

MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO, OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE IMPLANTES CARTILAGINOSOS

Kamilla Dias Ferreira¹, Luiz Antônio Franco da Silva², Paulo José Bastos Queiroz³, Saulo Humberto Ávila Filho⁴, Valcinir Aloisio Scalla Vulcani⁵

¹Mestranda, Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

² Professor Doutor- Escola de Veterinária e Zootecnia - UFG – Goiânia, GO

³ Mestrando, Escola de Veterinária e Zootecnia – UFG

⁴ Mestrando, Escola de Veterinária e Zootecnia – UFG

⁵ Professor Doutor –Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Campus de Jataí, Jataí (GO)

e-mail: kamilladiasvet@gmail.com

Recebido em: 08/09/2015 – Aprovado em: 14/11/2015 – Publicado em: 01/12/2015

DOI: http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_194

RESUMO

Os biomateriais vêm sendo amplamente utilizados na Medicina e Odontologia em próteses ortopédicas e dentárias. Na Medicina Veterinária, o uso de biopróteses em cirurgias reparadoras tem se tornado prática comum, especialmente em função do baixo custo, facilidade de obtenção e menor possibilidade da ocorrência de complicações como a rejeição. Diferentes espécies de animais apresentam defeitos na parede abdominal, necessitando de procedimentos cirúrgicos reconstrutivos, realizados com o intuito de reestruturar os planos anatômicos. Diversos materiais têm sido trabalhados e elaborados para aplicação na parede abdominal, com a finalidade de servir como reforço ou estimular o processo de reparação tecidual. As membranas biológicas apresentam baixa toxicidade por serem constituídas, em quase sua totalidade, por colágeno e elastina. Entre os principais meios de conservação dessas membranas utilizados são a glicerina a 98% e o glutaraldeído. Com relação aos meios de obtenção destaca-se o uso da solução alcalina. Após serem tratados pelos métodos de conservação ou obtenção das cartilagens, obtém-se um material biocompatível possível de ser utilizado em implantes para o reparo de lesões, diminuindo as chances de respostas inflamatórias exarcebadas, responsáveis pela rejeição do biomaterial.

PALAVRAS-CHAVE: Biomateriais, Biocompatibilidade, Cartilagem, Colágeno, Elastina, Implante, Meios de Conservação, Obtenção, Reparação tecidual

CONSERVATION METHODS, OBTAINING AND CARTILAGINOUS IMPLANT EVALUATION

ABSTRACT

Biomaterials have being widely used in medicine and dentistry in orthopedic and dental prostheses. In veterinary medicine, the use of prostheses for reconstructive surgeries has become common practice, especially due to the low cost, ease of

obtaining and lower possibility of the occurrence of complications such as rejection. Different species of animals show defects in the abdominal wall, requiring reconstructive surgical procedures performed in order to restructure the anatomical planes. Various materials have been worked and prepared for application to the abdominal wall, in order to serve as reinforcement or stimulate the wound healing process. The biological membranes have low toxicity to be formed in almost its entirety, collagen and elastin. The main storage methods used such membranes are 98% glycerin and glutaraldehyde, and for the obtaining methods highlights the use of the alkaline solution. After the treatment methods of these cartilages get yourself a biocompatible material can be used in implants to help wound healing, decreasing the chances of exacerbated inflammatory responses responsible for the rejection of the biomaterial.

KEYWORDS: Biomaterials, Biocompatibility, Cartilage, Collagen, Elastin, Implants, Conservation methods, Obtaining methods, Tissue repair

INTRODUÇÃO

A regeneração tecidual tem sido o objetivo de diferentes procedimentos cirúrgicos reparadores desde a antiguidade até os dias atuais (AMBROSIO, 2006). As pesquisas científicas desenvolvidas sobre o tema sinalizam grandes avanços na clínica médica e cirúrgica proporcionado aos profissionais alternativas modernas para substituição de tecidos lesados. Contudo, em alguns casos, a estrutura biológica de um determinado órgão ou tecido pode não ter capacidade regenerativa ou apresentar limitações neste mecanismo (IWASAKI, et al., 2011).

O tecido cartilaginoso desempenha a função de suporte estrutural de tecidos moles, revestimento de superfícies articulares, absorção da energia em traumas físicos e facilitador do deslizamento dos ossos nas articulações (HORVAI, 2011). Estas funções dependem principalmente da estrutura da matriz extracelular, a qual é constituída de colágeno ou colágeno mais elastina, em associação com macromoléculas de proteoglicanas, ácido hialurônico e diversas glicoproteínas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

A reparação tecidual é um processo contínuo e dinâmico que ao ser desencadeado abrange uma sobreposição de eventos celulares e tissulares, possibilitando o restabelecimento funcional (GIRARD, 2005). Como parte do processo de reparação, ocorre a deposição excessiva dos componentes da matriz extracelular, principalmente as fibras colágenas além do aumento da angiogênese, que é a formação de novos vasos, o que leva ao desenvolvimento do tecido cicatricial (CHANG et al., 2012; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013). Deve ser ressaltado que, na reparação, ocorre a regeneração e a cicatrização. Ambos os processos estão entremeados, ocorrendo conjuntamente, mas conceitualmente se diferenciam (HENCH, et al., 2006). Na regeneração a reposição tecidual é realizada por células do mesmo tipo das que foram lesadas. Por outro lado, a cicatrização consiste no processo em que o tecido lesado não é substituído por células parenquimatosas, mas sim por tecido fibroso, a cicatriz (HENCH et al. 2006). Foge ao escopo deste trabalho estudar o fenômeno da regeneração, que tem identidade própria. Dara-se ênfase ao estudo da cicatrização, por estar nele envolvido o fibroblasto responsável pela síntese de colágeno e da elastina, que são objetos de estudo dessa revisão.

Ainda ponderando sobre alternativas viáveis para o restabelecimento funcional e estimulação da reparação, os materiais à base de colágeno vem sendo estudados para a aplicação no tratamento de diversas lesões teciduais com bons

resultados fisiológicos mostrando-se como terapia promissora (FORTI et al., 2006; HENCH, et al., 2006). Devido as diversas propriedades existentes como baixa alergenicidade, antigenicidade e biocompatibilidade elevada, o colágeno vem sendo utilizado como biomaterial sob as mais variadas formas (VULCANI, et al., 2008; MARCHI, et al., 2011). Deste modo, utilizar biomateriais a base de colágeno, para enxertia, proporcionará um suporte para a proliferação celular estimulando a reparação tecidual e promovendo a estabilidade mecânica e funcional do tecido lesionado (RADHIKA & SEHGAL, 1997).

