14</sup> para peça de mão, 012 mm x 6 mm, 701L, sendo dois traços de fratura no plano vertical do ramo, distando 2 mm entre eles e estendendo-se da região anterior ao côndilo até a basilar da mandíbula (Fig. 8-C, Fig. 8-D). Após a fratura, o fragmento ósseo foi removido (Fig. 8-E) e o segmento posterior foi aproximado ao anterior em 2 mm, permanecendo uma fenda óssea de 4 mm entre eles na região basilar (Fig. 8-F). O côndilo ficou em uma posição mais anterior e inferior. Assim adaptados, os segmentos ósseos do ramo mandibular foram estabilizados por meio de fixação interna rígida com microplacas<sup>15</sup> 4 furos com espaço, 1.5 x 20 mm e microparafusos de 1.5 x 3.5 mm (Fig. 9). Os tecidos foram suturados a pontos simples com fio de poliglactina<sup>16</sup> 4-0 nos planos internos e mononylon<sup>17</sup> 4-0 na pele.



**Figura 7 – Paramentação completa da equipe durante o procedimento cirúrgico.**

**Fonte: Dados da pesquisa.**

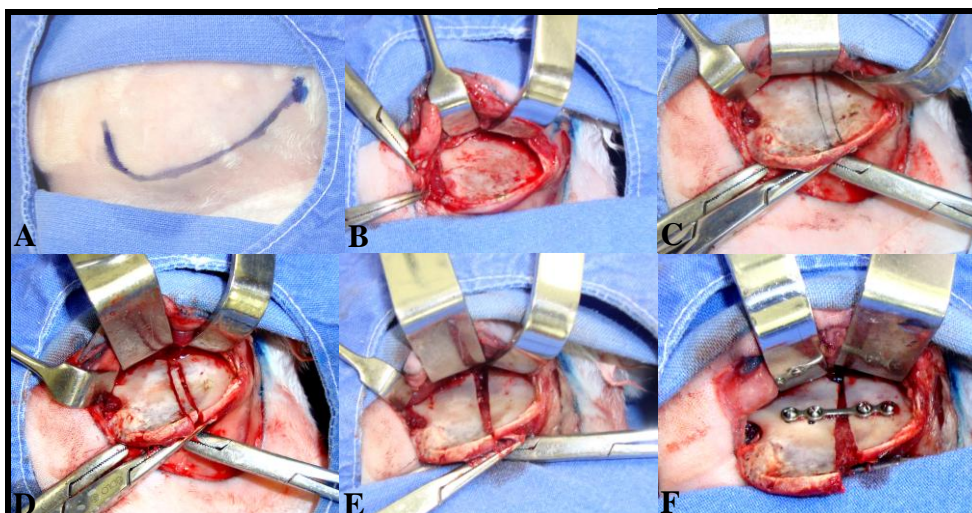
---

<sup>14</sup> KOMET BRAZIL, Santo André, SP, Brasil.

<sup>15</sup> PROMM, Comércio de Implantes Cirúrgicos Ltda., Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>16</sup> ETHICON (Vicryl Poliglactina 910), Johnson & Johnson do Brasil Indústria e Comércio de Produtos para Saúde Ltda., São José dos Campos, SP, Brasil.

<sup>17</sup> Nylon (Monofilamento preto 4-0), Laboratórios B. Braun S/A, Arsenal, RJ, Brasil.



**Figura 8 - Procedimento cirúrgico da Condilotomia. Definição da linha de incisão externa (A); descolamento do músculo masseter e exposição do ramo mandibular (B); delimitação de 2 mm entre os traços das osteotomias (C); segmento ósseo liberado (D); segmentos mobilizados (E), microplaca e microparafusos fixando o segmento proximal em posição anteriorizada, segundo protocolo do estudo (F).  
Fonte: Dados da pesquisa.**



**Figura 9 - Sistema de fixação interna rígida utilizada (microplaca 1.5 x 20 mm e microparafusos 1.5 x 3.5 mm).  
Fonte: Dados da pesquisa.**

### 3.7 Cuidados pós-operatórios

Ao término da cirurgia os animais receberam, por via intramuscular, analgesia por meio da utilização de Tramadol<sup>18</sup> 2 mg/Kg (12/12 hs), durante 2 dias; medicação anti-

<sup>18</sup> Cloridrato de Tramadol 100mg/2ml, União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, SP, Brasil.

inflamatória com Cetoprofeno<sup>19</sup> 1 mg/Kg (24/24 hs), durante 2 dias e antimicrobiano Enrofloxacino 5 mg/Kg (12/12 hs), por 5 dias. A recuperação anestésica foi realizada em ambiente aquecido para evitar hipotermia. A dieta foi mantida por meio de folhas verdes e de ração. Os animais permaneceram na Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/UFRGS, local onde o protocolo cirúrgico-experimental foi desenvolvido. Posteriormente, seguindo os tempos pré-determinados de morte, os coelhos foram sedados conforme protocolo. Após uma anestesia profunda com injeção de Propofol<sup>20</sup> IV, na dose de 7 mg/Kg os animais foram mortos com injeção de Cloreto de Potássio<sup>21</sup> 10%, na proporção de 1 ml/Kg de peso. Os crânios foram desnudados dos tecidos moles (Fig. 10-A), seccionados sagitalmente e armazenados em formalina tamponada. Os processos de anestesia e de morte dos animais, ao término da pesquisa, foram realizados por uma Médica Veterinária, responsável técnica da UEA-HCPA/UFRGS.

### 3.8 Preparo histológico

O preparo das peças foi realizado na Unidade de Patologia Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/UFRGS. Após o desnudamento, os crânios foram fixados em formalina tamponada durante duas semanas (Fig. 10-B) e descalcificados em uma solução de ácido nítrico<sup>22</sup> a 10% durante cinco dias. Posteriormente, as articulações temporomandibulares foram removidas com lâmina de bisturi nº 15 e cabo nº 3, sendo seccionadas no plano sagital, dividindo-as em dois segmentos. As peças foram processadas e incluídas em parafina, resultando em dois blocos de cada articulação. Realizaram-se os cortes em micrótomo com espessura de 4 µm e, posteriormente, a confecção das lâminas, pela reação histoquímica de Safranina-O 0,5% com *Fast-green* 0,1% e pela reação histoquímica de *Sirius red* 0,2% em solução saturada de ácido pícrico.

---

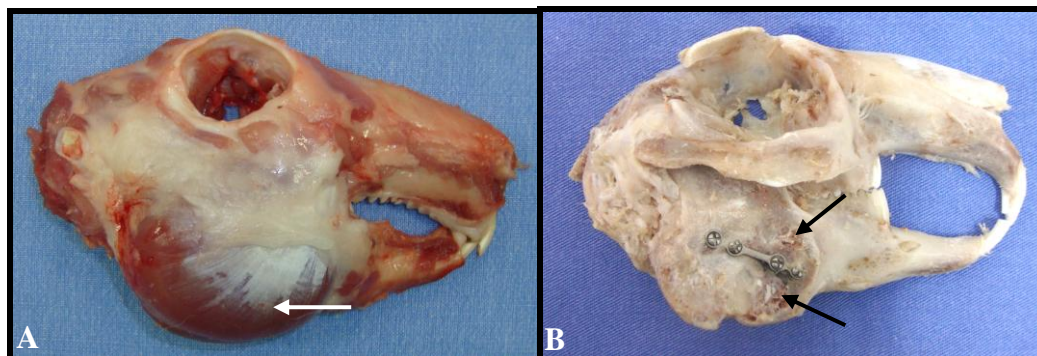
<sup>19</sup> Artrinid (Cetoprofeno 50 mg/ml), União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, SP, Brasil.

<sup>20</sup> Propovan (Propofol 10mg/ml), Cristália, Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda., Itapira, SP, Brasil.

<sup>21</sup> ISOFARMA, Industrial Farmacêutica Ltda, Eusébio, CE, Brasil.

<sup>22</sup> FM GOLD (Ácido Nítrico 65%), F.Maia Indústria e Comércio Ltda, Cotia, SP, Brasil.





**Figura 10 - Peças operatórias.** Crânio seccionado no sentido sagital antes e depois da fixação em formalina. A: Anatomia do músculo masseter (seta branca). B: Normoclusão e adaptação da miniplaca. Observa-se osso neoformado (setas pretas).  
Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.9 Análise dos resultados

#### 3.9.1 Análise histológica

A análise histológica envolveu os dois cortes de cada ATM, excetuando-se quando houve problemas técnicos de confecção das lâminas. A severidade da doença foi avaliada em lâminas coradas pela reação histoquímica de Safranina-O 0,5% com *Fast-green* 0,1%. As imagens foram avaliadas e capturadas igualmente à forma citada acima em aumentos de 40, 100, 200 e 400x. As imagens histológicas apresentadas com a estrutura articular completa foram unidas pelo método de mosaico, por meio do *software PhotoScape®*, versão 3.6. Para a avaliação do grau de lesão articular foi utilizado um escore qualitativo (Anexo II), através da análise da coloração histoquímica dos fragmentos de cartilagem com Safranina-O/*Fast-green*, de acordo com a Sociedade Internacional de Pesquisa em Osteoartrite (OARSI) e segundo Pritzker *et.al.* (2006). Este escore representa uma avaliação conjunta de gravidade da osteoartrite (PRITZKER, *et. al.*, 2006) apresentada em graus de 0 (sem a doença) até 6 (grau máximo de osteoartrite). Um observador treinado e nivelado por um patologista realizou a análise do escore. A avaliação cega das lâminas foi em dois momentos, com um intervalo de dez dias. Para verificação de concordância intra-examinador foi aplicado o coeficiente Kappa.

Pela reação histoquímica de *Sirius red* 0,2% em solução saturada de ácido pícrico, realizou-se a avaliação do conteúdo de fibras colágenas do tipo I. As imagens foram capturadas aleatoriamente por um avaliador cego, através de uma câmera de vídeo Olympus®

(modelo Qcolor 5, RTV) acoplada a um microscópio binocular Olympus Optical Co. (modelo U-LH100-3) e a um computador AOC® (modelo 2236Vwa), utilizando-se o *software Qcapture Pro*® (versão 5.1; *Quantitative Imaging Corporation, Inc.*; 2005). Foi utilizado um microscópio sob efeito de luz polarizada, obtida através de dois filmes polarizadores, adaptados ao equipamento. Uma imagem de cada uma das regiões anterior (1), central (2) e posterior (3) do côndilo mandibular foi capturada em aumento de 200x (Fig. 11). Seguiu-se com a quantificação do colágeno tipo I em toda a extensão da área capturada (pixel<sup>2</sup>) por meio do *software Image-Pro*® *Plus*, versão 6.0, instalado a um computador Dell®, modelo *Inspiron 1525*. A birrefringência de coloração vermelho-alaranjada marcou a presença do colágeno tipo I, enquanto que a coloração esverdeada identificou a presença do colágeno tipo III. Os procedimentos de confecção das lâminas e de análise histológica foram realizados na Unidade de Patologia Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/UFRGS.

### **3.9.2 Análise estatística**

A análise dos dados foi realizada utilizando-se o pacote estatístico SPSS versão 18. O nível de significância foi estabelecido em 5%. Para avaliação do grau de severidade da osteoartrite e da quantificação do colágeno em 3 áreas foi utilizada uma comparação de medianas entre a interação de grupo e tempo, através do teste de Kruskal-Wallis. Para complementar esta análise foi aplicado o teste de Mann-Whitney. A escolha de tais testes estatísticos foi baseada após consultoria técnica junto ao setor de Epidemiologia e Bioestatística do GPPG/HCPA/UFRGS.

### **3.9.3 Considerações éticas**

Este estudo seguiu a Lei 11794/2008, que estabelece os procedimentos para uso científico de animais, conforme legislação vigente no Brasil. Também, foi submetido à avaliação e aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)/GPPG/HCPA (AnexoIII).

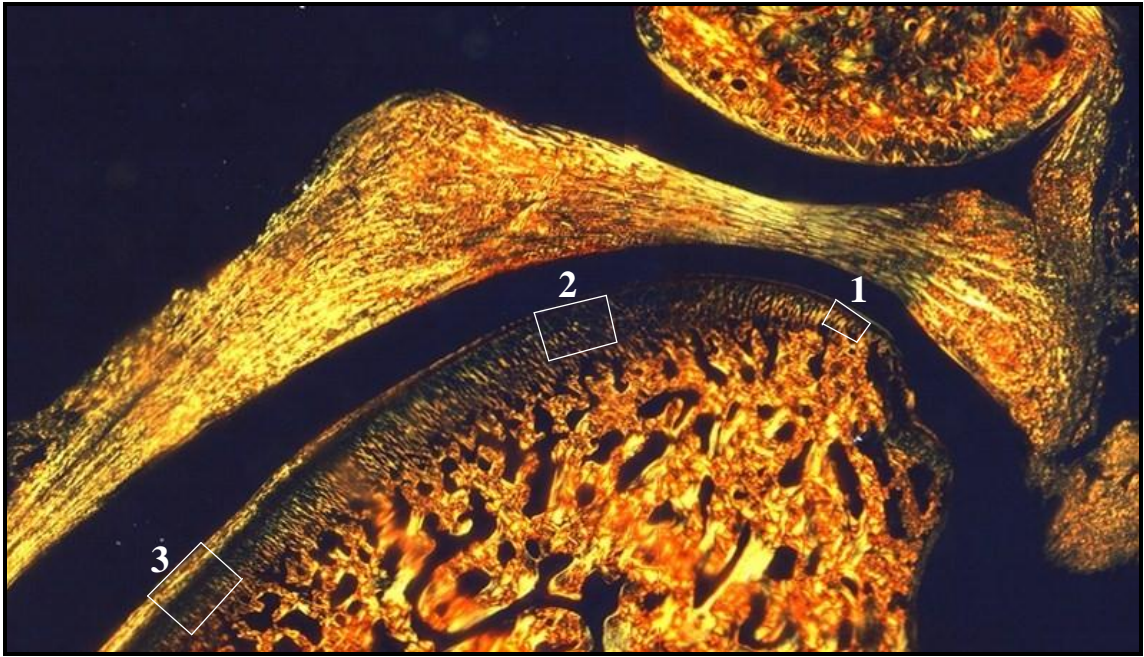


Figura 11 - Côndilo mandibular sem osteoartrite. Exemplo para o destaque das regiões anterior (1), central (2) e posterior (3), 40x, Picrosirius. Fonte: Dados da pesquisa.

## 4 RESULTADOS

Durante a etapa experimental da condilotomia, houve a perda de três animais. Um coelho do grupo GC<sub>60</sub> morreu transcirurgicamente. Após a necropsia, realizada por uma Médica Veterinária, foi identificada a presença de hérnia diafragmática. Dois animais do grupo GC<sub>20</sub> morreram no pós-operatório imediato, sendo que um deles apresentou hiperglicemia e no outro não foram identificadas alterações clínicas importantes. Os três animais foram substituídos.

### 4.6 Análise histológica do côndilo mandibular

A análise do escore foi realizada por um avaliador treinado e calibrado, sendo que foram analisadas todas as lâminas em dois momentos separados por um intervalo de 10 dias. Assim, na avaliação de concordância intra-examinador, o coeficiente Kappa foi 0,747. Portanto, mostrou uma concordância substancial entre as avaliações.

No côndilo mandibular sem osteoartrite observou-se a manutenção da integridade das estruturas articulares. A conformação da superfície articular foi mantida (Fig. 12). A camada de cartilagem apresentou intensa coloração por safranina-O, evidenciando a quantidade inalterada de proteoglicanos na matriz extracelular. Também, observou-se a disposição normal de células no tecido cartilaginoso (Fig. 13).

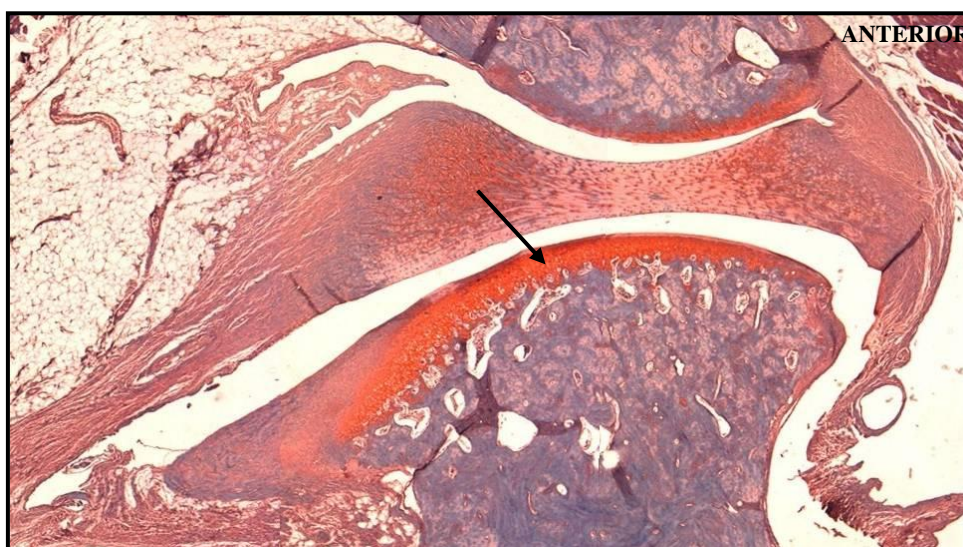
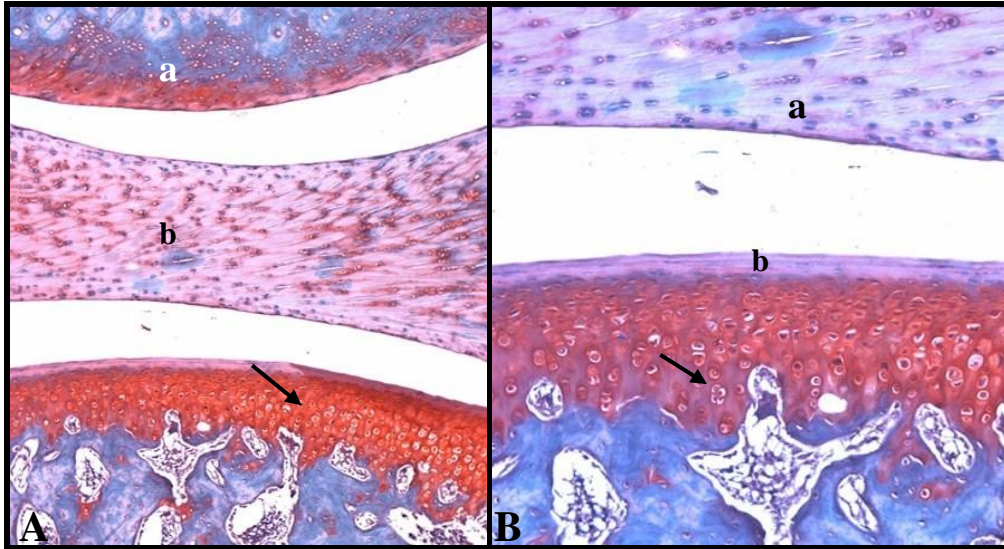


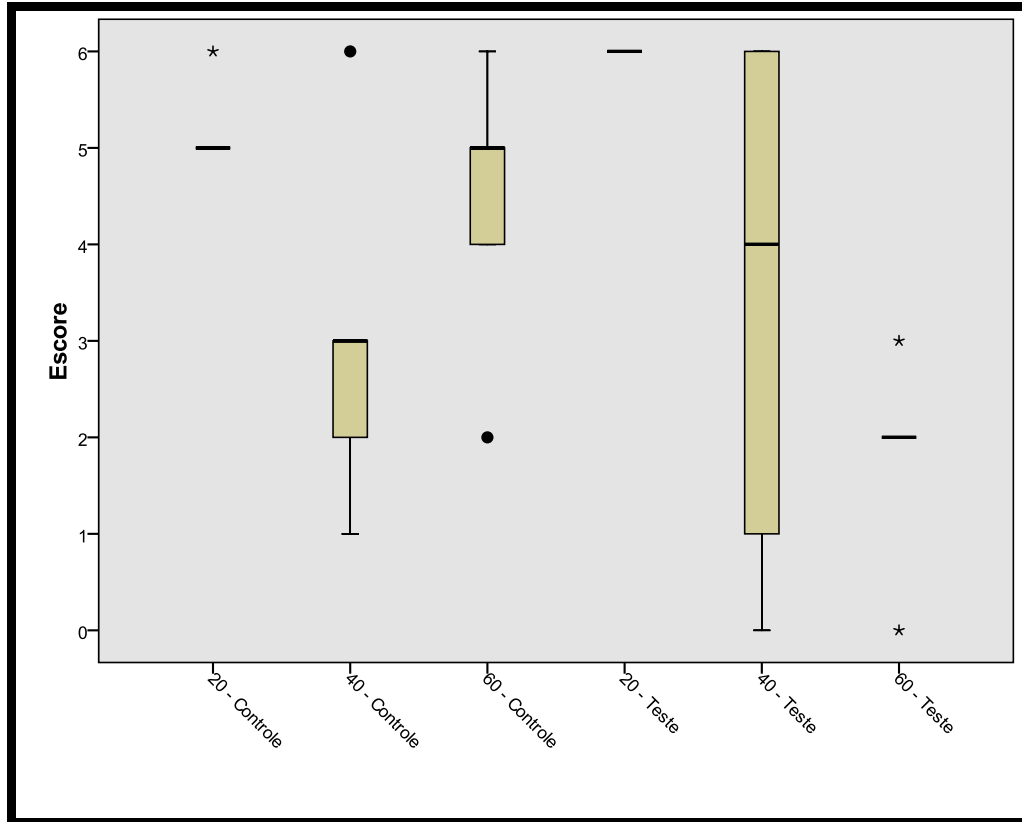
Figura 12 - Côndilo mandibular sem osteoartrite. Observa-se a conformação normal da superfície e a intensidade da coloração da cartilagem por safranina-O (seta), evidenciando normal quantidade de proteoglicanos, 40x, Safranina-O.  
Fonte: Dados da pesquisa.





**Figura 13 - Côndilo mandibular sem osteoartrite. Observa-se a intensa coloração de safranina-O na cartilagem, evidenciando a presença normal de proteoglicanos. A: componente temporal (a), disco articular (b), presença marcante da safranina-O na cartilagem (seta), 100x. B: Disco articular (a), superfície com contorno regular (b), disposição normal de células na camada hipertrófica (seta), 200x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.**

Os resultados referentes à análise do grau de degeneração articular por meio do escore proposto por Pritzker *et al.*, (2006) estão expressos na figura 14 e na tabela 2. Observou-se um alto grau de doença nos tempos 20 e 60 do grupo controle; o grau máximo de osteoartrite no grupo teste do tempo 20 e a grande variabilidade no grupo teste do tempo 40. Considerando-se o tempo, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na comparação entre medianas dos grupos GC<sub>20</sub> x GT<sub>20</sub> (p=0,032), GC<sub>20</sub> x GT<sub>60</sub> (p=0,008), GC<sub>40</sub> x GT<sub>20</sub> (p=0,032), GC<sub>60</sub> x GT<sub>20</sub> (p=0,032), GC<sub>60</sub> x GT<sub>60</sub> (p=0,032) e GT<sub>20</sub> x GT<sub>60</sub> (p=0,008), quanto ao escore aplicado (p=0,003). Na comparação entre os grupos GC<sub>20</sub> e GC<sub>40</sub> (p=0,095) houve tendência para uma diferença estatisticamente significativa. Nas demais comparações não foram encontradas diferenças estatísticas.



**Figura 14 – Gráfico Box-Plot representando as medianas para a avaliação da severidade da OA nos diferentes grupos, por meio do escore de Pritzker, *et al.* (2006).  
Fonte: Dados da pesquisa.**

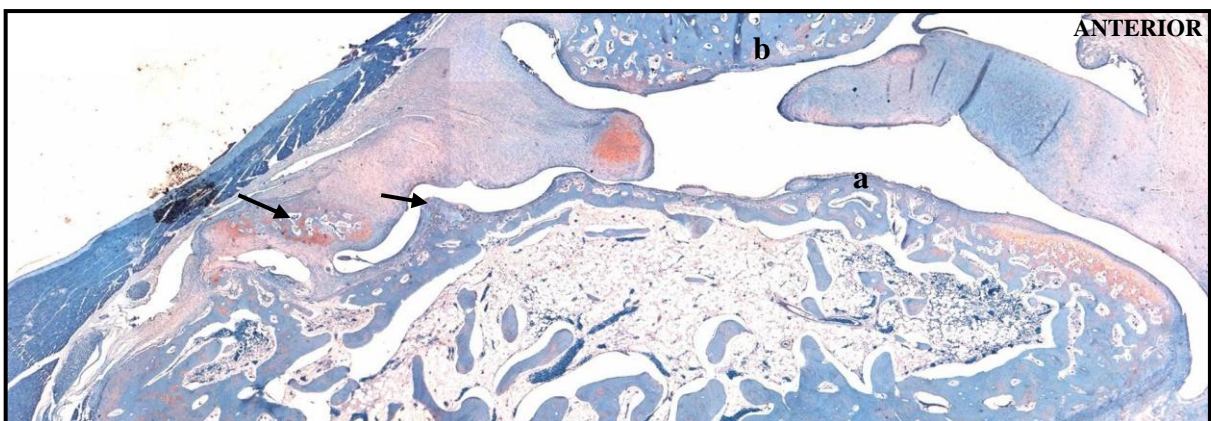
No GC<sub>20</sub> a análise histológica demonstrou uma alteração morfológica em toda a extensão do côndilo mandibular. A mudança de conformação resultou em irregularidade da superfície condilar (Fig. 15). Também, na região central, pôde ser vista a perda da continuidade da camada de cartilagem. O tecido ósseo subcondral apresentou-se recoberto por delgada camada de fibrocartilagem, com coloração reduzida de safranina-O (Fig. 16-A), evidenciando redução na quantidade de proteoglicanos. A atividade osteoblástica também pôde ser observada, resultando em ossificação na região superficial (Fig. 16-B). Houve formação de osteófitos na região posterior do côndilo (Fig.17).

**Tabela 2 - Comparações entre medianas, em função de grupo e tempo para análise do escore proposto por Pritzker *et al.*,(2006).**

<b>Comparações</b>	<b>Medianas</b>	<b>Valor de p</b>
GC <sub>20</sub> x GC <sub>40</sub>	5 x 3	0,095*
GC <sub>20</sub> x GC <sub>60</sub>	5 x 5	0,421
GC <sub>20</sub> x GT <sub>20</sub>	5 x 6	<b>0,032 ◀</b>
GC <sub>20</sub> x GT <sub>40</sub>	5 x 4	0,548
GC <sub>20</sub> x GT <sub>60</sub>	5 x 2	<b>0,008 ◀</b>
GC <sub>40</sub> x GC <sub>60</sub>	3 x 5	0,310
GC <sub>40</sub> x GT <sub>20</sub>	3 x 6	<b>0,032 ◀</b>
GC <sub>40</sub> x GT <sub>40</sub>	3 x 4	0,841
GC <sub>40</sub> x GT <sub>60</sub>	3 x 2	0,310
GC <sub>60</sub> x GT <sub>20</sub>	5 x 6	<b>0,032 ◀</b>
GC <sub>60</sub> x GT <sub>40</sub>	5 x 4	0,690
GC <sub>60</sub> x GT <sub>60</sub>	5 x 2	<b>0,032 ◀</b>
GT <sub>20</sub> x GT <sub>40</sub>	6 x 4	0,151
GT <sub>20</sub> x GT <sub>60</sub>	6 x 2	<b>0,008 ◀</b>
GT <sub>40</sub> x GT <sub>60</sub>	4 x 2	0,421

Significância ao nível de 5% ( ◀ ).

Tendência de significância (\*).



**Figura 15 - ATM GC<sub>20</sub>. Superfície articular do côndilo. Observa-se irregularidade superficial (a); componente temporal (b); osteófitos em formação (setas), 40x, Safranina-O.**  
**Fonte: Dados da pesquisa.**

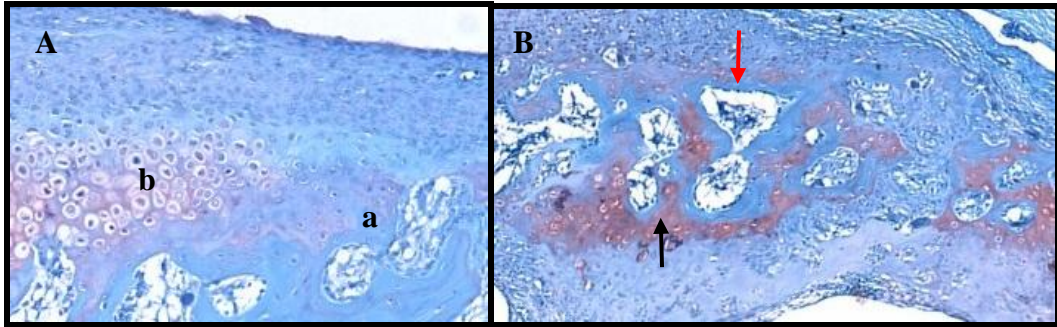


Figura 16 - ATM GC<sub>20</sub>. A: Aspecto da camada de cartilagem condilar. Redução acentuada de proteoglicanos, evidenciada pela discreta coloração de safranina-O (a), matriz extracelular com redução na quantidade de proteoglicanos (b), 200x. B: Áreas de ossificação na região superficial do côndilo, com presença de osteoblastos (seta vermelha), tecido cartilaginoso, evidenciado pela intensa coloração de safranina-O (seta preta), 100x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.

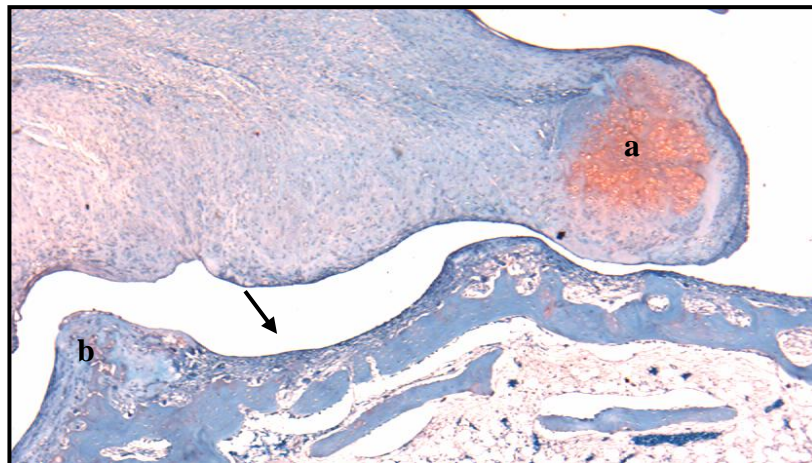
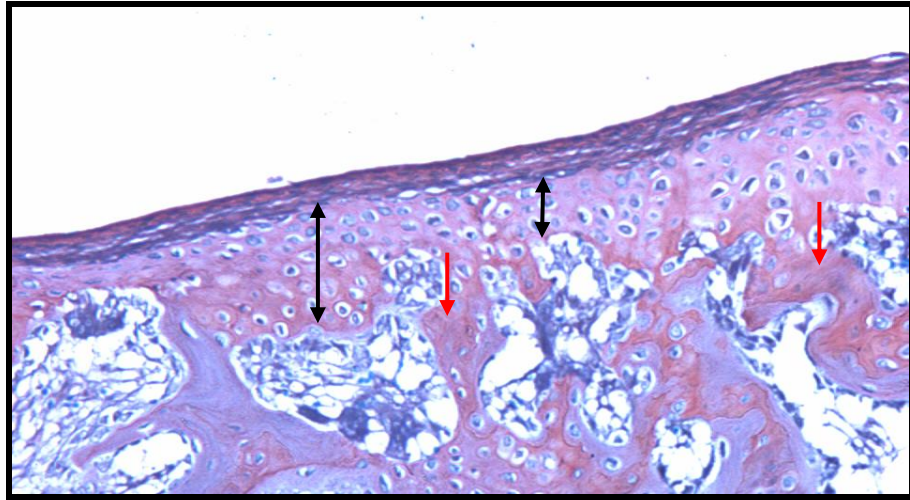


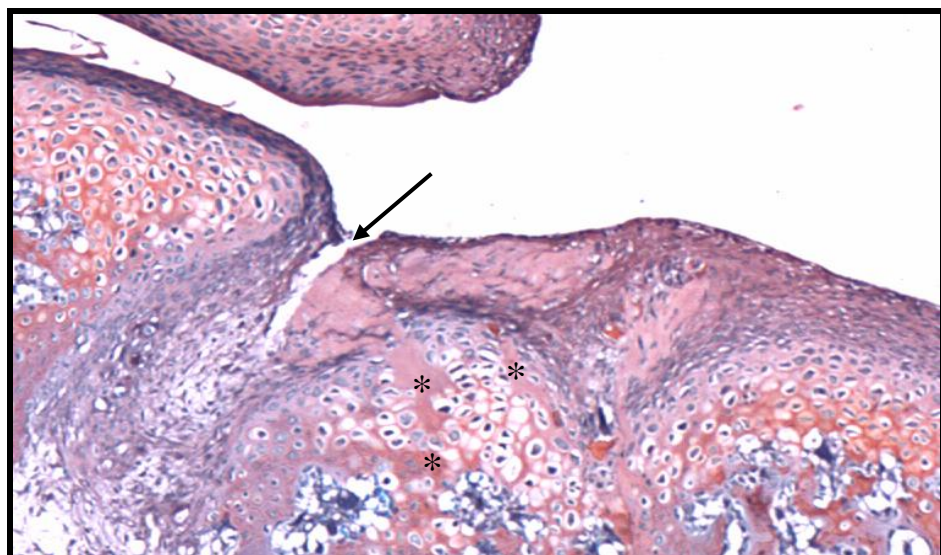
Figura 17 - ATM GC<sub>20</sub>. Disco articular rompido, com formação condroplásica (a). Osteófito em formação (b). Irregularidade da superfície, com perda da camada de cartilagem (seta), 100x, Safranina-O.



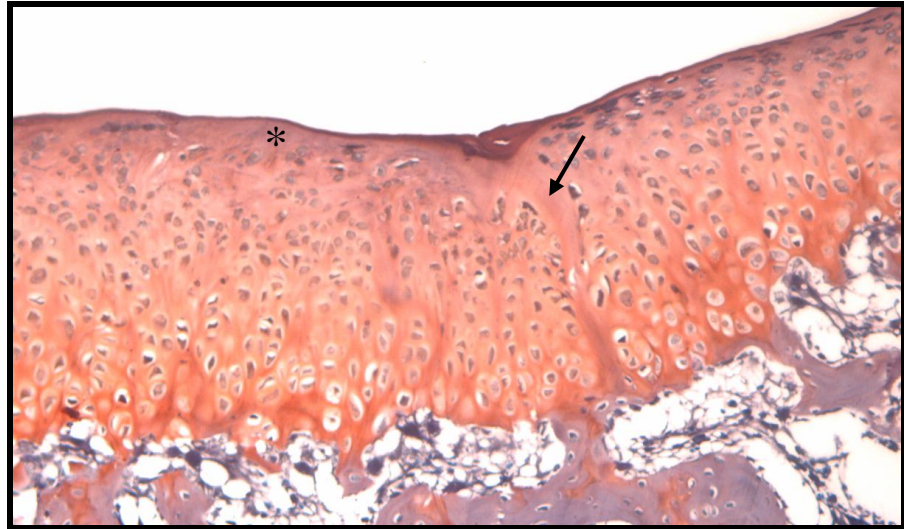


**Figura 18 - ATM GC<sub>20</sub>.** Redução na espessura da camada de cartilagem (setas pretas), apresentando áreas de ossificação (setas vermelhas), 200x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.