Tendo em vista a importância dispensada aos implantes cartilagosos e os resultados promissores alcançados em algumas pesquisas científicas realizadas, acredita-se que a busca por informações atualizadas sobre o tema possa responder, em parte, alguns questionamentos ainda não totalmente esclarecidos. Assim, por meio de uma revisão de literatura, esse estudo objetivou buscar informações sobre as principais características, utilização, métodos de conservação, obtenção e avaliação do tecido cartilaginoso como alternativa de implante usado na reparação de lesões teciduais em animais.

Características do tecido cartilaginoso

A cartilagem é um tecido conjuntivo especializado, de consistência rígida, com fibras em diversas direções (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013). Apresenta uma limitada capacidade de reparo devido à baixa atividade mitótica, e também é desprovido de vasos linfáticos e de nervos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013). Durante a formação embrionária deste tecido, as células mesenquimais retraem os prolongamentos adquirindo uma forma arredondada, multiplicando-se rapidamente formando um aglomerado celular (ROSS & PAWLINA, 2011).

Esse aglomerado formado por células jovens, que são os condroblastos, inicia a síntese da matriz extracelular, distanciando essas células umas das outras. Quando a matriz começa a adquirir uma consistência mais rígida, os condroblastos ficam presos em uma cápsula, que são os condroplastos. Os condroblastos então se multiplicam por mitose, dando origem a grupos de condrócitos que são os grupos isógenos (ROSS & PAWLINA, 2011). O crescimento das cartilagens acontece de duas formas: *crescimento intersticial*, que ocorre somente no período de formação da cartilagem, referindo-se à divisão mitótica dos condroblastos, dando origem aos grupos isógenos e à expansão da cartilagem. A outra forma de crescimento é o *apositional*, que ocorre a partir das células condrogênicas do pericôndrio, que se diferenciam em condroblastos, se multiplicam e produzem uma nova matriz cartilaginosa, promovendo o crescimento da cartilagem (ROSS & PAWLINA, 2011).

Com relação à vascularização, o tecido cartilaginoso não possui vasos sanguíneos próprios. Desta forma, quase todas as cartilagens são envolvidas pelo pericôndrio, uma camada de tecido conjuntivo, que é responsável pela nutrição, oxigenação e eliminação de resíduos metabólicos da cartilagem (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

Os tipos de cartilagem que constituem o tecido cartilaginoso são a hialina, a fibrosa e a elástica. As células que constituem esse tecido são os condrócitos, juntamente com a presença da matriz extracelular (ROSS & PAWLINA, 2011). Esta matriz extracelular é composta por fibras colágenas ou elásticas em associação com macromoléculas de glicosaminoglicanas. As macromoléculas de glicosaminoglicanas ligam-se quimicamente às proteínas, formando as proteoglicanas, que possuem a

propriedade de conferir rigidez à cartilagem, uma vez que as fibras elásticas e colágenas são flexíveis (ROSS & PAWLINA, 2011).

Os condrócitos são células predominantes nas cartilagens derivados de células mesenquimais. Estas células secretam colágeno, principalmente do tipo II, proteoglicanos e glicoproteínas, como condronectina, que é uma macromolécula com sítios de ligação para condrócitos, fibrilas colágenas e glicosaminoglicanas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

Tipos de cartilagem

Cartilagem Hialina

A cartilagem hialina é um tecido conjuntivo adaptado para atuar na absorção da energia em traumas físicos e como superfície de resistência contra desgastes (HORVAI, 2011). É composta por condrócitos, que sintetizam e renovam as macromoléculas da matriz cartilaginosa. Na periferia da cartilagem hialina, os condrócitos apresentam forma alongada, enquanto os que estão situados na porção mais central são arredondados formando grupos isógenos (ROSS & PAWLINA, 2011). A cartilagem hialina forma o primeiro esqueleto do embrião, constitui o disco epifisário, a parede das fossas nasais, traquéia, brônquios, a extremidade ventral das costelas e recobre as superfícies articulares dos ossos longos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

As moléculas de glicosaminoglicanas se ligam a proteínas por meio de ligações covalentes, formando as proteoglicanas. Cada molécula de proteoglicana consiste em uma parte central protéica, que formam numerosas moléculas não ramificadas de glicosaminoglicanas sulfatados (VULCANI, et al., 2008). A consistência firme das cartilagens se deve principalmente a grande quantidade de moléculas de água retidas a essas glicosaminoglicanas, conferindo turgidez à matriz, caracterizando deste modo, como um sistema de absorção de choques mecânicos, em especial nas cartilagens articulares (ROSS & PAWLINA, 2011).

Cartilagem elástica

A cartilagem elástica possui poucas fibrilas de colágeno do tipo II e abundantes fibras elásticas (ROSS & PAWLINA, 2011). Os condrócitos presentes na cartilagem elástica são mais abundantes e maiores, quando comparado aos da cartilagem hialina, porém não se arranjam em grupos isógenos (ROSS & PAWLINA, 2011). Este tipo de cartilagem é encontrada no pavilhão auditivo, no conduto auditivo externo, na tuba auditiva, na epiglote e na cartilagem cuneiforme da laringe, e nas artérias elásticas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

A matriz extracelular é semelhante a da cartilagem hialina, além da presença da elastina, uma importante proteína da matriz extracelular, que promove elasticidade a vários órgãos (DAAMEN, et al, 2007). As fibras elásticas são formadas pela elastina, que quando examinada a fresco, apresenta uma cor amarelada (VILELA et al, 2009). A elastina é uma proteína hidrofóbica que se agrega a filamentos e lâminas por ligações cruzadas, formando uma rede elástica. Possui uma estrutura enovelada em estado de repouso que pode ser estirada, mas que retorna ao estado enovelado quando ocorre o relaxamento novamente (DAAMEN, et al., 2007). Caracteriza-se por formar fibras mais finas que aquelas formadas pelo colágeno, conferindo elasticidade e resistência as mesmas. Essas fibras cedem bastante à tração, mas retornam à forma original quando é cessada a força. As únicas diferenças estruturais entre a elastina e o colágeno são as duas proteínas fixas a cada uma de

suas extremidades, que é o que lhe confere a elasticidade (HORVAI, 2011). As fibras elásticas são compostas ainda por microfibrilas, formando uma estrutura em que a elastina amorfa é depositada formando um arcabouço tridimensional e permitindo a angiogênese no local do tecido implantado (VULCANI, et al., 2008). Fornece ainda suporte para a infiltração, diferenciação e proliferação de células osteoblásticas, que desempenham importante função de deposição de íons de cálcio, gerando a neoformação óssea (ROSSI, et al., 2010).

Cartilagem Fibrosa

A cartilagem fibrosa é a mais resistente, dos três tipos existentes, apresentando características intermediárias entre o tecido conjuntivo denso e a cartilagem hialina (ROSS, 2011). Durante a diferenciação, as fibras de colágeno orientam as células, de forma que esta cartilagem vai apresentar os condrócitos dispostos em fileiras, de acordo com a disposição das fibras de colágeno (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013). Na cartilagem fibrosa não existe pericôndrio morfológicamente distinto, sendo esse tecido nutrido pelos vasos do tecido conjuntivo denso ao qual está intimamente ligado (DAAMEN, et al 2007). Apresenta matriz constituída preponderantemente por fibras colágenas do tipo I. A presença das fibras colágenas faz com que resista à tração e à deformação. É encontrada nas articulações temporomandibulares, esternoclaviculares e dos ombros, na inserção de alguns tendões nos ossos, no anel fibroso dos discos intervertebrais, na sínfise púbica e nos meniscos das articulações dos joelhos (VILELA et al., 2009). Na reparação de lesões cartilaginosas existe uma grande quantidade de tecido fibroso e fibrocartilaginoso, contendo cerca da metade de colágeno tipo II e glicosaminoglicanas presentes em uma cartilagem normal (ROSSI, et al., 2010). A formação desse tecido é resultante da escassa migração de elementos mesenquimais presentes no osso subcondral, e corresponde ao processo extrínseco de reparação, sendo extremamente limitado em zonas superficiais da cartilagem articular (YAN et al., 2010).

O COLÁGENO E A ELASTINA NO TECIDO BIOLÓGICO

O colágeno é uma glicoproteína da matriz extracelular, sintetizado a partir dos fibroblastos e está presente nas fases proliferativa e de remodelação da ferida. É uma proteína de alto peso molecular composta pelos aminoácidos glicina, prolina, hidroxiprolina, lisina e hidroxilisina que se organizam em três cadeias de polipeptídeos em configuração helicoidal (MAYNE & BERGESON, 1987) A sequência dos aminoácidos muitas vezes segue o padrão Gly-Pro-X ou Hyp-Gly-X, onde X pode ser qualquer um dos vários outros resíduos de aminoácidos (SMITH, 1968).

As propriedades diferem de acordo com o tipo de organização das fibras que o constitui. Dentre os tipos de colágeno existentes, pode-se classificá-los em fibrilar - tipos I, II, III, IV e VIII, não fibrilar grande - tipos V, VI, VII e XII e de cadeia curta - tipos IX, X e XIII. O tipo I corresponde a 90% do colágeno corporal. É o mais abundante e capaz de formar fibras espessas que conferem resistência aos tecidos O tipo III é mais encontrado em tecidos moles como derme (20%), fáscia e tecido de granulação (30% a 40%). Com relação aos outros tipos de colágeno o do tipo II é encontrado na matriz extracelular das cartilagens, formando fibrilas e atuando como molas biomecânicas. O colágeno tipo IV, é um dos componentes da membrana basal dos epitélios e o do tipo V pode ser observado precocemente no processo de cicatrização (MAYNE & BERGESON, 1987). Durante o processo de cicatrização os tipos de colágeno de maior relevância são os do tipo I e III. O colágeno tipo III

aparece primariamente na ferida, é caracterizado como colágeno jovem ou imaturo e confere aspecto desorganizado às fibras. Já o colágeno tipo I, maduro, substitui o tipo III em cicatrizes antigas e se caracteriza pela maior organização de suas fibras (MENDONÇA & COUTINHO NETO, 2009).

Além de ser a proteína mais abundante do reino animal, o colágeno possui características importantes como um biomaterial, tais como o baixo índice de alergenicidade, cerca de 2% para colágeno heterólogo e características não inflamatórias tornando-o altamente biocompatível (DAAMEN, et al., 2007). Pelo fato de organizar-se estruturalmente com propriedades similares das encontradas nos tecidos, esse polímero acaba sendo aplicado como um produto de engenharia tecidual quando o objetivo é reparo ou remodelamento de diferentes tecidos, como pele, cartilagem e ossos (SOUZA, 2012).

A importância como biomaterial era restrita até poucas décadas à produção de fios cirúrgicos. Desde então, aumentou consideravelmente a relevância nas mais diversas aplicações, com a introdução de novos processos de obtenção de colágeno associadas às novas potencialidades de aplicação, principalmente na medicina e na odontologia, que utilizam o colágeno como biomaterial nas formas de membranas, esponjas, soluções injetáveis, entre outras, dependendo da aplicação desejada (CHANG, et al., 2012).

Na maioria dos casos, o colágeno é utilizado na forma nativa, ou seja, original, apesar do grande potencial existente na sua estrutura em relação a modificações químicas, que para os poucos casos descritos na literatura deram origem a materiais com diferentes propriedades (SMITH, 1968). Portanto, modificações químicas em matrizes colagênicas podem se constituir em alternativas de elevado potencial para aprimorar ou mesmo modificar propriedades naturais do colágeno sejam elas mecânicas ou físico-químicas, atendendo as necessidades específicas na área de biomateriais. O colágeno do tipo I é o mais utilizado em procedimentos de reparação tecidual (SIONKOWSKA, 2011).

Fibras colágenas

As propriedades do colágeno diferem-se de acordo com o tipo de organização das fibras que as constitui. As fibras colágenas receberam essa denominação, pois durante o processamento foi obtida gelatina, utilizada como cola, do grego *kolla*, cola; *gennaein*, gerar, (VILELA, et al., 2009). Este tipo de fibra proporciona a força tensil necessária nos ferimentos na fase da cicatrização é reabsorvida durante o crescimento, remodelação, involução, inflamação e reparo dos tecidos. Estão presentes no tendão, na derme, na cápsula dos órgãos, na cartilagem fibrosa e no osso (SOUZA, 2012). As fibras colágenas também são constituídas pela presença de proteína formada pela polimerização do procolágeno, que no espaço extracelular transforma-se em tropocolágeno (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013). Cada molécula de tropocolágeno é composta por três subunidades ligadas por pontes de hidrogênio. A polimerização da molécula de tropocolágeno forma uma estrutura chamada fibrila colágena, visível apenas ao microscópio eletrônico. Essas fibrilas colágenas associam-se, sendo interligadas por uma substância glicídica que constituirá as fibras colágenas. Por sua vez, as fibras colágenas, unidas por substâncias glicídicas, formam os feixes colágenos (MAYNE & BERGESON, 1987).