Verificou-se a manutenção da camada de cartilagem, porém com redução da sua espessura (Fig. 18), e presença de fenda até a região óssea subcondral (Fig. 19). Além disso, houve degeneração de condrócitos e fibrilação até a camada hipertrófica (Fig. 20).

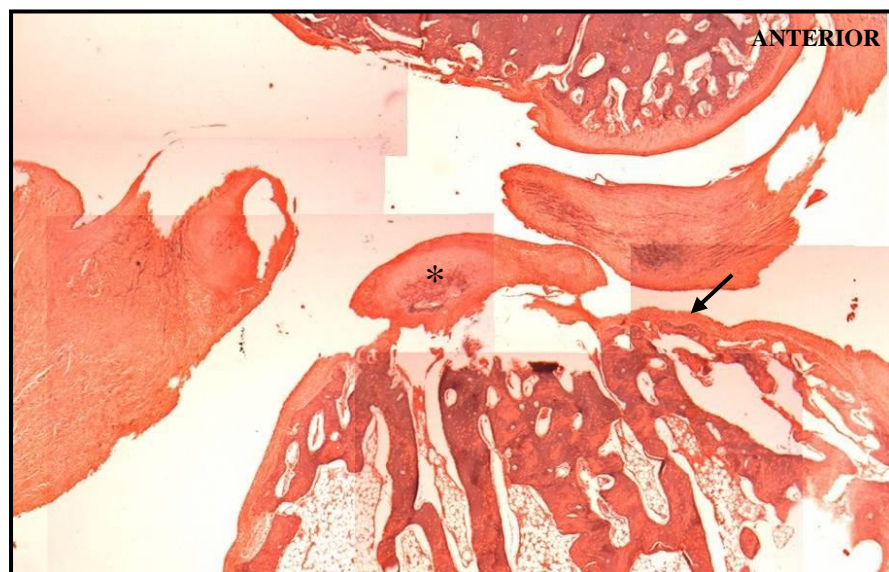


**Figura 19 - ATM GC<sub>20</sub>.** Fenda na camada de cartilagem, atingindo o tecido ósseo subcondral (seta). Áreas de ossificação (\*), 100x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.

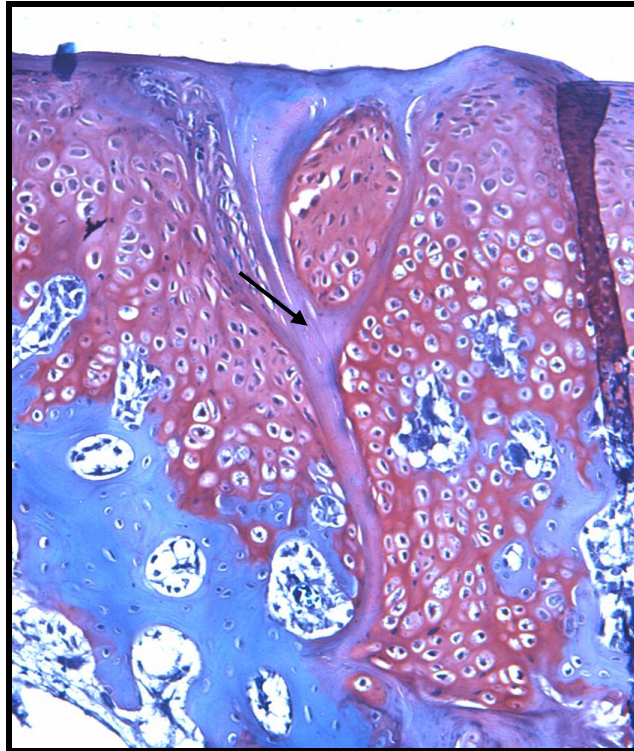


**Figura 20 - ATM GC<sub>20</sub>.** Fibrilação invadindo a camada hipertrófica da cartilagem (seta). Redução do número de células na região superficial (\*), 200x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.

As alterações morfológicas da cartilagem, analisadas pela coloração de Safranina-O nos animais do tempo de 40 dias foram semelhantes ao tempo de 20 dias. Pode-se verificar alteração do contorno condilar, permanecendo com a superfície irregular. Houve a formação de reduzida camada de tecido conjuntivo denso sobre o tecido ósseo, com presença parcial de cartilagem (Fig. 21). Além disso, importantes áreas de fibrilação foram encontradas (Fig. 22).



**Figura 21 - ATM GC<sub>40</sub>.** Observa-se irregularidade do côndilo, com delgada camada de tecido conjuntivo recobrendo a superfície óssea (seta). Desprendimento de um fragmento de cartilagem (\*), 40x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.



**Figura 22 - ATM GC<sub>40</sub>. Fibrilação atingindo a região do tecido ósseo subcondral (seta), 200 x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.**

No grupo de 60 dias após a indução da osteoartrite, observou-se histologicamente uma significativa alteração nas superfícies do côndilo mandibular e da eminência articular, sendo que as duas estruturas apresentaram-se completamente achatadas, o que mostra o remodelamento do tecido ósseo (Fig. 23). Observou-se, também, a formação de um cisto intraósseo. A cartilagem apresentou áreas de fendas (Fig. 24). Também, houve a perda completa da camada de cartilagem por erosão, causando o desnudamento do tecido ósseo subcondral (Fig. 25). Além disso, foram encontrados condrócitos agrupados, resultado da tentativa de reparo tecidual (Fig. 26-B).



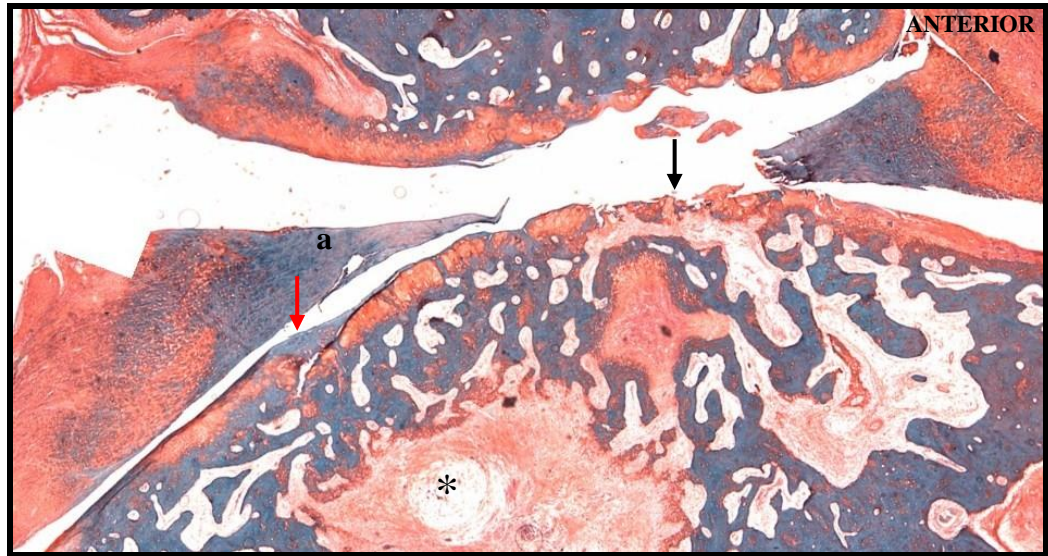


Figura 23 - ATM GC<sub>60</sub>. Observa-se achatamento das superfícies articulares; disco articular rompido (a); redução na coloração de safranina devido à perda de proteoglicanos (seta vermelha), erosão da superfície (seta preta), cisto (\*), 40x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.



Figura 24 - ATM GC<sub>60</sub>. Observa-se reduzida coloração por Safranina-O (seta preta), fenda (seta vermelha), fibrilação (\*), 100x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.

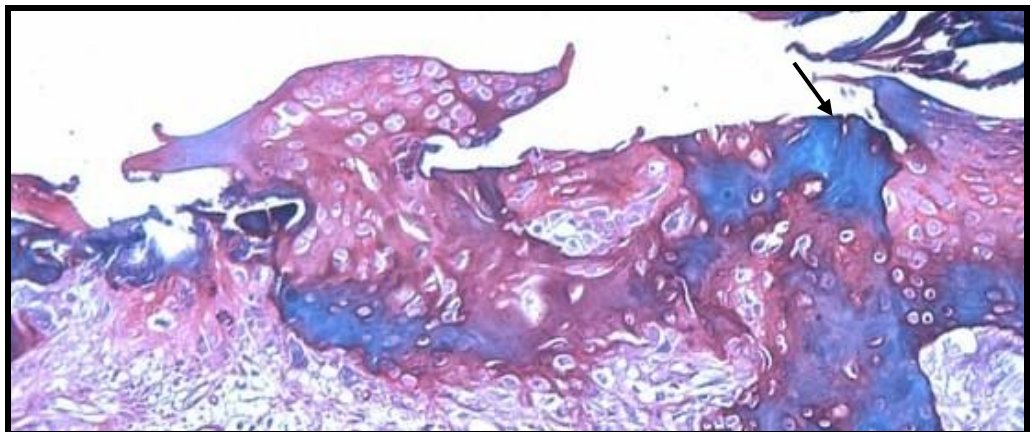
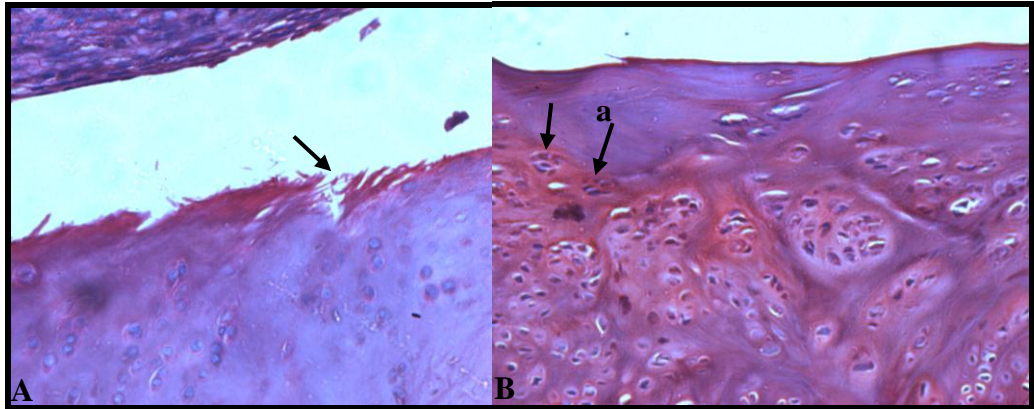


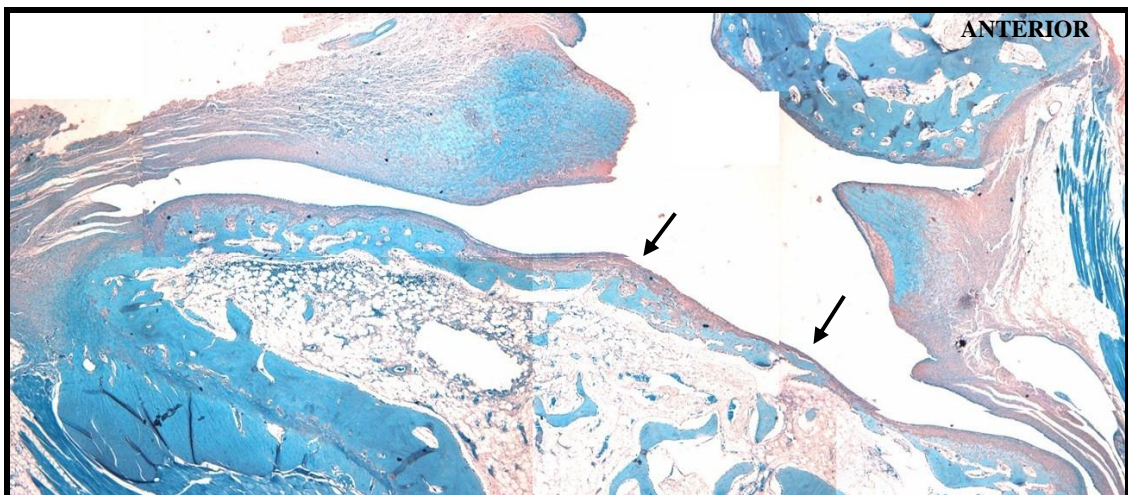
Figura 25 - ATM GC<sub>60</sub>. Observa-se erosão com desnudamento da superfície e exposição de trabéculas ósseas (seta), 200x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.



**Figura 26 - ATM GC<sub>60</sub>.** A: Observa-se área de erosão na cartilagem articular (seta). B: presença de aglomerados celulares (setas), próximos à região com reduzida quantidade de células (a), 400x, Safranina-O.

Fonte: Dados da pesquisa.

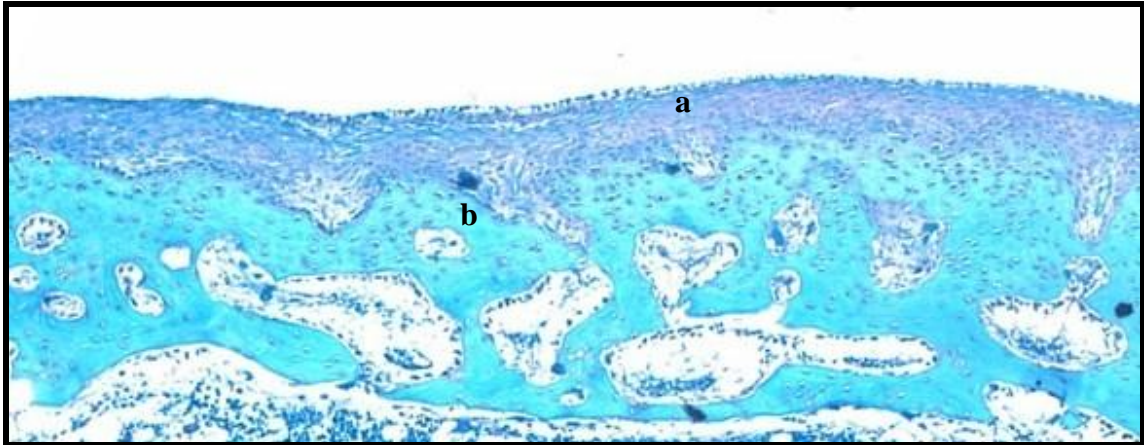
As alterações observadas no GT<sub>20</sub> foram superiores às observadas no GC em qualquer um dos outros tempos, sendo o grupo classificado com os maiores graus de OA. A superfície articular mostrou-se com importante irregularidade e achatamento no seu contorno (Fig. 27) e ausência da camada de cartilagem (Fig. 28), revelando intenso remodelamento ósseo. A superfície foi recoberta por uma camada de tecido conjuntivo denso (Fig. 28), muitas vezes permeado por vasos sanguíneos (Figs. 29 e 31). Pode-se observar também, áreas de ossificação em meio ao tecido fibroso (Fig. 29). Células envolvidas na renovação do tecido ósseo foram encontradas, tais como osteoblastos e osteoclastos (Fig. 30).



**Figura 27 - ATM GT<sub>20</sub>.** Observa-se achatamento condilar e irregularidade da superfície articular (setas), 40x, Safranina-O.

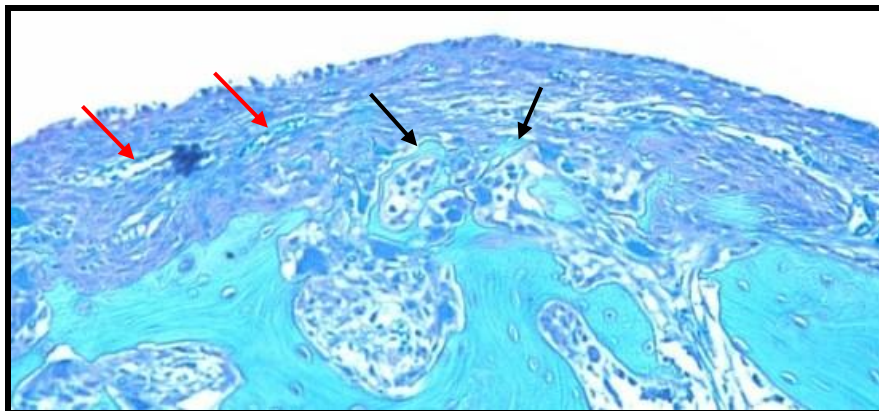
Fonte: Dados da pesquisa.





**Figura 28 - ATM GT<sub>20</sub>. Região superficial do côndilo. Observa-se ausência da camada de cartilagem. Recobrimento da superfície óssea por tecido conjuntivo denso (a), tecido ósseo subcondral (b), 100x, Safranina-O.**

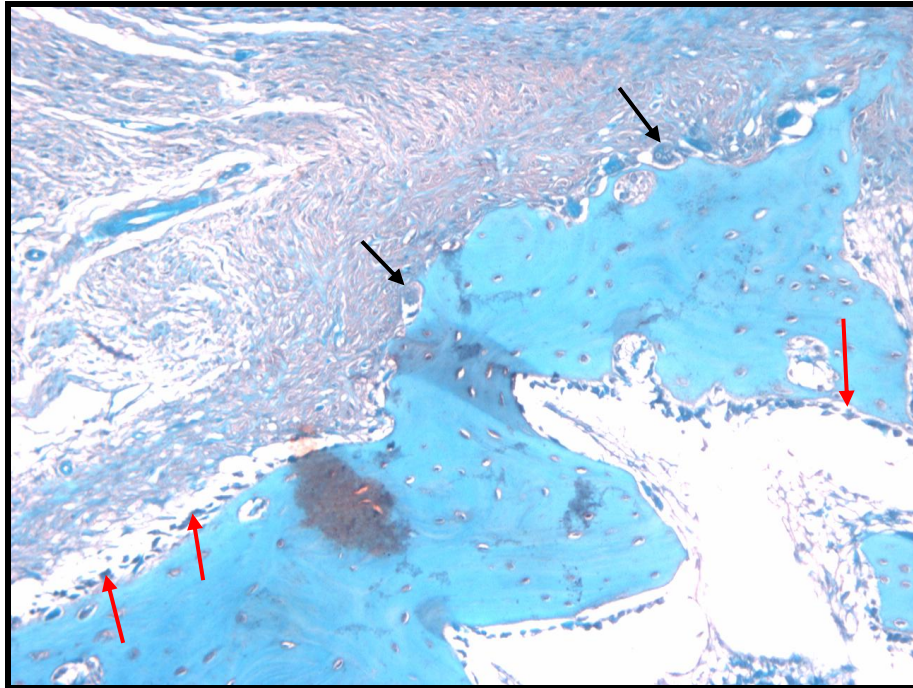
**Fonte: Dados da pesquisa.**



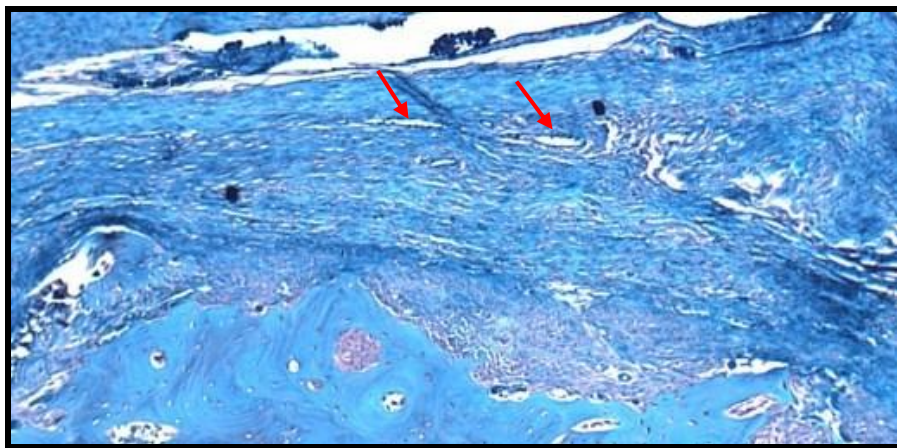
**Figura 29 - ATM GT<sub>20</sub>. Região superficial do côndilo mandibular, mostrando áreas de ossificação em meio à região fibrosa (setas pretas). Presença de vasos sanguíneos em meio ao tecido conjuntivo denso (setas vermelhas), 200x, Safranina-O.**

**Fonte: Dados da pesquisa.**

Em relação ao grupo GT<sub>40</sub>, foram encontrados diferentes graus de osteoartrite. Pode-se observar desde a perda da cartilagem articular, com remodelamento da superfície articular até a presença de cartilagem com redução da coloração de safranina-O (Figs. 32 e 33).

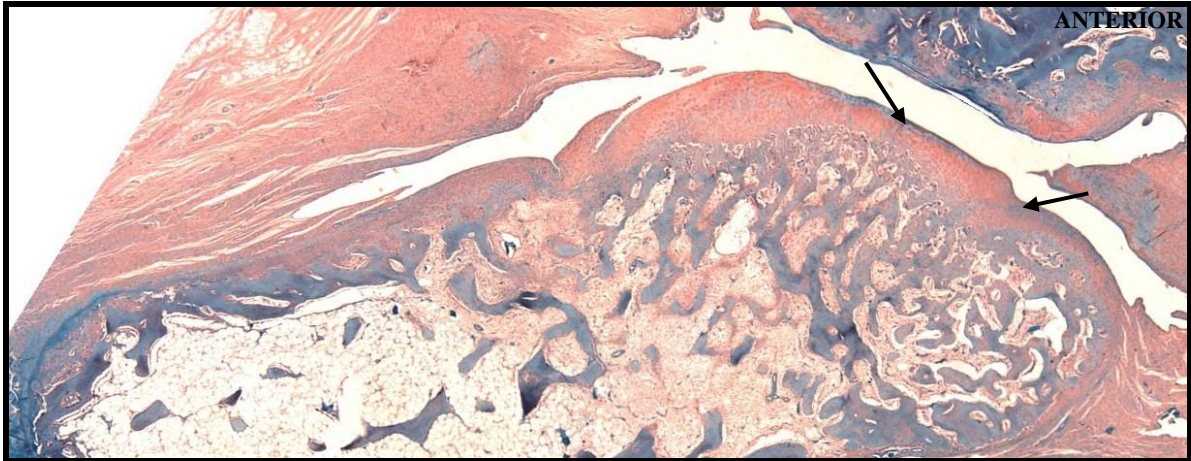


**Figura 30 - ATM GT<sub>20</sub>.** Presença de osteoclastos na região anterior do côndilo mandibular (setas pretas) e osteoblastos (setas vermelhas), evidenciando intenso remodelamento ósseo, 400x, Safranina-O.  
Fonte: Dados da pesquisa.

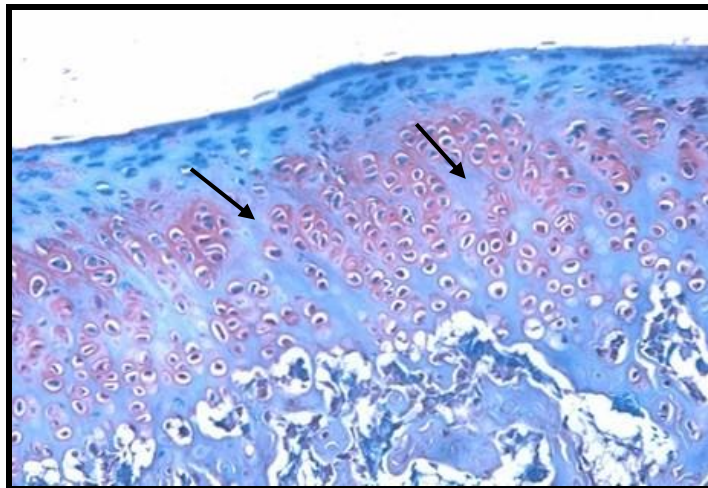


**Figura 31 - ATM GT<sub>20</sub>.** Região superficial do côndilo mandibular apresentando espessa camada de fibras, com ausência de cartilagem; presença de vasos sanguíneos (setas), 200x, Safranina-O.  
Fonte: Dados da pesquisa.





**Figura 32 - ATM GT<sub>40</sub>. Região superficial do côndilo. Observa-se redução de coloração por Safranina-O na camada de cartilagem (setas), 40x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.**



**Figura 33 - ATM GT<sub>40</sub>. Superfície condilar evidenciando a perda da coloração por Safranina-O (setas), 200x, Safranina-O. Fonte: Dados da pesquisa.**

No grupo GT<sub>60</sub>, a maioria das articulações apresentou degeneração compatível com osteoartrite de baixo grau. Assim, em certas regiões, houve redução na coloração por safranina-O na cartilagem articular evidenciando a perda de proteoglicanos. Eventualmente, os condrócitos apresentaram-se agrupados. Em uma das articulações foi observada irregularidade superficial do côndilo (Fig. 34), evidenciando ser uma região de ausência da camada de cartilagem (Figura 35).



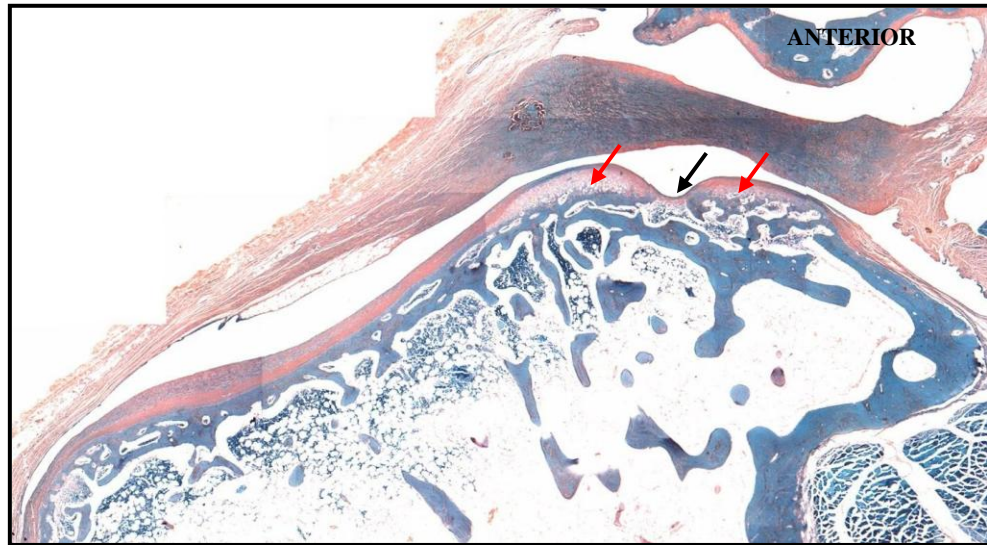


Figura 34 - ATM GT<sub>60</sub>. Processo de reparo avançado na superfície articular. Área de interrupção da camada de cartilagem na região anterior do côndilo (seta preta), camada de cartilagem (setas vermelhas), 40x, Safranina-O.  
Fonte: Dados da pesquisa.

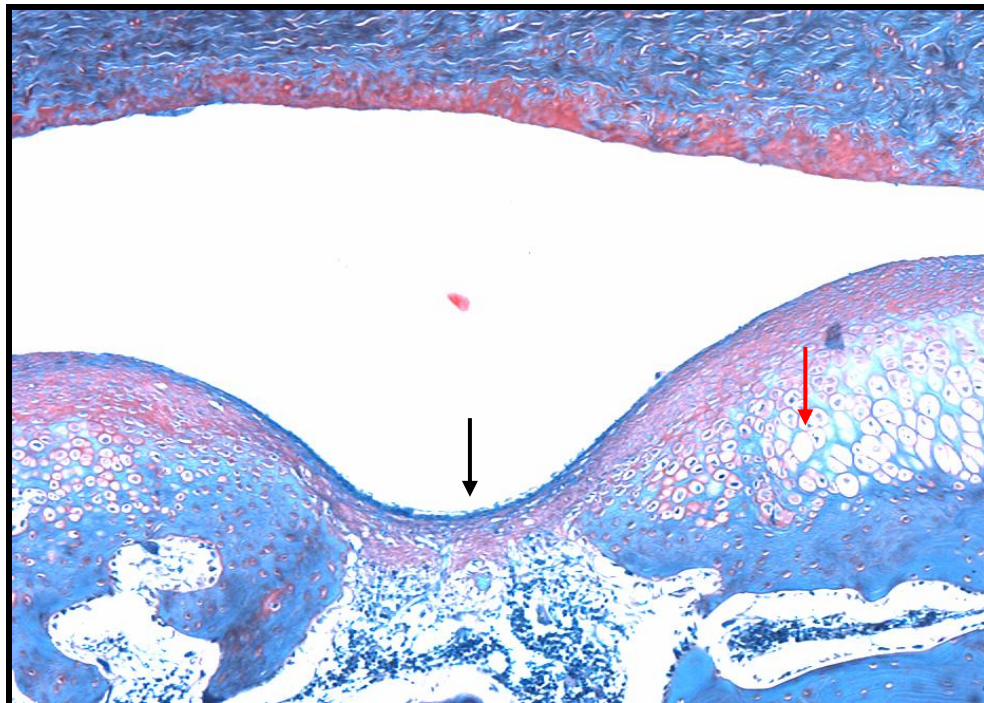


Figura 35 - ATM GT<sub>60</sub>. Área de ausência da camada de cartilagem (seta preta), região de tecido cartilaginoso (seta vermelha), 100x, Safranina-O.  
Fonte: Dados da pesquisa.

#### 4.7 Quantificação do colágeno tipo I no cêndilo mandibular

Considerando-se a regiãõ 1 (anterior do cêndilo articular), em relaãõ à quantificaãõ de colágeno tipo I, os valores estãõ expressos na tabela 3 e na figura 36. Na avaliaãõ estatística, houve diferenãa significativa na comparaãõ entre os grupos GC<sub>40</sub> x GT<sub>20</sub> (p=0,016), GC<sub>40</sub> x GT<sub>60</sub> (p=0,016), GC<sub>60</sub> x GT<sub>20</sub> (p=0,008), GC<sub>60</sub> x GT<sub>40</sub> (p=0,032), GC<sub>60</sub> x GT<sub>60</sub> (p=0,008), quanto ao colágeno tipo I quantificado (p=0,012). Houve tendênciã para uma diferenãa significativa entre os grupos GT<sub>20</sub> x GT<sub>20</sub> (p=0,095), GT<sub>20</sub> x GT<sub>40</sub> (p=0,095), GT<sub>20</sub> x GT<sub>60</sub> (p=0,056), GC<sub>40</sub> x GT<sub>40</sub> (p=0,095). Nas comparaãões entre os demais grupos nãõ foram encontradas diferenãas significativas (Anexo D).

**Tabela 3 - Comparaãões entre medianas, em funãõ de grupo e tempo para a quantificaãõ de colágeno tipo I nas diferentes regiões do cêndilo mandibular.**

		<i>Comparaãões</i>	<i>Medianas</i>	<i>Valor de p</i>
<b>CÊNDILO</b>	<b>Regiãõ 1</b>	GC <sub>40</sub> x GT <sub>20</sub>	248 x 1569	0,016
		GC <sub>40</sub> x GT <sub>60</sub>	248 x 1860	0,016
		GC <sub>60</sub> x GT <sub>20</sub>	39 x 1569	0,008
		GC <sub>60</sub> x GT <sub>40</sub>	39 x 1698	0,032
		GC <sub>60</sub> x GT <sub>60</sub>	39 x 1860	0,008
	<b>Regiãõ 2</b>	GT <sub>20</sub> x GT <sub>40</sub>	206 x 2459	0,032
	<b>Regiãõ 3</b>	GC <sub>20</sub> x GT <sub>40</sub>	46 x 2933	0,016
		GC <sub>60</sub> x GT <sub>40</sub>	0 x 2933	0,016
		GC <sub>60</sub> x GT <sub>60</sub>	0 x 1398	0,032

Regiãõ 1: anterior do cêndilo, Regiãõ 2: central do cêndilo, Regiãõ 3: posterior do cêndilo. Significãncia ao nívõ de 5%.

Em relação à região 2 (central do côndilo articular), os valores estatísticos estão expressos na tabela 3 e na figura 37. Houve diferença significativa somente na comparação entre os grupos GT<sub>20</sub> x GT<sub>40</sub> (p=0,032), quanto ao colágeno tipo I quantificado (p=0,423). Houve tendência de diferença estatística na comparação entre os grupos GC<sub>60</sub> x GT<sub>40</sub> (p=0,056), sendo que no restante das comparações não foram encontradas diferenças significativas (Anexo I).

A mensuração de colágeno tipo I na região posterior do côndilo articular (região 3) mostrou diferenças significativas na comparação entre os grupos GC<sub>20</sub> x GT<sub>40</sub> (p=0,016), GC<sub>60</sub> x GT<sub>40</sub> (p=0,016) e GC<sub>60</sub> x GT<sub>60</sub> (p=0,032), quanto ao colágeno tipo I quantificado (p=0,064). Os valores estão expressos na tabela 3 e na figura 38. As comparações entre os grupos GC<sub>20</sub> x GT<sub>60</sub> (p=0,056) e GC<sub>40</sub> x GC<sub>60</sub> (p=0,095), mostraram que houve tendência para uma diferença significativa. Não foram encontradas diferenças estatísticas nas comparações entre os demais grupos (Anexo I).

A análise histológica da cartilagem da superfície condilar do grupo GC em todos os tempos analisados mostrou reduzida birrefringência de coloração vermelho-alaranjada, evidenciando uma quantificação menor de colágeno tipo I nas articulações com osteoartrite (Fig. 39). Tal ocorrência foi significativa principalmente na região anterior do côndilo mandibular, na comparação do grupo GC<sub>40</sub> com os grupos GT<sub>20</sub> e GT<sub>60</sub>, e na comparação do grupo GC<sub>60</sub> com os grupos GT<sub>20</sub>, GT<sub>40</sub> e GT<sub>60</sub>. Na região posterior do côndilo, o colágeno tipo I foi significativamente menor principalmente no grupo GC<sub>60</sub> em comparação aos grupos GT<sub>40</sub> e GT<sub>60</sub>. Nos grupos em que foi encontrada uma menor birrefringência e, portanto, reduzida quantificação de colágeno tipo I, pode-se observar uma perda de colágeno ou um remodelamento. Neste caso, com o predomínio do colágeno tipo III, o qual apresenta fibras mais finas em relação ao colágeno tipo I. Também, observou-se espessura reduzida ou ausência da camada de cartilagem articular (Fig. 40).

Consequentemente, no grupo GT, em todos os tempos envolvendo estas mesmas comparações, a quantificação de colágeno apresentou uma birrefringência maior de coloração vermelho-alaranjada. Tal fato evidenciou o predomínio do colágeno tipo I (Fig. 41), formando fibras mais grossas (Fig. 42). No grupo GT<sub>20</sub> dias, a camada de cartilagem apresentou espessura reduzida, com predomínio de tecido conjuntivo fibroso (Fig. 43). Já no grupo GT<sub>60</sub> dias, foi encontrada espessura normal de fibrocartilagem (Fig. 44).