Aplicação do colágeno na reparação tecidual

O colágeno vem sendo amplamente utilizado para o tratamento de lesões de diversos tecidos, por apresentar vantagens como a formação de fibras com força e estabilidade através de auto-agregação (GIRARD, 2005). Em combinação com outra proteína, a elastina, forma estruturas mais flexíveis, as quais são essenciais, por exemplo, para a aorta e os pulmões (SOUZA, 2012). Estudos de culturas realizados *in vitro* demonstraram claramente que o colágeno, sendo um substrato natural para as células, é essencial para mantê-las com a morfologia normal, em cultura. A matriz de colágeno oferece uma estrutura de suporte biointerativa, a qual guia e estimula a formação tecidual apropriada (MARCHI et al., 2011).

Os efeitos benéficos para a cicatrização de feridas pelo uso de biomateriais como géis, esponjas e membranas contendo o colágeno são interessantes por promoverem a maturação da ferida ao fornecerem um suporte para uma transição mais rápida à produção do colágeno (GIRARD, 2005; SEVERINO, et al., 2011). Em outro estudo realizado empregando cartilagem auricular bovina conservada em glutaraldeído a 4%, na hernioplastia experimental em coelhos, foi possível inferir que o material implantado apresentou satisfatória compatibilidade com o tecido receptor. Concluiu-se que o implante de cartilagem auricular bovina conservada em glutaraldeído a 4% na hernioplastia experimental apresentou evidências de boa integração tecidual e cicatrização, não havendo eliminação do material implantado (SILVA, et al., 2009).

A extensão do uso do colágeno na reparação tecidual está baseada no fato de que os polímeros naturais, que formam a matriz extracelular, interagem com receptores específicos na superfície celular, participando ativamente dos processos que regulam a expressão fenotípica da célula e, portanto, na manutenção não apenas da morfologia e função do tecido, mas também de a remodelagem (GRINNELL et al., 1999; SOUZA, 2012). O acréscimo da diferenciação de condrócitos, produção de matriz extracelular, proteoglicanos e colágeno no local da lesão melhoram a qualidade da reparação tecidual e resultam no decréscimo dos mediadores inflamatórios. Desta forma, estudos recentes buscam superar os desafios do processo de reparação da cartilagem por meio da estimulação dos mecanismos de reparação endógenos, terapia celular e utilização de biomembranas (HORVAI, 2011).

O pavilhão auricular de bovinos conservado em glicerina a 98% foi utilizado com bons resultados, para reparar o pavilhão auricular de cães. O tecido cartilaginoso conservado pode constituir-se como uma prótese biológica para ser utilizado em processos de reparação tecidual. Apresenta consistência firme, baixa antigenicidade, sendo de fácil aquisição e conservação, podendo ser armazenado em forma de banco de cartilagens para ser utilizado emergencialmente em processos onde se faz necessária uma reconstrução tecidual (BRACCILLI et al., 2001).

Aplicação da elastina na reparação tecidual

A elastina é uma importante proteína da matriz extracelular que promove elasticidade a vários órgãos. A elastina presente na cartilagem auricular bovina, que por sua vez é utilizada como biomaterial, possui fibras orientadas em forma de favo, favorecendo a permeabilidade celular (MAYNE, 1987; DAAMEN, et al., 2007).

Uma característica que favorece a utilização da elastina é o fato de que as sequências das cadeias moleculares se mantêm inalteradas, portanto, se associadas aos processos de tratamento alcalino e mineralização, estes excluem efeitos deletérios do procedimento de enxertia acionando a cascata de eventos biológicos adequada para a reparação tecidual (VULCANI, et al., 2008). Esses eventos biológicos

ocorrem pela facilidade de adesão celular e inibição da formação de fibroses. Entretanto, a degradação da elastina, pode influenciar nas respostas celulares, devido a capacidade de quimiotaxia, adesão celular, reduzir a formação de fibrose e evitar respostas inflamatórias (DAAMEN, et al.,2007).

Outro estudo foi realizado em um cão em atendimento emergencial apresentando politraumatismo perfurante da parede torácica direita. Foi implantado no local da ferida cartilagem auricular de bovino conservada em glicerina 98%. Após realizar protocolo terapêutico emergencial, foi realizado procedimento cirúrgico para a implantação do tecido na reparação da parede torácica. Nas primeiras 48 horas do procedimento cirúrgico, observou-se nítido desconforto do animal e moderada expansão da caixa torácica. As regiões das feridas apresentavam-se com hiperemia e edema, sensíveis durante a manipulação, com excessiva quantidade de exsudato. O processo de cicatrização evoluiu satisfatoriamente, com a diminuição significativa do edema local e do exsudato. Diante da boa resposta ao tratamento cirúrgico, apresentada pelo paciente, concluiu-se que o uso desse tipo de biomaterial, em implantes na parede torácica, conservado em glicerina 98% é viável (BRACCIALI, et al., 2005).

IMPLANTES CARTILAGINOSOS

A implantação de um biomaterial promove uma resposta inflamatória de forma específica conhecida como reação ao corpo estranho (AMBROSIO, 2006). Este tipo de reação desencadeia uma série de eventos inflamatórios que podem culminar na expulsão do material por meio da formação de uma fístula, ou intensa deposição de tecido fibroso no intuito de encapsular e isolar o material (VASCONCELOS, 2006; SANTOS, 2010). A reação ao biomaterial dependerá de características, como a composição química, porosidade, aspereza, tamanho, forma, carga elétrica e energia livre de superfície e também do tamanho e tipo de lesão criada para a implantação deste (ACKERMANN, 2013). Um biomaterial ideal deve liberar o mínimo de resíduos durante sua vida útil no organismo, pois estes serão fagocitados pelas células de defesa (VASCONCELOS, 2006).

Os polímeros naturais, em especial, o colágeno e elastina se mostram promissores na reparação do tecido cartilaginoso, tendo em vista que são componentes naturais da matriz extracelular cartilaginosa (MARCHI, et al., 2011). A resposta ao implante envolve além dos eventos de reparo desencadeados pelo trauma cirúrgico, uma resposta tecidual ao material implantado (ACKERMANN, 2013). A resposta específica ao material frequentemente compreende uma inflamação granulomatosa do tipo corpo estranho e sobrepõe aquela produzida pelo trauma (VASCONCELOS, 2006). Diferentes células, como leucócitos e plaquetas, aderem à superfície dos biomateriais e como resultado propiciam a regulação de citocinas e, subsequentemente, a processos pró-inflamatórios (VASCONCELOS,2006; ACKERMANN, 2013).

Dentre as células envolvidas nesse processo, os macrófagos possuem maior destaque por serem os responsáveis pela liberação de fatores de crescimento para a formação de tecido de granulação e reparo tecidual. Ocorrerá a migração e proliferação de fibroblastos que são as principais células envolvidas na cicatrização (VALENCIA-BASTO , 2010). Os fibroblastos têm por principal função a manutenção da integridade do tecido conjuntivo, pela síntese dos componentes da matriz extracelular, aos quais incluem o colágeno. Concomitantemente, será iniciada a neovascularização e a formação do tecido de granulação característico do processo inflamatório crônico, e

assim ocorrerá a formação da fibrose que visa a cicatrização do tecido e o isolamento do biomaterial (VASCONCELOS, 2006; CHANG, et al., 2012).

Visando diminuir o grau de resposta inflamatória, além do fato de possuir outras características satisfatórias, como baixa antigenicidade, observa-se o desenvolvimento de terapias com a utilização de membranas biológicas, na maioria, a base de colágeno (GORSLINE et al., 2010). Devido as propriedades físico-químicas, o colágeno possui susceptibilidade de ser modificado quimicamente sem perder as propriedades básicas, sendo largamente utilizado como material para implante, tanto na forma pura, ou ainda associado a outras moléculas, como polissacarídeos biológicos e microbianos (FORTI, et al., 2006).

As reações que podem ocorrer na estrutura da proteína do colágeno em implantes com tecidos ou líquidos tissulares são a formação de tecido fibrótico, interação com o sistema plaquetário com consequente formação de trombos ou processos de coagulação (BI et al., 2010). Essas reações são minimizadas por associações com polissacarídeos, cortisona, além de novos processos de ligações cruzadas ou ainda novas associações entre os compostos já existentes (BINNEBÖSEL et al., 2010).

OBTENÇÃO E CONSERVAÇÃO DE MEMBRANAS BIOLÓGICAS

Considerações gerais sobre conservação de membranas biológicas

As membranas biológicas consistem em implantes de natureza orgânica que tem como principal característica serem constituídos quase que exclusivamente por colágeno. São usados como enxertos em cirurgias reconstrutivas, após preservação por diferentes técnicas de conservação para preservar a viabilidade e diminuir a antigenicidade (MORETTI et al., 2012). A preservação dos implantes não pressupõe a manutenção da viabilidade celular, sendo que a eficiência da cirurgia reparadora, geralmente, está associada à reação biológica de reparação e não à sobrevivência dos elementos celulares presentes no implante, uma vez que o implante funciona como um arcabouço ou suporte temporário à migração de fibroblastos (GOISSIS, et al., 1999; BIONDO-SIMÕES, et al., 2014).

Além disso, os agentes conservantes são substâncias dotadas de ação germicida ou germiostática e se destinam a evitar as alterações que possam ocorrer em qualquer conservado, proveniente de proliferação microbiana (PLEPIS, et al., 1996). A preservação tem sido feita por congelamento ou por utilização de agentes químicos como solução de polivinilpirrolidona, solução hipersaturada de açúcar, mel não processado e solução hipersaturada de sal que são alternativas de baixo custo. São também utilizados glutaraldeído e glicerina, dentre os quais se destaca a glicerina 98%, que é utilizada, com maior frequência, para preservação de próteses biológicas (RABELO, et al., 2004).

A glicerina a 98% é utilizada para conservação de diferentes tecidos, pois mantém a vitalidade celular (SILVA, et al., 2009). O modo de ação está baseado na desidratação das células, à qual se atribui ação anti-séptica, atuando contra fungos e bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, com exceção para as formas esporuladas. Ressalte-se, porém, que ao preservar o biomaterial nessa solução, o mesmo deve permanecer por um período mínimo de 30 dias completamente submerso no meio, antes do procedimento cirúrgico (RABELO, et al., 2004). O tempo mínimo necessário do biomaterial no meio de escolha, visa garantir a atenuação imunogênica, incremento

na resistência, assim como o efeito antimicrobiano, evitando sinais de rejeição do tecido receptor ao enxerto utilizado (RABELO, et al., 2004; SIONKOWSKA, 2011).

Avanços nos métodos de obtenção de membranas biológicas

A biocompatibilidade *in vivo* de materiais compostos por colágeno e tratados em solução alcalina, até o presente momento, foi pouco investigada. Em estudos em que este meio de obtenção de membranas foi empregado objetivou-se reduzir a antigenicidade de materiais biológicos devido ao elevado pH, mantendo a arquitetura do tecido conjuntivo (VULCANI, et al., 2008).

Em estudo realizado, objetivou-se a obtenção de biomembranas de colágeno tratadas em solução alcalina comparando a biocompatibilidade com solução de glicerina a 98%, e com membranas não tratadas. Para tanto, foram utilizados centros tendinosos diafragmáticos de equinos conservados em solução alcalina por períodos de 24, 48, 72, 120 e 144 horas, seguidas de processo de liofilização, procedidas de verificação das possíveis alterações macro e microscópicas proporcionadas pelo tratamento após implantação na parede abdominal na mesma espécie. Das características observadas, notou-se que o tempo de tratamento por 72 horas foi o que proporcionou flexibilidade às amostras, facilitando a manipulação pelo cirurgião, porém, sem perder resistência considerável em relação a tempos superiores. Concluiu-se que o tempo mais adequado para a conservação das membranas biológicas em solução alcalina seguida de liofilização foi de 72 horas e que esse método proporciona melhor integração tissular com os tecidos da parede abdominal de equinos, em relação aos outros métodos utilizados de conservação de biomembranas, em glicerina 98% e às membranas apenas liofilizadas (VULCANI, et al., 2008).