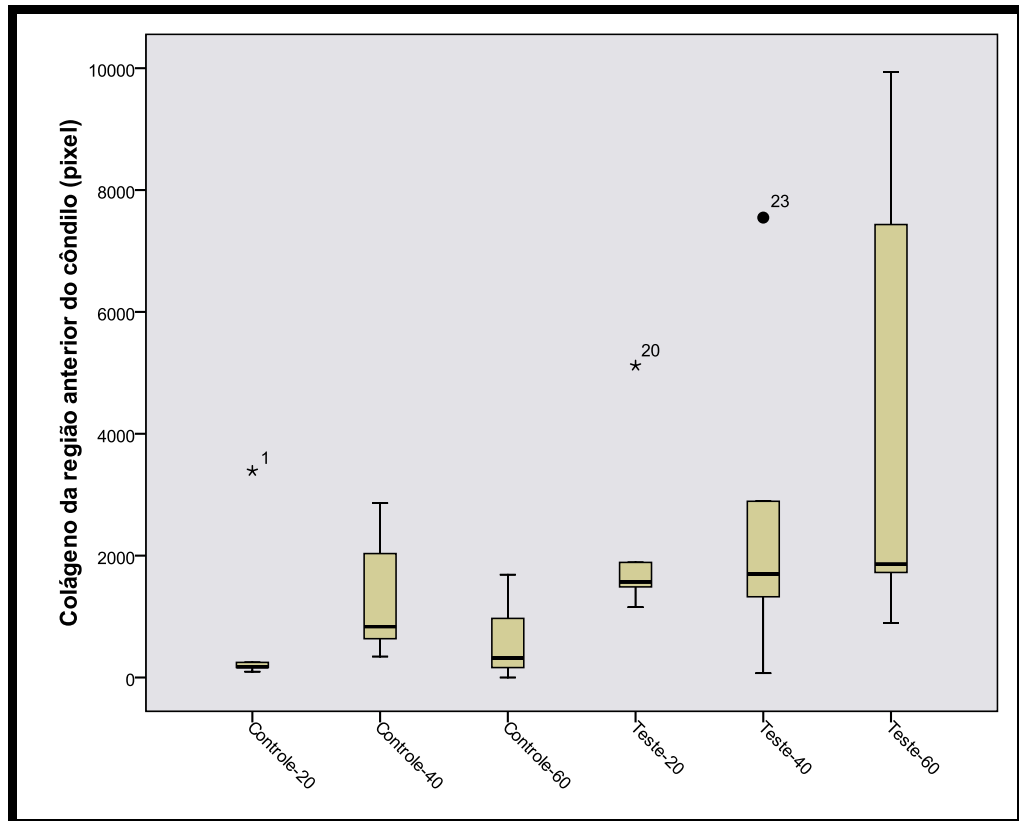


Figura 36 – Gráfico Box-Plot representando as medianas para a quantificação de colágeno tipo I na região anterior do cõndilo. Fonte: Dados da pesquisa.

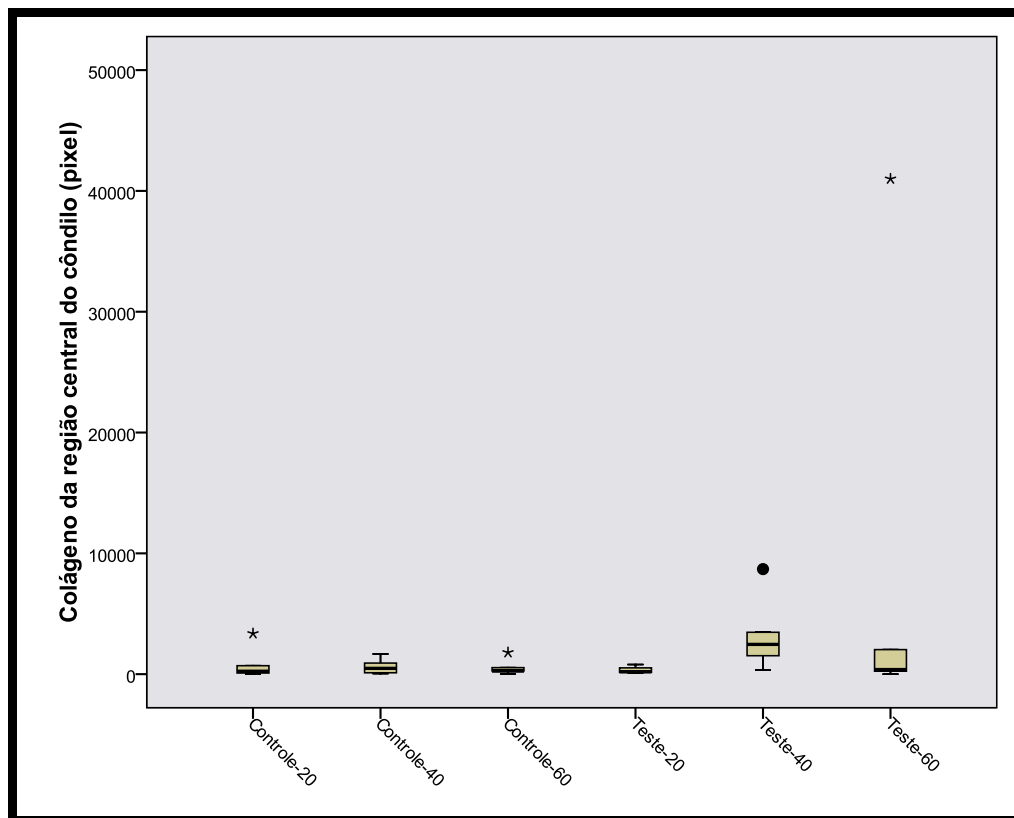
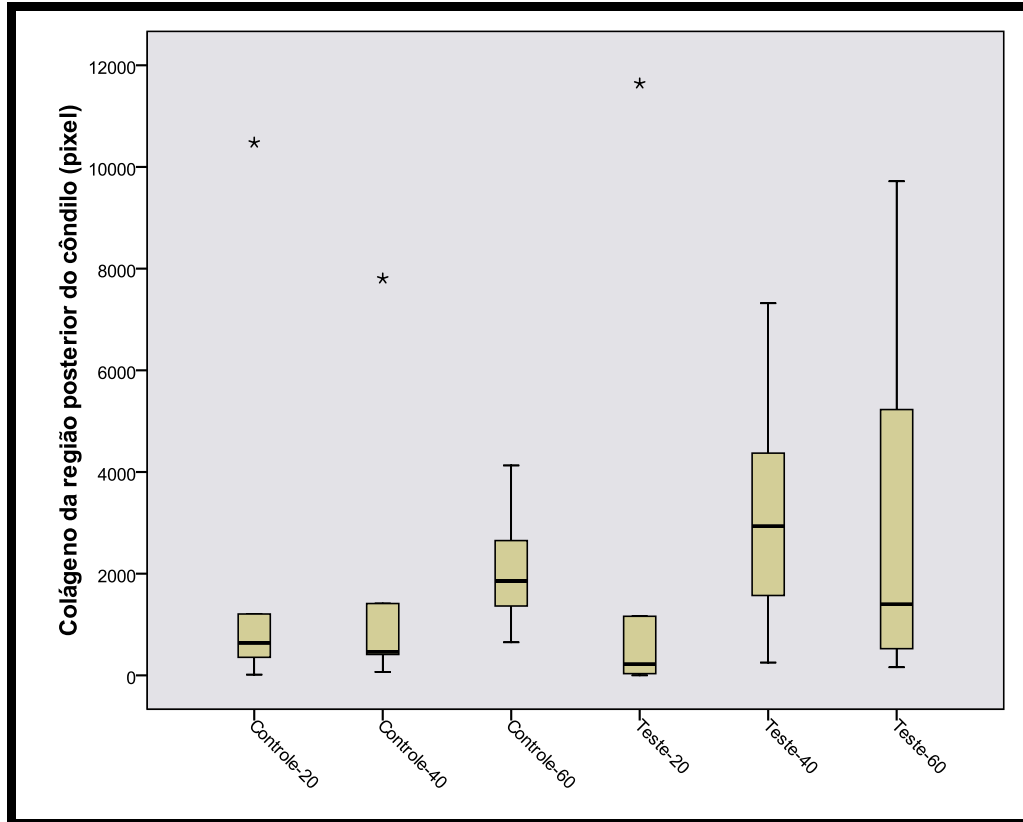
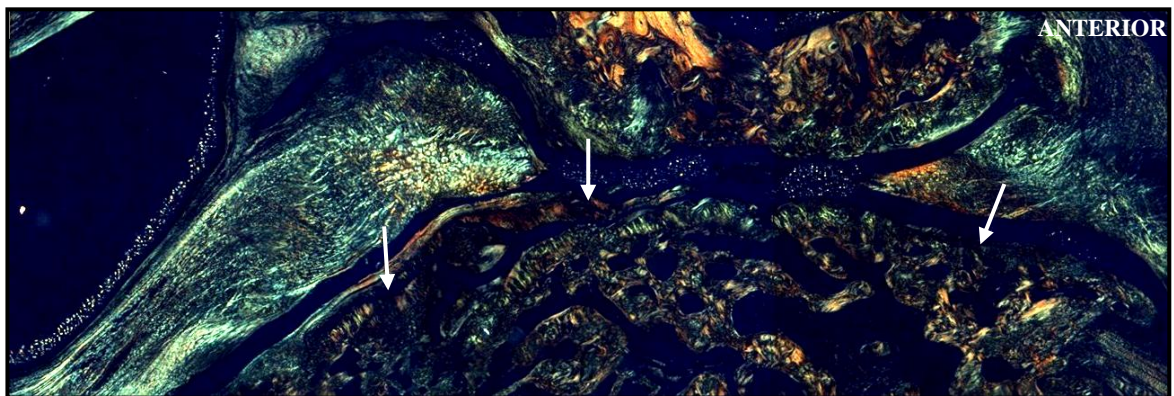


Figura 37 – Gráfico Box-Plot representando as medianas para a quantificação de colágeno tipo I na região central do cõndilo. Fonte: Dados da pesquisa.



**Figura 38** – Gráfico Box-Plot representando as medianas para a quantificação de colágeno tipo I na região posterior do côndilo.

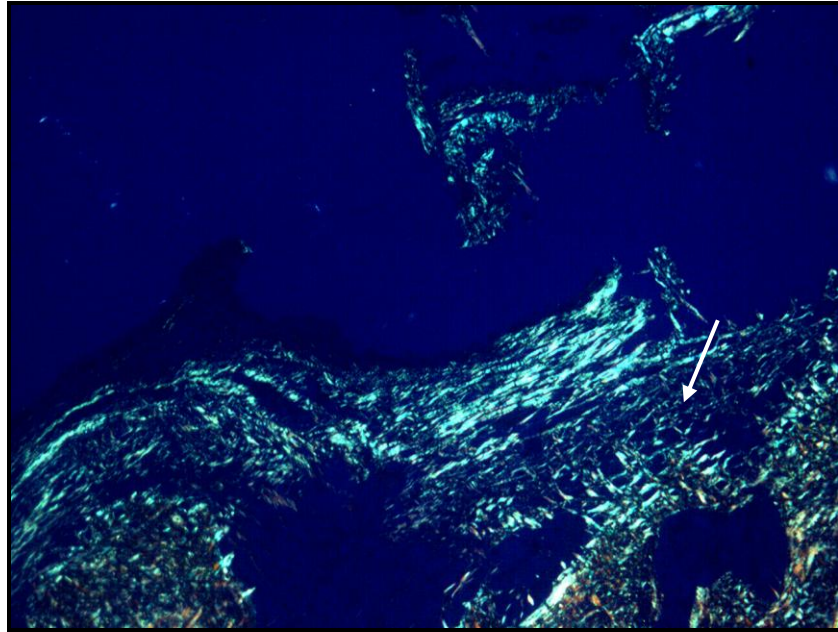
Fonte: Dados da pesquisa.



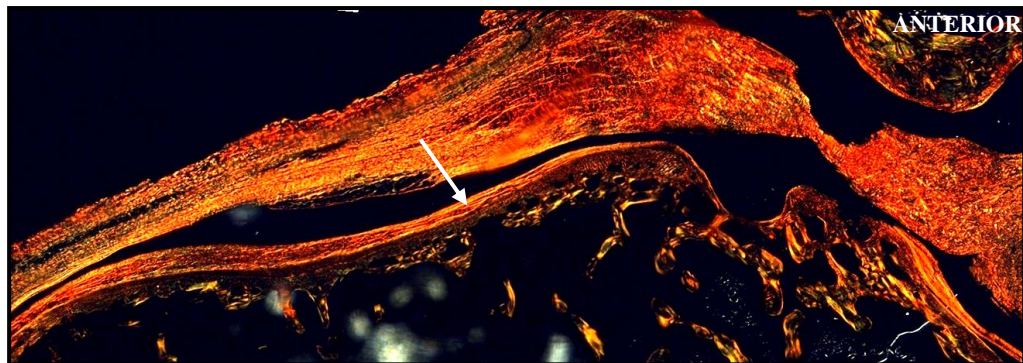
**Figura 39** - ATM GC<sub>60</sub>. Observa-se reduzida birrefringência de coloração vermelho-alaranjada em toda a extensão do côndilo mandibular (setas), evidenciando perda de colágeno, 40x, Picrosirius.

Fonte: Dados da pesquisa.

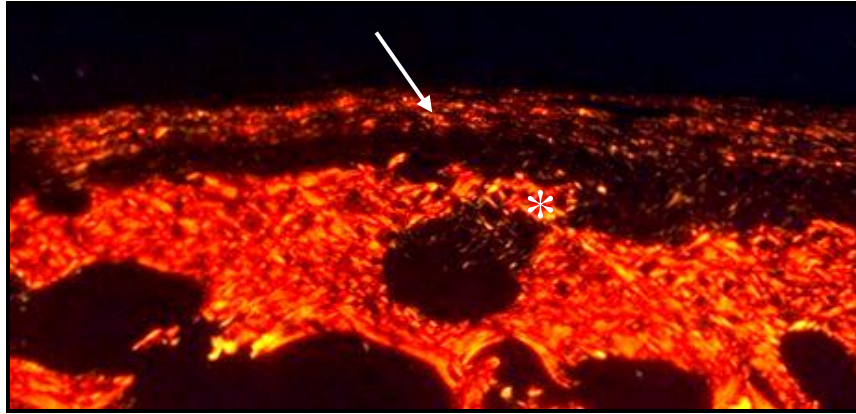




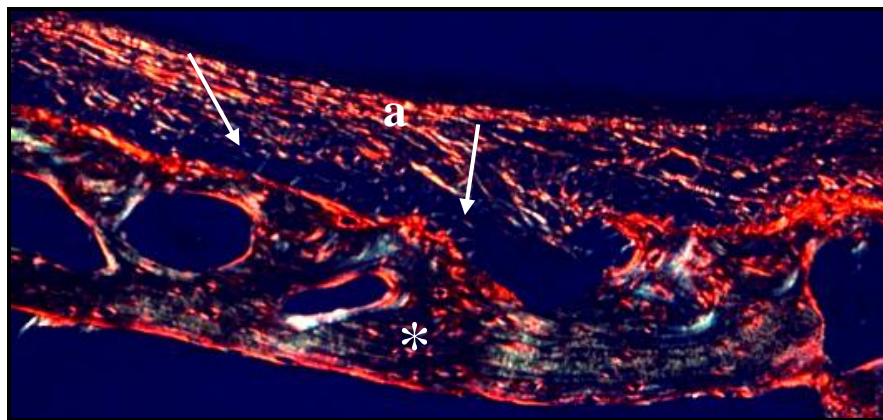
**Figura 40 - ATM GC<sub>40</sub>.** Reduzida espessura da camada de cartilagem (seta), com marcada presença de colágeno tipo III, evidenciada pela birrefringência de coloração esverdeada. Região central do côndilo, 200x, Picrosirius.  
**Fonte:** Dados da pesquisa.



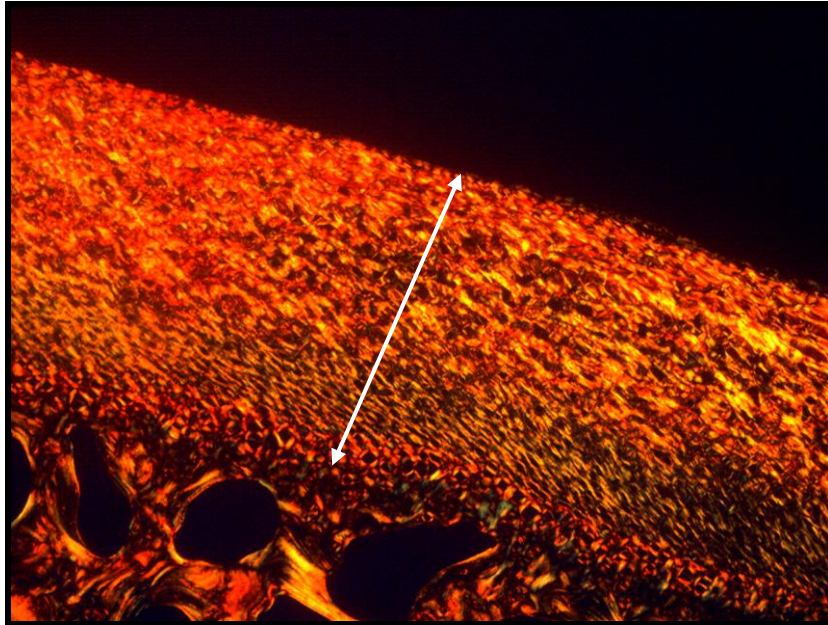
**Figura 41 - ATM GT<sub>60</sub>.** Presença de intensa birrefringência de coloração vermelho-alaranjada em toda a extensão da superfície do côndilo mandibular (seta), evidenciando a presença do colágeno tipo I, 40x, Picrosirius.  
**Fonte:** Dados da pesquisa.



**Figura 42 - ATM GT<sub>20</sub>.** Região central do côndilo mandibular com recobrimento por tecido fibroso (seta). Presença de fibras grossas na camada de cartilagem, evidenciadas pela birrefringência vermelho-alaranjada e características do colágeno tipo I (\*), 200x, Picrosirius.  
**Fonte:** Dados da pesquisa.



**Figura 43 - ATM GT<sub>20</sub>.** Região central do côndilo mandibular, mostrando recobrimento por tecido fibroso (a) e discreta quantidade de cartilagem (setas), com presença de birrefringência vermelho-alaranjada. Tecido ósseo subcondral (\*), 200x, Picrosirius.  
**Fonte:** Dados da pesquisa.



**Figura 44 - ATM GT<sub>60</sub>. Região posterior do côndilo mandibular. Presença de birrefringência com coloração vermelho-alaranjada. Espessura normal da camada de cartilagem (seta), 200x, Picrossírius. Fonte: Dados da pesquisa.**



## 5 DISCUSSÃO

A cartilagem articular na osteoartrite apresenta um importante aumento na quantidade de enzimas lisossômicas celulares, o que coincide com a redução da matriz de proteoglicanos. A enzima marcadora da atividade proteolítica é a fosfatase ácida. Como consequência dessa condição, as células cartilaginosas respondem com proliferação e com o aumento da biossíntese de proteoglicanos e de colágeno. Portanto, a cartilagem articular possui a capacidade de reagir a esta alteração degenerativa (LANG, ZIMNY, VIJAYAGOPAL, 1993).

Neste trabalho, a forma de indução de osteoartrite seguiu as propostas de utilização do monoiodoacetato de sódio (MIA) para a indução da doença em joelhos de ratos (GUINGAMP, *et al.*, 1997) e ATM de coelhos (CLEDES, *et al.*, 2006). Tal substância inibe a síntese de proteoglicanos da cartilagem articular, o que gera um desequilíbrio entre o anabolismo e o catabolismo desse tecido, causando lesões na sua estrutura (GUINGAMP, *et al.*, 1997). Assim, utilizamos uma dose de 0,5 mg/ATM de ácido, diluída em 50 µl de soro fisiológico, considerada uma dose elevada da substância indutora, ideal para um estudo com avaliação a longo prazo. Analisando-se os grupos GC<sub>20</sub>, GC<sub>40</sub> e GC<sub>60</sub> foram observadas importantes alterações nas estruturas articulares, havendo semelhança na severidade da doença entre os mesmos. A camada de cartilagem mostrou-se ausente em várias regiões. Quando presente, houve redução da sua espessura, fibrilação, erosão e degeneração de condrócitos. No tecido ósseo subcondral observaram-se áreas de ossificação superficiais, resultado de atividade osteoblástica.

No estudo de Guzman *et al.* (2003), os autores verificaram que o tempo necessário para haver um processo de remodelamento após a indução de OA em joelhos de ratos foi de sete dias, com dose de 1.0 mg/articulação. As mudanças consistem em aumento das atividades osteoclástica e osteoblástica no trabeculado ósseo, subjacente às áreas de degeneração de cartilagem.

Já no estudo de Guingamp *et al.* (1997), em que também houve indução de OA em joelhos de ratos, ocorreu a exposição do tecido ósseo subcondral esclerótico no compartimento femorotibial 15 dias após a administração de MIA. Esta alteração foi observada nos grupos de animais que receberam 3.0 e 0.3 mg/ATM de MIA, sendo consideradas altas doses de ácido. No tempo de 30 dias pós-indução de OA, a cartilagem foi totalmente perdida, havendo exposição e remodelamento das trabéculas ósseas, com organização lamelar paralela à superfície. A dose de 0.3 mg/ATM foi próxima à utilizada

no presente trabalho, com resultados histológicos compatíveis entre os estudos. Porém, em tempos de avaliação e estruturas anatômicas diferentes.

Estes aspectos também foram citados no trabalho de Janusz *et al.* (2001), em que, após três semanas de injeção de uma dose de 0,25 mg de MIA em joelhos de ratos, os autores mostraram que houve remodelamento do tecido ósseo subcondral acompanhado de áreas de calcificação da cartilagem. Também, houve fibrilação e perda da coloração de proteoglicanos por Safranina-O.

Segundo Velosa, Teodoro e Yoshinari (2003), a resposta da cartilagem articular normal à degeneração é vista como uma tentativa de reparação ineficiente. Inicialmente, observa-se fragilização da rede de colágeno, perda de fragmentos de proteoglicanos para o fluido sinovial e acúmulo de água no tecido cartilaginoso. Os condrócitos podem proliferar e formar aglomerados celulares, havendo, além disso, aumento na síntese da matriz como tentativa de reparação tecidual. Entretanto, na fase crônica as enzimas degenerativas superam a capacidade sintética e a reparação falha. No presente estudo, verificou-se que no grupo controle, em todos os tempos avaliados, as características histológicas foram compatíveis com a fase crônica da doença, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os mesmos. Pode-se considerar, neste caso, o fato de ter sido feita uma análise da degeneração entre 60 e 100 dias, ou seja, um longo prazo em todos os grupos. Dessa forma, não houve uma avaliação histológica com início imediato após a indução da doença e que acompanhasse as alterações do seu desenvolvimento.

No presente estudo, em muitos sítios, houve a perda de proteoglicanos, identificando-se pela redução de coloração por Safranina-O. A perda ou a redução da espessura da camada de cartilagem foi um achado comum. Esta característica também foi encontrada no estudo de Lydiatt e Davis (1985), em que foi realizada a imobilização maxilomandibular de coelhos com articulações normais. Comparada ao grupo controle, no qual não houve imobilização, a cartilagem condilar dos animais do grupo teste apresentou-se mais fina a partir dos 10 dias de imobilização. Os autores destacaram que esta degeneração foi observada precocemente, sendo progressiva e consistente com as características de uma osteoartrite.

Já no estudo de Ali e Sharawy (1994), o deslocamento anterior do disco da ATM de coelhos causou o aumento da espessura da camada de cartilagem e hiperplasia de condrócitos após 7 dias de deslocamento do disco. A perda da cartilagem foi observada em algumas áreas após 14 dias da alteração articular causada. Tal processo é mediado principalmente por enzimas denominadas metaloproteases (MMP) ou matrixins. Existem três

grupos de metaloproteases: colagenase, gelatinase e estromelina. De acordo com Velosa, Teodoro e Yoshinari (2003), no processo artrósico existe um predomínio na produção de metaloproteases em comparação aos seus inibidores.

O início de intensa atividade celular pode ser o resultado do aumento das forças que incidem diretamente sobre o tecido ósseo exposto, compreendendo-se que há uma relação anatômica entre a perda de cartilagem e as alterações no tecido ósseo subcondral, segundo Guzman *et al.*, (2003). No estudo de Cledes *et al.*, (2006), a camada de cartilagem foi totalmente perdida e o tecido ósseo subcondral ficou recoberto por um tecido conjuntivo pouco celular no tempo de 30 dias pós-indução de OA. Porém, não houve remodelamento ósseo neste tempo, considerando-se que foi utilizada uma dose de 0,075mg/ATM de MIA e que a doença é dose-dependente no seu processo de indução. Da mesma forma, no presente trabalho, após 60 dias a partir da indução da doença e com uma dose de 0,5mg/ATM, a superfície condilar também mostrou-se ausente de camada de cartilagem e com recobrimento por tecido conjuntivo em certas regiões. Entretanto, ao contrário do estudo de Cledes *et al.* (2006), foram observadas áreas de ossificação superficiais.

A progressão da doença pode cessar em algum estágio, dependendo de uma alteração fisiológica da articulação, como a redução das forças direcionadas à superfície articular (DE BONT, *et al.*, 1985). A técnica cirúrgica da condilotomia propõe a alteração do posicionamento do côndilo, ficando mais inferior e anterior em relação à eminência, aumentando o espaço articular. Assim, altera-se a intensidade e a localização das forças que incidem sobre sua superfície (UPTON, 1996).

No presente estudo, no grupo GT<sub>20</sub>, as articulações apresentaram importante remodelamento condilar, sendo classificadas no nível seis de desenvolvimento da doença, conforme o escore de Pritzker *et al.* (2006), (Anexo II). Dessa forma, este grupo apresentou um grau de osteoartrite significativamente maior em comparação aos grupos GC<sub>20</sub>, GC<sub>40</sub> e GC<sub>60</sub>. A superfície irregular do côndilo foi geralmente recoberta por uma camada de tecido conjuntivo fibroso, que em algumas regiões revelou-se espessa. O tecido ósseo subcondral mostrou grande atividade osteoblástica e osteoclástica, com formação de novas trabéculas. Também, em alguns sítios, a cartilagem esteve ausente. Quando em reduzida espessura, apresentou áreas de calcificação. Tais características indicaram um avançado grau de degeneração articular. Compreende-se que tal processo de remodelamento seja o resultado da adaptação do côndilo frente a sua nova posição, apresentando morfologia compatível com ela.

Em humanos, Albury (1989) observou o remodelamento do côndilo mandibular, iniciado três meses após a realização de corono-condilomia e que permaneceu contínuo por um período de 17 meses, em um paciente com processo ativo de osteoartrite. O autor sugeriu que após a intervenção cirúrgica ocorre uma resposta fisiológica adaptativa com a redução da carga incidente sobre o côndilo mandibular.

No presente trabalho, realizou-se a imobilização dos segmentos ósseos com sistema de fixação rígida, mantendo-se um padrão na posição condilar. Dessa forma, evitou-se um viés de técnica cirúrgica. Já no estudo de Lydiatt e Davis (1985), os autores realizaram um trabalho envolvendo imobilização maxilo-mandibular associada à condilomia em coelhos. Em todos os grupos experimentais, que foram imobilizados, os autores observaram alterações na espessura e na organização da camada de cartilagem. Porém, não houve diferenças entre os grupos imobilizados submetidos ou não à realização da condilomia. Deve-se considerar que foram utilizados animais sem alterações articulares.

Na comparação estatística entre os grupos GT<sub>20</sub> e GT<sub>60</sub>, encontrou-se diferença significativa quanto ao grau de osteoartrite, sendo que no grupo de 60 dias, os côndilos apresentaram alterações degenerativas reduzidas. Dessa forma, pode-se afirmar que houve inicialmente, após a condilomia, uma importante atividade de remodelação óssea. Este processo resultou em uma nova morfologia condilar, readaptada funcionalmente e com regressão do processo degenerativo. Para Mongini (1980), as alterações degenerativas podem ser o resultado de uma disfunção oclusal crônica levando a uma alteração na forma do côndilo mandibular devido ao remodelamento ósseo. O fato de acontecer uma nova alteração na morfologia após uma reabilitação oclusal confirma a importância do remodelamento como um processo funcional. Pacientes que apresentavam achatamento e lesões osteoartísticas condilares mostraram remodelamento e desaparecimento da doença após a readequação da oclusão, por meio da reabilitação com próteses e tratamento ortodôntico num período médio de 20 meses. Segundo Puricelli (2000), no caso da condilomia, mantém-se a condição oclusal funcional já existente, sendo que o remodelamento do côndilo ocorre como consequência de sua nova posição na estrutura articular.

No estudo de Hall, Nickerson e McKenna, (1993), foram analisados os resultados clínicos de 251 pacientes submetidos à condilomia, por meio de exames físicos e radiográficos. Os autores observaram que a morfologia condilar altera-se de duas formas. A primeira, mais comum, foi uma nova formação óssea, observada radiograficamente, sobre as regiões posterior e superior do côndilo. A cortical resultou em duas linhas de contorno, representando remodelamento progressivo, o qual pode ser visualizado em radiografias após

10 a 14 semanas a partir da cirurgia, especialmente em pacientes jovens. A segunda, e menos comum alteração morfológica, foi a deformação do côndilo, compatível com doença articular degenerativa, a qual representa ser, conforme afirmam os autores, um remodelamento regressivo. Em uma amostra de 150 articulações, avaliadas entre 1 e 8 anos a partir da condilotomia, somente 3 desenvolveram a deformidade condilar. Contrariando este segundo resultado encontrado por Hall, Nickerson, e McKenna, (1993), no presente trabalho, não foram observadas alterações degenerativas no GT<sub>60</sub> que caracterizassem o agravamento da OA em comparação ao grupo GT<sub>20</sub>. Portanto, dessa forma, houve remodelamento progressivo das articulações em animais.

Na comparação entre os grupos GC<sub>20</sub> e GC<sub>60</sub> com o grupo GT<sub>60</sub> (Tabela 2), houve diferença estatisticamente significativa, sendo que os dois primeiros apresentaram considerável grau de degeneração. Tal fato evidencia um processo de reorganização das estruturas articulares após a condilotomia, num tempo de aproximadamente 100 dias, a partir da indução da OA e 60 dias pós-operatórios. De acordo com Hochman e Laskin (1965), a superfície do côndilo mandibular é recoberto por uma densa camada de tecido conjuntivo fibroso. No estudo desenvolvido pelos mesmos autores, em que se realizaram defeitos de 1 mm de diâmetro sobre a superfície da ATM de coelhos para avaliar a capacidade de reparo, a origem predominante dos condrócitos foram células indiferenciadas presentes no tecido conjuntivo, o qual se proliferou no defeito criado. Em relação a este aspecto, tal tecido apresenta um comportamento semelhante ao pericôndrio, tornando-se uma fonte de células mesenquimais. Como consequência, os defeitos criados estavam completamente reparados após 12 semanas ou 84 dias.

No estudo de Filinte *et al.*, (2011), foram criados defeitos com 2 mm de diâmetro na superfície condilar da ATM de coelhos no intuito de desenvolver osteoartrite. Na mesma oportunidade, os côndilos foram recobertos por uma camada de pericôndrio. No grupo teste, houve um reparo significativo da cartilagem após 8 semanas, ficando muito próximo da normalidade e com ausência de OA. Já no grupo controle, onde não foi adaptado pericôndrio, o defeito permaneceu demarcado sobre a cartilagem, havendo a formação de tecido fibroso e mínimo reparo cartilaginoso. Também, por meio de imagens tomográficas, os côndilos apresentaram sinais de OA após 6 semanas. No presente estudo, a reduzida severidade de osteoartrite na superfície condilar foi observada nos animais do grupo GT<sub>60</sub>, ou seja, após 100 dias a partir da indução da OA, passando pela condilotomia. Dessa forma, pode-se afirmar que alterações artríticas, particularmente de natureza traumática, também são reversíveis, desde que os fatores etiológicos sejam corrigidos (HOCHMAN, LASKIN, 1965).

Devido ao fato de o colágeno intersticial apresentar disposição de moléculas em orientação paralela, a birrefringência é uma característica clássica destas estruturas. As moléculas de colágeno, sendo ricas em aminoácidos básicos, reagem fortemente com corantes ácidos, exibindo diferentes cores e intensidades de birrefringência, analisadas em cortes, sob efeito de polarização da luz e em coloração de Picrossírius (JUNQUEIRA, MONTES, SANCHEZ, 1982).

A cartilagem osteoartrítica é caracterizada inicialmente pela manutenção do conteúdo de colágeno. Porém, são observadas alterações no tamanho e no arranjo das fibras, apresentando-se de forma desorganizada, com arranjo cruzado e amplamente mais separadas do que o normal. Também, evidencia-se a presença de fibras mais espessas (DE BONT, 1985; DIJKGRAFF, 1995b). Num estágio mais avançado da OA, os componentes da matriz extracelular, incluindo água, proteoglicanos e colágeno são reduzidos em quantidade (DIJKGRAFF, 1995b).

No presente estudo, em relação à quantificação do colágeno tipo I na superfície articular, houve diferenças significativas na comparação entre os grupos das três regiões avaliadas. No grupo GC observou-se uma redução na birrefringência vermelho-alaranjada em relação ao grupo GT, principalmente na comparação entre os grupos da região 1 (anterior do côndilo mandibular). Destaca-se, neste caso, o grupo GC<sub>60</sub>, que apresentou um baixo valor de mediana, quando comparada a dos grupos GT<sub>20</sub>, GT<sub>40</sub> e GT<sub>60</sub>. Tal fato evidencia uma baixa quantidade de colágeno tipo I, refletindo a perda do mesmo ou o remodelamento tecidual, favorecendo o aumento de coloração esverdeada, caracterizada pela presença de colágeno tipo III. Para Aigner *et al.*, (1993) o colágeno tipo III foi observado sendo expresso por condrócitos e depositado na matriz extracelular da camada superficial e intermediária da cartilagem com osteoartrite de joelhos em humanos. O mesmo está associado às áreas de fibrilação e às regiões de redução de coloração por perda de proteoglicanos.

Na região 2 (central do côndilo), houve diferença significativa somente na comparação entre os grupos GT<sub>20</sub> e GT<sub>40</sub>, sendo que a quantificação de colágeno tipo I foi maior no tempo de 40 dias. Em relação à região 3 (posterior do côndilo mandibular), o grupo GC<sub>60</sub> apresentou uma quantificação de colágeno tipo I significativamente menor em relação aos grupos GT<sub>40</sub> e GT<sub>60</sub>. Da mesma forma que na região 1 (anterior do côndilo), a quantificação do colágeno tipo III foi expressiva no GC<sub>60</sub>, evidenciando uma tentativa de reparo do colágeno, como resultado da presença de osteoartrite. Tais achados foram compatíveis com os resultados de Gage, Shaw, Moloney (1995), que, em humanos com disfunção de articulação temporomandibular e deslocamento de disco, encontraram uma

quantidade maior de colágeno tipo III na banda posterior do disco em comparação a indivíduos que não apresentavam a degeneração. A origem do aumento da quantidade do colágeno tipo III em tal região pode ser o resultado de tentativa imediata de reparo cicatricial. Os autores também afirmaram que as fibras formadas a partir do colágeno tipo III são encontradas em tecidos conjuntivos mais distensíveis e frágeis, como, por exemplo, em discos articulares danificados, o que pode levar ao seu rompimento e à disfunção de ATM.