Em outro estudo realizado por NASCIMENTO, et al. (2012), objetivou-se a obtenção de membranas de elastina, derivadas de cartilagem auricular. O processamento foi realizado inicialmente com lavagem da membrana em solução de NaCl 0,9%, água e acetona e em seguida foram tratadas em NaOH à 80°C por 45 minutos, seguida de lavagem em água até atingir total neutralidade. Essa membrana já neutralizada passou pelo processo de liofilização, que consiste na desidratação em baixas temperaturas com o intuito de promover a conservação do material biológico. Finalizando o processo, foi realizada a mineralização da membrana com fosfato de cálcio seguido de imersão alternada em outras soluções contendo fosfatos e cálcio, que se apresenta como alternativa promissora, especialmente nas terapias em que se almeja a regeneração óssea.

PARAMETROS DE AVALIAÇÃO DA REPARAÇÃO TECIDUAL

Intensidade da reação inflamatória

A reação inflamatória é absolutamente necessária ao processo de reparo tecidual, embora, quando se manifeste em elevada intensidade ou se mantenha por tempo demasiado, este fenômeno seja o principal agente retardador da cicatrização (ACKERMANN, 2013; SANTOS 2010). A duração e intensidade da resposta inflamatória são sinais importantes na avaliação da severidade, morbidade e possíveis fatores que venham interferir na cicatrização (MENDONÇA & COUTINHO NETO, 2009). Quando um trauma ocorre ao tecido cartilaginoso, pode ocorrer quebra das fibras colágenas, seguida de reação inflamatória por enzimas proteolíticas que vão destruir a cartilagem (MORETTI et al., 2012).

A fase exsudativa ou inflamatória tem início logo após o trauma e é caracterizada pela vasoconstrição, inicialmente reflexa e posteriormente mantido por substâncias vasoativas, bradicinina e histamina, ocorrendo em seguida a vasodilatação. Como consequência ocorre a presença de exsudado inflamatório no local da ferida, composto de plasma, eritrócito e leucócitos. Esta fase também é caracterizada pela presença de dor, calor, rubor e tumor (ACKERMANN, 2013). As primeiras células de defesa a chegarem ao local da lesão são os neutrófilos que atuam no controle da infecção através da fagocitose, destruição de bactérias e lise de tecido desvitalizado, sendo que a deficiência de algumas dessas funções pode estar associada com o aumento da suscetibilidade à infecção (CORSI, et al., 1995).

A infiltração pelos macrófagos, que continuam o processo de fagocitose iniciado pelos neutrófilos, é um componente importante da inflamação crônica. Os macrófagos produzem e liberam fatores, que controlam a formação do tecido de granulação, influenciam a angiogênese, estimulam a proliferação de células mesenquimais (ACKERMANN,2013). A migração e proliferação dos fibroblastos produzem enzimas proteolíticas que digerem a fibrina e o colágeno desvitalizado e remove os neutrófilos dando lugar a proliferação celular (BALBINO, et al., 2005).

A fase proliferativa se caracteriza por intensa neoformação capilar e proliferação fibroblástica (MORIMOTO et al., 2005). A neovascularização se inicia nos primeiros dias após a injúria. As células endoteliais se multiplicam e se entremeiam aos fibroblastos, células de origem mesenquimal, que são fundamentais na produção de matriz extracelular (BI et al., 2010). A matriz extracelular, que é sintetizada pelos fibroblastos, tem papel fundamental nesta fase do reparo. Isso se deve ao fato dessa matriz extracelular ser um complexo de macromoléculas que, além do suporte estrutural para os tecidos, também modula várias funções dos componentes celulares, tais como: proliferação, diferenciação, movimentação e junção celular (BALBINO, et al., 2005; ROSS & PAWLINA,2011). Os fibroblastos, por sua vez, se movem na ferida ao longo da matriz extracelular e, após ingressarem na mesma, podem assumir três fenótipos: migratório, produtor de colágeno ou contrátil (THEVENOT et al., 2011). Os fibroblastos gradualmente mudam o fenótipo migratório para um fenótipo profibrótico, que começa pela dispersão do retículo endoplasmático e do aparelho de Golgi pelo citoplasma até apresentarem repletos de novas proteínas, representada principalmente pelo colágeno (MORIMOTO et al., 2005 ;MCDUGALL et al., 2006).

A produção excessiva de colágeno nesta fase é devido principalmente a expressão da proteína TGF- β (Fator de transformação do crescimento beta), além dos fatores derivados de crescimento das plaquetas (PDGF) e epidermal (EGF), liberados por plaquetas e macrófagos, que são os principais sinais de ativação dos fibroblastos (BOTTINO, et al., 2010). Deste modo, os fibroblastos sintetizam colágeno do tipo III, contribuindo para a aquisição da resistência tensil da cicatriz e se diferenciam em miofibroblastos, induzidos pelo PDGF, TGF- β , secretados pelos macrófagos para a contração da lesão (MORIMOTO, et al., 2005; THEVENOT, et al., 2011).

A etapa seguinte consiste na fase cicatricial, caracterizada por epitelização da superfície da ferida e contração cicatricial (VALENCIA-BASTO, 2010). A contração mediada pelos miofibroblastos e a migração de células epiteliais favorece o processo de cicatrização. A contração reduzida pode levar ao retardamento, da cicatrização, enquanto uma contração mais prolongada pode em perda de função e cicatriz hipertrófica (IWASAKI, et al., 2011).

Intensidade de deposição de colágeno

Classificação da cicatrização

Um fator a ser considerado que pode dificultar a cicatrização é o aumento da atividade celular durante o processo cicatricial que causa incremento do metabolismo e uma demanda maior por nutrientes (ACKERMANN, 2013; VALENCIA-BASTO, 2010). Assim a angiogenese, é de grande importância na recuperação tecidual e na formação do tecido de granulação (HWANG et al., 2012).

Com relação a classificação da cicatrização pode ocorrer por primeira intenção, que se caracteriza por uma ferida fechada não infectada, aos moldes de uma ferida cirúrgica incisional, em que há uma aproximação dos bordos da ferida e o processo de cicatrização evolui diretamente à produção de uma cicatriz (KIM, et al., 2012; FOSSUM, 2014). O processo de cicatrização por segunda intenção, também denominado de cicatrização por granulação, caracteriza-se por indução do reparo em feridas com perda maior de células e tecidos, como ocorre nas excisões cirúrgicas (LIMA et al., 2012; FOSSUM, 2014).