No grupo GT, não houve diferença significativa entre os tempos avaliados nas três regiões pesquisadas. Entretanto, este grupo apresentou medianas com valores maiores e significativos em comparação ao GC, evidenciando o predomínio de colágeno tipo I, após a realização da condilotomia. De acordo com Silva (2009), isto representa o aparecimento de fibras grossas, dispostas de forma heterogênea e desordenada, revelando a produção fibrocartilaginosa. Este resultado é compatível com outro estudo, desenvolvido por Robinson (1993), em que foram realizados defeitos sobre a superfície condilar de ATM de saguis. O autor verificou que houve um processo de reparo da cartilagem com a presença de colágeno tipo I próximo às áreas lesadas desde o início do processo. Tal fato pode ser explicado pela presença deste tipo de colágeno principalmente nas camadas articular, proliferativa e, em menor quantidade na zona intercelular da camada hipertrófica. Enquanto o colágeno tipo II foi somente observado após oito semanas a partir do defeito criado, estando associado à zona hipertrófica, que apresenta um reparo mais tardio.

Assim, apresentando a ATM uma camada de fibrocartilagem, em caso de dano a esta estrutura, o processo inicial de reparo será com a proliferação de tecido conjuntivo preenchendo as áreas dos defeitos, com predominância de colágeno tipo I (ROBINSON, 1993). No presente estudo, as articulações do GC, as quais apresentavam osteoartrite e perda de colágeno ou predomínio de colágeno tipo III foram submetidas à condilotomia. Assim, sofreram um processo de remodelamento da superfície condilar, resultando no aparecimento de fibras grossas de colágeno tipo I.

Segundo Bornstein (1980), em situações de fibrose e de intensa síntese e deposição de tecido conjuntivo, principalmente de colágeno, ocorre alteração da arquitetura normal e da função da estrutura afetada. O aumento na quantidade de colágeno tipo I deixa o tecido mais rígido, menos distensível e com adesão reduzida. Tal fato representa estágios inflamatórios crônicos, em que houve a síntese de colágeno tipo III previamente. Porém, esta fase de predomínio de colágeno tipo III é transitória e substituída pelo colágeno tipo I em grande quantidade.

## 6 CONCLUSÃO

Após a realização do presente estudo foi possível concluir que:

- A severidade da osteoartrite nas articulações temporomandibulares submetidas à condilotomia foi menor em comparação ao grupo controle. Observou-se remodelamento ósseo e cartilaginoso no côndilo mandibular dos animais submetidos à técnica cirúrgica, mantendo a função condilar. Portanto, a condilotomia foi uma técnica eficaz no processo de recuperação da superfície articular da ATM de coelhos.

- O colágeno tipo III, predominante na camada de cartilagem das articulações temporomandibulares com osteoartrite, foi substituído pelo colágeno tipo I após a realização da condilotomia aqui proposta. Esta alteração ocorreu principalmente na região anterior do côndilo, sugerindo a ocorrência de mudança no padrão das forças articulares incidentes nesta área.

- Os resultados encontrados e discutidos no presente trabalho sugerem a realização de novos estudos envolvendo a técnica da condilotomia e sua influência sobre a articulação temporomandibular com osteoartrite.



## REFERÊNCIAS

- AIGER, T., *et al.* Independent Expression of Fibril-forming Collagens I, II, III in Chondrocytes of Human Osteoarthritic Cartilage. **J Clin Invest.**, New Haven, v. 91, no. 3, p. 829-837, Mar. 1993.
- ALBURY, C. D. Modified Condylotomy for Chronic Nonreducing Disk Dislocations. **Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Radiol Endod.**, St. Louis, v. 84, no. 3, p. 234-240, Sep. 1997.
- ALBURY, C. D. Progressive Remodeling of an Osteoarthritic Condyle Postoperative Coronoid Condylotomy. A Case Report. **Cranio.**, Chattanooga, v. 7, no. 3, p. 245-248, July 1989.
- ALI, A. M.; SHARAWY, M. M. Histopathological Changes in Rabbit Craniomandibular Joint Associated with Experimentally Induced Anterior Disk Displacement (ADD). **J Oral Pathol Med.**, Copenhagen, v. 23, no. 8, p. 364-374, Sep. 1994.
- AVERY, J. K. **Desenvolvimento e Histologia Bucal**. Porto Alegre: Artmed, 3ª edição, 2005.
- BERTERETCHE, M.V., *et al.* Histologic Changes Associated with Experimental Partial Anterior Disc Displacement in the Rabbit Temporomandibular Joint. **J Orofac Pain**, Carol Stream, v. 15, no. 4, p. 306-319, Fall 2001.
- BORNSTEIN, P.; SAGE, M. Structurally Distinct Collagen Types. **Annu Rev Biochem.**, Palo Alto, v. 49, p. 958-1003, 1980.
- BOVE, S. E., *et al.* Weight Bearing as a Measure of Disease Progression and Efficacy of Anti-inflammatory Compounds in a Model of Monosodium Iodoacetate-induced Osteoarthritis. **Osteoarthritis Cartilage**, London, v. 11, no. 11, p. 821-830, Nov. 2003.
- CAMPBELL, W. Clinical Radiological Investigations of the Mandibular Joints. **Brit J Radiol.**, London, vol. 38, n. 450, p. 401-421, Jun. 1965.
- CHO, B. H.; AHN, Y. W.; JUNG, Y. H. Comparison of Mandibular Morphology Between Patients with Temporomandibular Joint Osteoarthritis and Asymptomatic Normal Subjects. **Quintessence Int.**, Berlin, v. 40, no. 8, p. 49-54, Sep. 2009.
- CHOI, Y; YUN, K.; KIM, S. Long-term Results of Different Condylotomy Designs for the Management of Temporomandibular Joint Disorders. **Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Radiol Endod.**, St. Louis, v. 93, no. 2, p. 132-137, Feb. 2002.
- CLEDES, G., *et al.* Validation of a Chemical Osteoarthritis Model in a Rabbit Temporomandibular Joint: A Compliment to Biomechanical Models. **Int J Oral Maxillofac Surg.**, Copenhagen, v. 35, no. 11, p. 1026-1033, Nov. 2006.
- DE BONT, L. G. M., *et al.* Osteoarthritis of the Temporomandibular Joint: A Light Microscopic and Scanning Electron Microscopic Study of the Articular Cartilage of the

Mandibular Condyle. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 43, no. 7, p. 481-8, July 1985.

DETAMORE, M. S.; ATHANASIOU, K. A. Structure and Function of the Temporomandibular Joint Disc: Implications for Tissue Engineering. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 61, no. 4, p. 494-506, Apr. 2003.

DIJKGRAAF, L.C., *et al.* Normal Cartilage Structure, Biochemistry, and Metabolism: A Review of the Literature. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 53, no. 8, p. 924-929, Aug. 1995a.

DIJKGRAAF, L.C., *et al.* The Structure, Biochemistry, and Metabolism Osteoarthritic Cartilage: A Review of the Literature. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 53, no. 10, p. 1182-1192, Oct. 1995b.

DOWLING, B.A.; DART, A. J.; MATTHEWS, S. M. Chemical Arthrodesis of the Distal Tarsal Joints using Sodium Monoiodoacetate in 104 Horses. **Aust Vet J.**, Sydney, v. 82, no. (1-2), p. 38-42, Jan-Feb. 2004.

ERDEM, E.; ALKAN, A. The Use of Acrylic Marbles for Interposition Arthroplasty in the Treatment of Temporomandibular Joint Ankylosis: Follow-up of 47 Cases. **Int J Oral Maxillofac Surg.**, Copenhagen, v. 30, no. 1, p. 32-36, Feb. 2001.

FILINTE, G. T.; AKAN, M., *et al.* Chondrogenic Effect of the Perichondrium Graft on the Internal Derangement and Osteoarthritis of the Temporomandibular Joint of the Rabbit. **J Craniomaxillofac Surg.**, Stuttgart, v. 39, no. 5, p. 351-358, Jul. 2011.

FUJISAWA, T., *et al.* A Repetitive, Steady Mouth Opening Induced an Osteoarthritis-like Lesion in the Rabbit Temporomandibular Joint. **J Dent Res.**, Chicago, v. 82, no. 9, p. 731-735, Sep. 2003.

GAGE, J. P., *et al.* Presence of Type III Collagen in Disc Attachments of Human Temporomandibular Joints. **Arc Oral Biol.**, New York, v. 35, no. 4, p. 283-288, 1990.

GAGE, J. P.; SHAW, R. M.; MOLONEY, F. B. Collagen Type in Dysfunctional Temporomandibular Joint Disks. **J Prosthet Dent.**, St. Louis, v. 74, no. 5, p. 517-520, Nov. 1995.

GUINGAMP, C., *et al.* Mono-Iodoacetate-Induced Experimental Osteoarthritis: A Dose-Response Study of Loss of Mobility, Morphology, and Biochemistry. **Arthritis Rheum.**, Atlanta, v. 40, no. 9, p.1670-1679, Sep. 1997.

GUZMAN, R. E., *et al.* Mono-Iodoacetate-Induced Histologic Changes in Subchondral Bone and Articular Cartilage of Rat Femorotibial Joints: An Animal Model of Osteoarthritis. **Toxicol Pathol.**, Newark, v. 31, no. 6, p. 619-624, Nov-Dec. 2003.

HALL, H. D.; NAVARRO, E. Z.; GIBBS, S. J. One- and Three- Year Prospective Outcome Study of Modified Condylotomy for Treatment of Reducing Disc Displacement. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 58, no. 1, p. 7-17, Jan. 2000a.

- HALL, H. D.; NAVARRO, E. Z.; GIBBS, S. J. Prospective Study of Modified Condylotomy for Treatment of Nonreducing Disk Displacement. **Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Radiol Endod.**, St. Louis, v. 89, no. 2, p. 147-158, Feb. 2000b.
- HALL, D. H.; NICKERSON, JR.; McKENNA, S. J. Modified Condylotomy for Treatment of the Painful Temporomandibular Joint With a Reducing Disc. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 51, no. 2, p. 133-142, Feb. 1993.
- HIRSCHMANN, P. N.; SHUTTLEWORTH, C. A. The Collagen Composition of the Mandibular Joint of the Foetal Calf. **Arc Oral Biol.**, New York, v. 21, no.12, p. 771-773, 1976.
- HOCHMAN, L.S.; LASKIN, D.M. Repair of Surgical Defects in the Articular Surface of the Rabbit Mandibular Condyle. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, St. Louis, v. 19, no. 4, p. 534-542, Apr. 1965.
- ISHIMARU, J.; GOSS, A. N. A Model for Osteoarthritis of the Temporomandibular Joint. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 50, no. 11, p. 1191-1195, Nov. 1992.
- JANUSZ, M. J., *et al.* Moderation of Iodoacetate-induced Experimental Osteoarthritis in Rats by Matrix Metalloproteinase Inhibitors. **Osteoarthritis Cartilage**, London, v. 9, no. 8, p. 751-760, Nov. 2001.
- JOU, M. T.; MILLER, A. J.; KAPILA, S. Mandibulofacial Adaptations in a Juvenile Animal Model of Temporomandibular Joint Arthritis. **J Dent Res**, Chicago, v. 78, no. 8, p. 1426-1435, Aug. 1999.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; MONTES, G.S.; SANCHEZ, E.M. The influence of Tissue Section Thickness on the Study of Collagen by the Picosirius-Polarization Method. **Histochemistry**, Berlin, v. 74, no. 1, p. 153-156, 1982.
- KALBHEN, D. A. Chemical Model of Osteoarthritis- A Pharmacological Evaluation. **J Rheumatol.**, Toronto, v. 14, Spec no., p. 130-131, May 1987.
- KAPILA, S., *et al.* Development and Histologic Characterization of an Animal Model of Antigen-Induced Arthritis of the Juvenile Rabbit Temporomandibular Joint. **J Dent Res.**, Chicago, v. 74, no. 12, p. 1870-1879, Dec. 1995.
- LANG, T. C.; ZIMNY, M. L.; VIJAYAGOPAL, P. Experimental Temporomandibular Joint Disc Perforation in the Rabbit: A Gross Morphologic, Biochemical, and Ultrastructural Analysis. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 51, no. 10, p. 1115-1128, Oct. 1993.
- LYDIATT, D. D.; DAVIS, L. F. The Effects of Immobilization on the Rabbit Temporomandibular Joint. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, v. 43, no. 3, p. 188-193, Mar. 1985.
- MAFFULLI, N.; EWEN, S. W., *et al.* Tenocytes from Ruptured and Tendinopathic Achilles Tendons Produce Greater Quantities of Type III Collagen than Tenocytes from Normal Achilles Tendons. **Am J Sports Med.**, Baltimore, v. 28, no. 4, p. 499-505, Jul-Aug. 2000.

MAN, C., *et al.* Protection of Articular Cartilage from Degeneration by Injection of Transforming Growth Factor-beta in Temporomandibular Joint Osteoarthritis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 108, no. 3, p. 335-340, Sep. 2009.

McKENNA, S. J. Modified Mandibular Condylotomy. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am.**, Philadelphia, v. 18, no. 3, p. 369-381, Aug. 2006.

McKENNA, S. J.; CORNELLA, F.; GIBBS, S. J. Long-term Follow-up of Modified Condylotomy for Internal Derangement of the Temporomandibular Joint. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, St. Louis, v. 81, no. 5, p. 509-515, May 1996.

MERCURI, L. G. Osteoarthritis, Osteoarthrosis, and Idiopathic Condylar Resorption. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am.**, Philadelphia, v. 20, no. 2, p. 169-183, May 2008.

MILLS, D. K., *et al.* An Animal Model for Studying Mechanisms in Human Temporomandibular Joint Disc Derangement. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 52, no. 12, p. 1279-1292, Dec. 1994.

MILLS, DK; DANIEL, JC; SCAPINO R. Histological Features and *in-vitro* Proteoglycan Synthesis in the Rabbit Craniomandibular Joint Disc. **Arch Oral Biol.**, New York, v.33, no. 3, p. 195-202, 1988.

MONGINI, F. Condylar Remodeling After Occlusal Therapy. **J Prosthet Dent.**, St. Louis, v. 43, no. 5, 568-577, May 1980.

NANCI, A. **Ten Cate Histologia Bucal, Desenvolvimento, Estrutura e Função**. Rio de Janeiro, Elsevier, 7ª Edição, 2008.

NATIELLA, J. R., *et al.* Analysis of the Collagen and Fibronectin of Temporomandibular Joint Synovial Fluid and Discs. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 67, no. 1, p. 105-113, Jan. 2009.

OKESON, J. P. **Tratamento das Desordens Temporomandibulares e Oclusão**. São Paulo: Artes Médicas, 6ª edição, 2000.

PONZONI, D. ; PURICELLI, E. Análise microscópica na articulação temporomandibular a partir da mudança de direção do vetor de força da mandíbula em relação à base do crânio. Estudo experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculus* l.). **Rev. Fac. Odontol. Porto Alegre**, Porto Alegre, v. 40, n. 2, p. 66-72, Jan. 2000.

PRITZKER, K. P. H., *et al.* Osteoarthritis Cartilage Histopathology: Grading and Staging. **Osteoarthritis Cartilage**, London, v. 14, no. 1, p. 13-29, Jan. 2006.

PUBCHEM PUBLIC CHEMICAL DATABASE. **Iodoacetates - Compound**

**Summary**, (CID 5239), 2010. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pccompound>>. Acesso em 06 maio de 2010.

PURICELLI, E. Artroplastia biconvexa para tratamento da anquilose da articulação têmporo-mandibular. **Ver. Fac. Odontol. Porto Alegre**, Porto Alegre, v. 38, n. 1, p. 23-27, Jul. 1997.

PURICELLI, E. Tratamento cirúrgico da ATM: casos selecionados. In: Feller, Christa; Gorab, Riad. **Atualização na clínica odontológica: cursos antagônicos**. São Paulo, Artes Médicas, 2000, 479-520, illus.

ROBINSON, P. D. Articular Cartilage of the Temporomandibular Joint: Can it Regenerate? **Ann R Coll Surg Engl.**, London, v. 75, no. 4, p. 231-236, Jul. 1993.

ROSS M. H.; PAWLINA, W. **Histologia: texto e atlas: em correlação com a biologia celular e molecular**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 5ª edição, 2009.

SALO, L.A.; RAUSTIA, A.M. Type II and Type III Collagen in Mandibular Condylar Cartilage of Patients With Temporomandibular Joint Pathology. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 53, no. 1, p. 39-44, Jan. 1995.

SARVESTANI, A.T.; TEDMAN, R.; GOSS, A. N. The Influence of Experimentally Induced Osteoarthritis on Articular Nerve Fibers of the Sheep Temporomandibular Joint. **J Orofac Pain**, Carol Stream, v. 15, no. 3, p. 206-217, Summer 2001.

SATO, S., *et al.* Morphological Changes in the Elastic Fibers of the Temporomandibular Joint after Experimental Disc Perforation in the Rabbit. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 56, no. 6, p. 753-759, Jun. 1998.

SAWHNEY, CB. Bony ankylosis of the temporomandibular joint: follow-up of 70 patients treated with arthroplasty and acrylic spacer interposition. **Plast Reconstr Surg.**, Baltimore, v. 77, no. 1, p. 29-40, Jan. 1986.

SCAPINO, R. P., *et al.* The Behaviour of Collagen Fibres in Stress Relaxation and Stress Distribution in the Jaw-Joint Disc of Rabbits. **Arc Oral Biol.**, New York, v. 41, no. 11, p. 1039-1052, Nov. 1996.

SHARAWY, M.; ALI, A. M.; CHOI, W. Experimental Induction of Anterior Disk Displacement of the Rabbit Craniomandibular Joint: An Immuno-electron Microscopic Study of Collagen and Proteoglycan Occurrence in the Condylar Cartilage. **J Oral Pathol Med.**, Denmark, v. 32, no. 3, p. 176-184, Mar. 2003.

SHEVEL, E. Intra-oral Condylotomy for the Treatment of Temporomandibular Joint Derangement. **Int J Oral Maxillofac Surg.**, Copenhagen, v. 20, no. 6, p. 360-361, Dec. 1991.

SILVA, Anderson Coutinho. **Estudo da osteoartrose em joelhos de cães secundária à ruptura do ligamento cruzado cranial**. São Paulo: USP, 2009. 105 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

TASANEN, A.; JOKINEN, J. Closed Condylotomy in the Treatment of Osteoarthritis of the Temporomandibular Joint. Clinical and Radiographic Study. **Int J Oral Surg.**, Copenhagen, v. 10, no. 4, p. 230-235, Aug. 1981.

TASANEN, A.; LAMBERG, M. A. Closed Condylotomy in the Treatment of Osteoarthritis of the Temporomandibular Joint. **Int J Oral Surg.**, Copenhagen, v. 3, no. 3, p. 102-110, 1974.

UPTON, G. The Case for Mandibular Condylotomy in Treatment of the Painful, Deranged Temporomandibular Joint. **J Oral Maxillofac Surg.**, Philadelphia, v. 55, no. 1, p. 64-69, Jan. 1996.

VAN DER KRAAN, P.M., *et al.* Development of Osteoarthritic Lesions in Mice by “Metabolic” and “Mechanical” Alterations in the Knee Joints. **Am J Pathol.**, Philadelphia, v. 135, no. 6, p. 1001-1014, Dec. 1989.

WARD, T. G.; SMITH D. G.; SOMMAR, M. Condylotomy for mandibular joints. **Br Dent J.**, London, v. 103, p. 147-158, 1957.

WERTHER, J. R.; HALL, D.; GIBBS, S. J. Disk Position Before and After Modified Condylotomy in 80 Symptomatic Temporomandibular Joints. **Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Radiol Endod.**, St. Louis, v. 79, no. 6, p. 668-679, Jun. 1995.

ZARB, G. A.; CARLSSON, G. E. Temporomandibular Disorders: Osteoarthritis. **J Orofac Pain.** Carol Stream, v. 13, no. 4, p. 295-306, Fall 1999.

## **ANEXOS**



**Anexo I: Tabelas referentes à quantificação de colágeno do tipo I na superfície do côndilo mandibular**

**Tabela 4 - Comparações entre medianas, em função de grupo e tempo (Região 1, anterior do côndilo mandibular).**

<b>Comparações</b>	<b>Medianas</b>	<b>Valor de p</b>
GC <sub>20</sub> x GC <sub>40</sub>	67 x 248	>0,999
GC <sub>20</sub> x GC <sub>60</sub>	67 x 39	0,690
GC <sub>20</sub> x GT <sub>20</sub>	67 x 1569	0,095*
GC <sub>20</sub> x GT <sub>40</sub>	67 x 1698	0,095*
GC <sub>20</sub> x GT <sub>60</sub>	67 x 1860	0,056*
GC <sub>40</sub> x GC <sub>60</sub>	248 x 39	0,690
GC <sub>40</sub> x GT <sub>20</sub>	248 x 1569	<b>0,016 ◀</b>
GC <sub>40</sub> x GT <sub>40</sub>	248 x 1698	0,095*
GC <sub>40</sub> x GT <sub>60</sub>	248 x 1860	<b>0,016 ◀</b>
GC <sub>60</sub> x GT <sub>20</sub>	39 x 1569	<b>0,008 ◀</b>
GC <sub>60</sub> x GT <sub>40</sub>	39 x 1698	<b>0,032 ◀</b>
GC <sub>60</sub> x GT <sub>60</sub>	39 x 1860	<b>0,008 ◀</b>
GT <sub>20</sub> x GT <sub>40</sub>	1569 x 1698	>0,999
GT <sub>20</sub> x GT <sub>60</sub>	1569 x 1860	0,548
GT <sub>40</sub> x GT <sub>60</sub>	1698 x 1860	0,548

Significância ao nível de 5% (◀).

Tendência de significância (\*).

**Tabela 5 - Comparações entre medianas, em função de grupo e tempo (Região 2, central do côndilo mandibular).**

<b>Comparações</b>	<b>Medianas</b>	<b>Valor de p</b>
GC <sub>20</sub> x GC <sub>40</sub>	260 x 605	0,690
GC <sub>20</sub> x GC <sub>60</sub>	260 x 39	0,310
GC <sub>20</sub> x GT <sub>20</sub>	260 x 206	>0,999
GC <sub>20</sub> x GT <sub>40</sub>	260 x 2459	0,222
GC <sub>20</sub> x GT <sub>60</sub>	260 x 383	>0,999
GC <sub>40</sub> x GC <sub>60</sub>	605 x 39	0,841
GC <sub>40</sub> x GT <sub>20</sub>	605 x 206	0,841
GC <sub>40</sub> x GT <sub>40</sub>	605 x 2459	0,222
GC <sub>40</sub> x GT <sub>60</sub>	605 x 383	0,841
GC <sub>60</sub> x GT <sub>20</sub>	39 x 206	0,690
GC <sub>60</sub> x GT <sub>40</sub>	39 x 2459	0,056*
GC <sub>60</sub> x GT <sub>60</sub>	39 x 383	0,548
GT <sub>20</sub> x GT <sub>40</sub>	206 x 2459	<b>0,032 ◀</b>
GT <sub>20</sub> x GT <sub>60</sub>	206 x 383	0,548
GT <sub>40</sub> x GT <sub>60</sub>	2459 x 383	0,421

Significância ao nível de 5% ( ◀).

Tendência de significância (\*).

**Tabela 6 - Comparações entre medianas, em função de grupo e tempo (Região 3, posterior do côndilo mandibular).**

<b>Comparações</b>	<b>Medianas</b>	<b>Valor de p</b>
GC <sub>20</sub> x GC <sub>40</sub>	46 x 1413	0,421
GC <sub>20</sub> x GC <sub>60</sub>	46 x 0	0,421
GC <sub>20</sub> x GT <sub>20</sub>	46 x 219	>0,999
GC <sub>20</sub> x GT <sub>40</sub>	46 x 2933	<b>0,016 ◀</b>
GC <sub>20</sub> x GT <sub>60</sub>	46 x 1398	0,056*
GC <sub>40</sub> x GC <sub>60</sub>	1413 x 0	0,095*
GC <sub>40</sub> x GT <sub>20</sub>	1413 x 219	0,548
GC <sub>40</sub> x GT <sub>40</sub>	1413 x 2933	0,421
GC <sub>40</sub> x GT <sub>60</sub>	1413 x 1398	>0,999
GC <sub>60</sub> x GT <sub>20</sub>	0 x 219	0,310
GC <sub>60</sub> x GT <sub>40</sub>	0 x 2933	<b>0,016 ◀</b>
GC <sub>60</sub> x GT <sub>60</sub>	0 x 1398	<b>0,032 ◀</b>
GT <sub>20</sub> x GT <sub>40</sub>	219 x 2933	0,222
GT <sub>20</sub> x GT <sub>60</sub>	219 x 1398	0,421
GT <sub>40</sub> x GT <sub>60</sub>	2933 x 1398	0,841

Significância ao nível de 5% (◀).

Tendência de significância (\*).

**Anexo II: Quadro referente ao escore proposto por Pritzker et al., (2006) para determinação de severidade da osteoartrite**

**Quadro 1: Escore qualitativo compreendido em graus de 0 a 6, para análise das cartilagens coradas com Safranina-O/*fast-green*, que serviu para a análise da osteoartrite dos grupos teste e controle.**

---

Grau 0 – Cartilagem intacta, arquitetura da matriz normal e orientação celular apropriada.

Grau 1 – Fibrilação superficial, acompanhada de morte e proliferação celular; as zonas intermediária e profunda da camada da cartilagem estão inalteradas.

Grau 2 – Fibrilação estendendo-se até a camada intermediária e descontinuidade na superfície articular; morte de células na zona intermediária; proliferação celular em *clusters*; redução ou aumento da coloração da matriz extracelular.

Grau 3 - Fissuras simples e verticais que se estendem até a zona intermediária ou até a zona profunda; morte e proliferação celular próximas às áreas de fissuras.

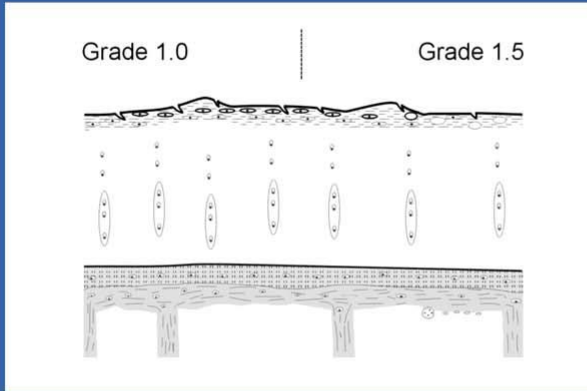
Grau 4 – Erosão; perda da matriz da cartilagem com destruição da camada superficial; formação de cistos na camada média; degeneração celular.

Grau 5 – Desnudamento; a superfície articular é cartilagem mineralizada ou tecido ósseo, que permanece intacto; pode haver microfraturas na superfície óssea, preenchidas com áreas de proliferação de fibrocartilagem.

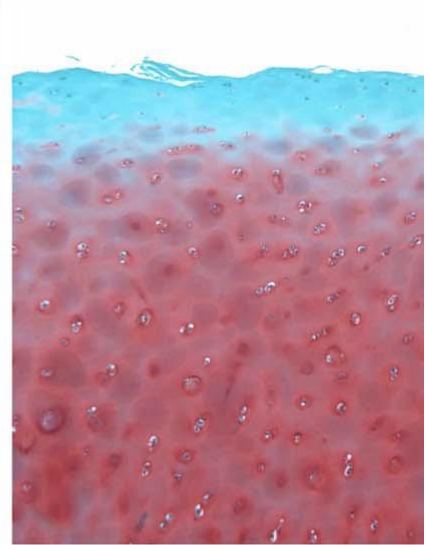
Grau 6 – Deformação; o remodelamento ósseo e a presença de uma camada de tecido conjuntivo fibroso alteram o contorno da superfície articular. Migração de osteófitos marginais.

A

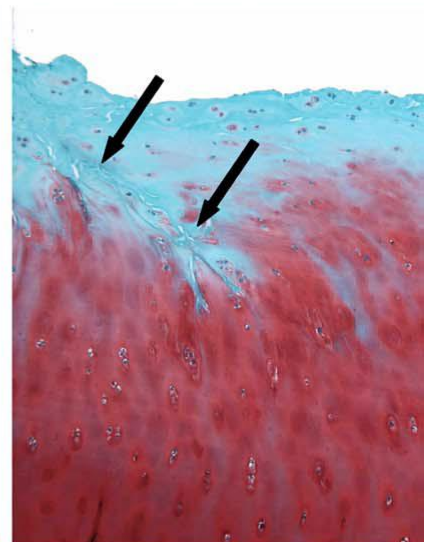
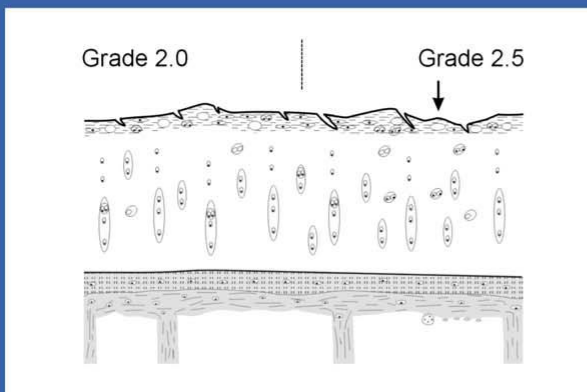
Grade 1  
Surface intact



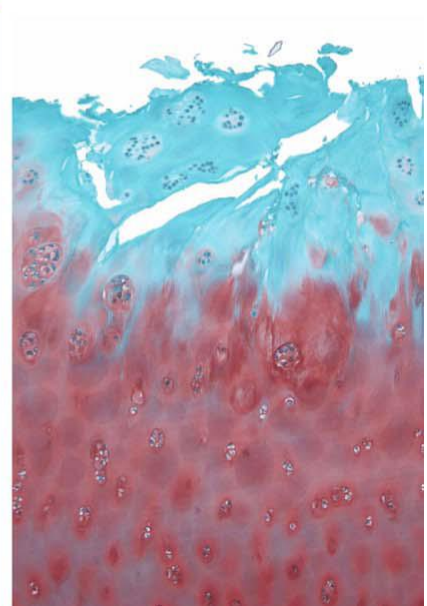
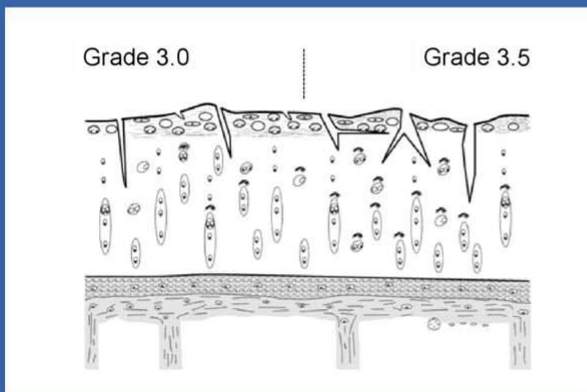
B



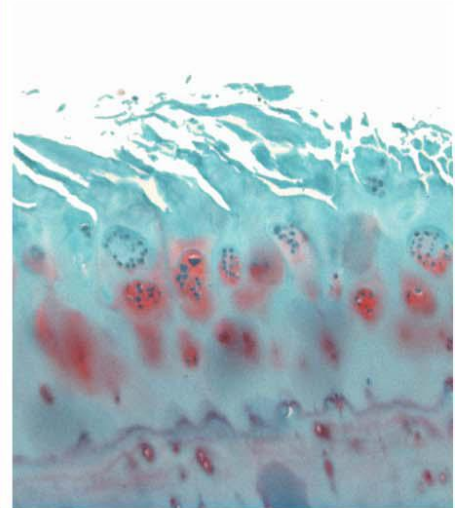
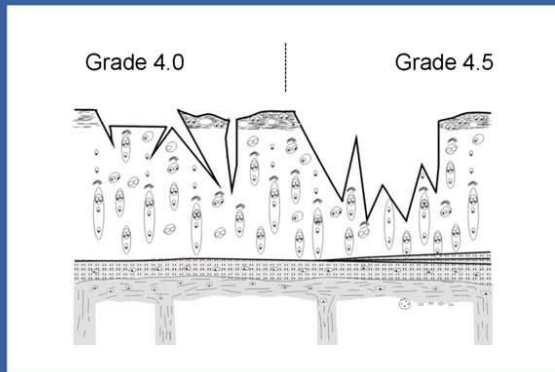
Grade 2  
Surface Discontinuity



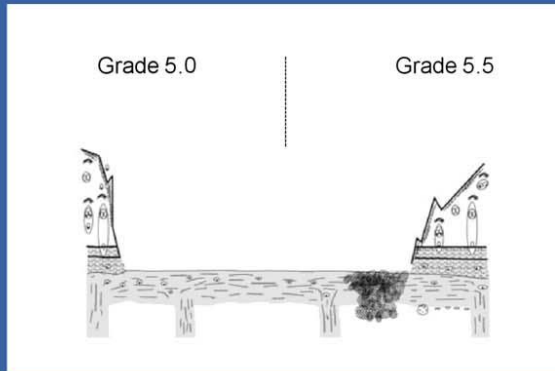
Grade 3  
Vertical Fissures



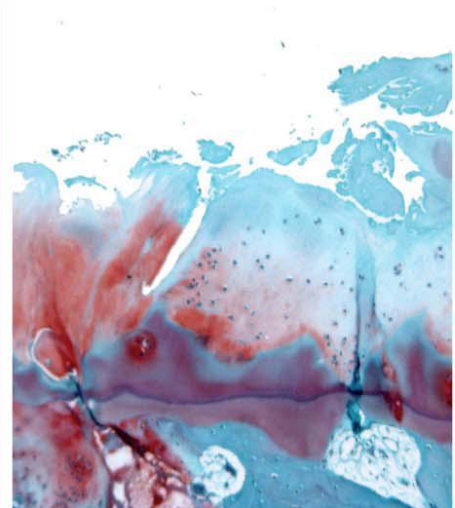
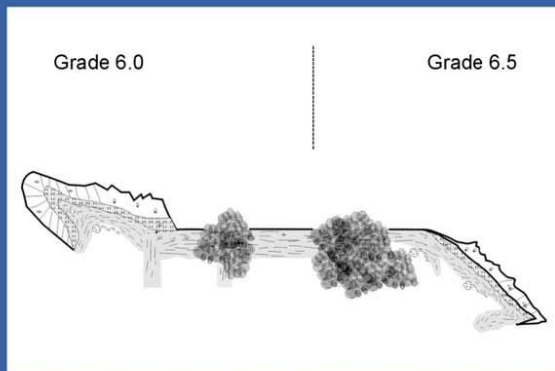
Grade 4  
Erosion



Grade 5  
Denudation



Grade 6  
Deformation



Pritzker, *et al.*, 2006.

### Anexo III: Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais do HCPA



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE  
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

A Comissão Científica e a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/HCPA) analisaram o projeto:

**Projeto:** 100409

**Versão do Projeto:** 31/08/2010

**Pesquisadores:**

RENAN CAVALHEIRO LANGIE  
MAIRA CAVALLETT DE ABREU  
FELIPE ERNESTO ARTUZI  
EDELA PURICELLI

**Título:** INFLUÊNCIA DA TÉCNICA DA CONDILOTOMIA SOBRE A OSTEOARTRITE  
QUIMICAMENTE INDUZIDA EM ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR DE COELHOS

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08/10/2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais. Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação de projetos onde constam como pesquisadores. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada imediatamente a CEUA/HCPA.

Porto Alegre, 11 de novembro de 2010.

  
Profª Nadine Clausell  
Coordenadora GPPG e CEP/HCPA