Colagenização do processo cicatricial

O colágeno é um componente fundamental no processo de reparo tecidual, sintetizado a partir dos fibroblastos e presente em abundância nas fases proliferativa e de maturação da ferida (VILLANOVA et al., 2010). As fibras colágenas desempenham um papel vital, não apenas na manutenção da integridade estrutural, mas também na determinação da função tecidual. No final do processo cicatricial, na fase de maturação, a renovação das células epiteliais e a deposição de colágeno tornam-se mais intensos, com organização das fibras colágenas e a neovascularização diminui (BEHEREGARAY et al., 2014). A colagenização representa um fator de suma importância durante o processo de cicatrização por segunda intenção, uma vez que o colágeno é o principal componente dérmico responsável pelo restabelecimento da pele após injúria (SANTOS, 2010). No tecido de granulação, os fibroblastos proliferam e adquirem maior quantidade de retículo endoplasmático rugoso e, surgem nos cortes histológicos na forma de células grandes e agrupadas (YAN et al., 2010).

Estudos demonstram a conexão existente entre a proliferação fibroblástica, deposição de colágeno e a epitelização de feridas cutâneas. Neste processo, atribui-se ao colágeno tipo I um papel fundamental na dinâmica da cicatrização, não apenas por representar o principal elemento protéico do parênquima cicatricial, mas também devido à relação entre esta proteína e os fenômenos de proliferação e migração celular (VASCONCELOS, 2006; THEVENOT et al., 2011). Isso ocorre devido a ligação entre a molécula protéica colágeno I, a integrinas de superfície celular, queratinócitos e fibroblastos, ativando receptores de uma série de proteínas quinases associadas ao ciclo celular (MORIMOTO, et al., 2005; MCDUGALL et al., 2006). Deste modo, as moléculas de colágeno I funcionam como uma matriz que orienta a migração celular durante a reparação cicatricial (FERNANDES et al., 2015). Destaca-se que o aumento da deposição de colágeno durante o processo de cicatrização pode ocorrer devido ao aumento do número de células produtoras. Se uma quantidade insuficiente de colágeno for depositada, a cicatriz formada será de aspecto frágil e pode tornar-se deiscente (GIRARD, 2005).

Um aspecto de fundamental importância para ocorrer o reparo cicatricial por segunda intenção é a instalação da reação de granulação (CORSI, et al., 1995). Como em feridas extensas não há união das bordas, existe formação do coágulo de fibrina

que preenche o defeito e mais detritos necróticos e exsudatos devem ser removidos. O fator que diferencia a cicatrização primária da secundária refere-se ao fenômeno da contração da ferida (BALBINO et al., 2005; FOSSUM, 2014).

Avaliação morfométrica da contração das feridas

A finalização do processo cicatricial é constituída pela contração e aumento da resistência da cicatriz. Durante a formação do tecido de granulação, fibroblastos e células endoteliais se movem para o interior da ferida, produzindo matriz extracelular e angiogênese (KIM et al., 2012). Muitos destes fibroblastos adquirem aspecto morfológico e bioquímico de células musculares lisas, sendo denominados miofibroblastos (MORIMOTO et al., 2005). Os miofibroblastos participam na síntese da matriz extracelular e na produção de força mecânica, com influência na reorganização da matriz e na contração da ferida. A atividade contrátil é responsável pelo fechamento de feridas após a lesão, processo conhecido como contração da ferida (LIMA et al., 2012). Uma vez executado seu papel, os miofibroblastos se desdiferenciam e voltam a ser fibroblastos (MORIMOTO et al., 2005).

A contração é a redução de parte ou de toda a área da ferida, ocorrendo de forma centrípeta, a partir das bordas da lesão (CARDINAL, et al., 2009). O mecanismo de contração inicia-se precocemente durante a cicatrização e evolui após a maturação da cicatriz. A força tênsil da cicatriz depende da quantidade de colágeno, no início e na fase final do processo, da mudança do tipo de colágeno produzido e do aumento das ligações covalentes entre as moléculas de colágeno (COELHO et al., 1999).

Dentre os métodos para mensuração do diâmetro da ferida em processo de cicatrização, pode ser realizada pela mensuração direta da área da ferida durante exame físico ou necroscópico, por meio de exame ultrassonográfico, tomografia computadorizada, ressonância e, mais recentemente, através da utilização de programas computacionais que realizam mensuração digital das imagens (MENEZES, et al., 2008). Na avaliação morfométrica macroscópica, ou planimetria, objetiva-se estabelecer um parâmetro comparativo, através da mensuração da ferida em processo inicial e durante o processo de evolução cicatricial (FERNANDES et al., 2015). Consiste em um método de fácil aplicabilidade que permite inferir se o biomaterial implantado está apresentando resposta satisfatória através do acompanhamento da retração do diâmetro da lesão, tornando possível a determinação da taxa de contração da ferida (LIMA et al., 2012).

Para a execução da análise morfométrica torna-se indispensável a utilização de instrumentos de precisão. Por ser um método manual, utiliza-se instrumentos como a régua milimetrada para medir as bordas das feridas, de onde obtêm o maior e menor diâmetro da área da ferida. Os paquímetros digitais também são utilizados, por garantir maior precisão na determinação do diâmetro da lesão (RODRIGUES, et al., 2013). No que se refere ao uso de ferramentas computacionais, vem aumentando a utilização da planimetria digital, pois se obtêm resultados de mensuração mais rápidos do que com a utilização das ferramentas anteriores. Com o uso de câmeras digitais com preços acessíveis e programas computacionais de análise de imagens disponíveis gratuitamente foi possível o desenvolvimento de técnicas de análise morfométrica digital de feridas (RODRIGUES, et al., 2013).

A avaliação morfométrica por planimetria digital é um método que consiste na captura e análise de imagens, com uso de câmera digital acoplada a um dispositivo de captura de imagens. Em seguida, as imagens são transferidas a um software e analisadas para a mensuração da área da ferida (FERNANDES et al., 2015). Esse

método permite avaliar a evolução da ferida, no decorrer dos dias, através de demarcações na área considerada para análise das imagens capturadas com a utilização de programa computacional (RODRIGUES, et al., 2013).

Avaliação histopatológica

A análise histopatológica da ferida é realizada associando os achados encontrados na avaliação clínica do processo cicatricial, fornecendo os tipos celulares, fibras e outras estruturas, bem como a atividade desses componentes no tecido lesionado (RODRIGUES, et al., 2013; BEHEREGARAY et al., 2014). Os tecidos são analisados com a utilização de corantes que estabelecem afinidades químicas por tecidos e substâncias produzidas, em resposta a algum agente lesivo ou alteração celular (JUNQUEIRA, et al., 1979).

A técnica de coloração histológica de Hematoxilina e Eosina (HE) é utilizada para a avaliação e descrição morfológica e fisiopatológica do processo de cicatrização de feridas, que permite avaliar e descrever tipos celulares e tissulares, respostas a diferentes tratamentos e identificar as diferentes fases do processo de cicatrização correlacionando-as com tratamentos estipulados (RICH & WHITTAKER, 2005; LIMA et al., 2012).

A quantificação da deposição colágena pela mensuração da área ocupada por fibras colágenas na zona de ferida é uma técnica de interesse para o estudo da cicatrização. Para esta análise pode-se utilizar técnicas de coloração como o Tricrômio de Masson e picrosírius (RICH & WHITTAKER, 2005). A técnica de coloração picrosírius é uma técnica de alta especificidade, para a determinação da área ocupada por colágeno em uma zona da ferida. Por esta técnica possuir alta sensibilidade é possível captar fibras de colágeno imaturo, ou do tipo III, diferentemente da técnica de tricrômio de Masson (FERNANDES et al., 2015).

Além disso, a coloração de picrosírius, realizada com o corante sirius red, possibilita que o colágeno apareça com aspecto brilhante e com um fundo escuro sob a luz polarizada, impedindo qualquer possibilidade de conflito com outros elementos presentes no tecido (FERNANDES et al., 2015). Os colágenos do tipo I são corados de vermelho, enquanto que os do tipo III coram-se de verde, por apresentar maior e menor birrefringência, respectivamente (RODRIGUES, et al., 2013).

Baseado nos estudos realizado por VIDAL (1986), sobre a capacidade das fibras de colágeno de interagirem com a luz, foi possível identificar e medir a birrefringência, que consiste no fenômeno em que de um único raio se criam dois raios refratados pelo material. Para a quantificação da deposição de fibras colágenas do processo cicatricial pela técnica de picrosírius é necessário a utilização de programas de análise de imagem. A avaliação consiste na mensuração da porcentagem da área ocupada por fibras colágenas em comparação à área total da ferida em fotomicrografias captadas sob luz polarizada da zona da lesão (RODRIGUES, et al., 2013; FERNANDES et al., 2015).

Avaliação Imunohistoquímica

Existem vários métodos para quantificar os tipos de colágeno e um destes é pela reação imunohistoquímica. Esta técnica essencialmente qualitativa fundamenta-se na conjugação de marcadores distintos com moléculas de imunoglobulinas, por meio da interação antígeno-anticorpo (FERNANDES et al., 2015). Os anticorpos, ao se ligarem aos antígenos celulares ou teciduais correspondentes, por meio de reações bioquímicas e utilização de cromógenos, produzem alteração de coloração visível à

microscopia de luz óptica, sendo possível identificar o antígeno específico. O conhecimento aprofundado que se alcançou com a bioquímica do colágeno permitiu o aprimoramento das técnicas imunohistoquímicas, que passaram a utilizar antígenos altamente purificados (EMERTECAN et al., 2008). Com isso todos os tipos bem caracterizados de colágeno e seus precursores biossintéticos podem ser reconhecidos através de antígenos distintos capazes de apresentar uma resposta imunocelular significativa. Em relação ao processo de cicatrização de feridas cutâneas, a imunohistoquímica é particularmente aplicada para identificar elementos envolvidos nesse processo, como colágenos, miofibroblastos e vasos neoformados (EMERTECAN et al., 2008).

Ensaio imunohistoquímico são realizados a partir da produção de anticorpos específicos para determinantes antigênicos únicos das moléculas de colágeno e anti-colágeno. Para marcação de colágenos tipo I e III, utilizam-se os anticorpos anti-colágeno I e III que se ligam aos seus respectivos alvos. A visualização dessa interação antígeno anticorpo será obtida pela conjugação do anticorpo a uma enzima que irá catalisar uma reação que produzira cor (JUNQUEIRA et al., 1979; EMERTECAN et al., 2008; BEHEREGARAY et al., 2015), para os demais componentes do processo de cicatrização, há um anticorpo mono ou policlonal específico. No caso da marcação de miofibroblastos emprega-se o anticorpo anti- α -actina muscular lisa, actina α -sm, e para identificação de vasos neoformados, o anti-fator VIII, também denominado fator anti-von Willebrand (FERNANDES et al., 2015).

Atualizações no uso de implantes cartilagosos

Com o amplo crescimento da área de Bioengenharia Tecidual, a tendência é desenvolver procedimentos minimamente invasivos que possibilitem a inserção do biomaterial almejado, preservando estruturas teciduais causando mínima resposta tecidual. Atualmente vêm sendo desenvolvidos novos biomateriais poliméricos ou aperfeiçoando os já existentes, mediante modificações nas características físico-químicas (IWASAKI et al., 2011). As pesquisas têm sido direcionadas para o desenvolvimento de técnicas que promovam a regeneração tecidual, e não somente a reparação, dentre as quais se destaca o implante de condrócitos em arcabouços 3D, ou *scaffolds*, que tem demonstrado tanto *in vitro* quanto *in vivo* promissores resultados para uso na regeneração do tecido cartilaginoso (GORSLINE, et al., 2010; IWASAKI et al., 2011). A técnica consiste no recrutamento de tecido do próprio paciente, que são dissociadas em células e cultivadas sobre suportes biológicos ou sintéticos, que são os *scaffolds*, para posterior realização de implantes de condrócitos, com o intuito de regenerar o tecido cartilaginoso lesado (GORSLINE, et al., 2010).

Todavia, é importante ressaltar que, o sucesso da regeneração do tecido cartilaginoso com o uso de arcabouços poliméricos está correlacionado diretamente com as interações destes materiais com as células circunjacentes no sítio de implantação, que por sua vez, definirão o tipo de resposta tecidual apresentada (IWASAKI et al., 2011) Nota-se, assim, que a formação de um novo tecido cartilaginoso depende da biocompatibilidade dos polímeros e dos subprodutos, das características físico-químicas do arcabouço pós-implantação e também da velocidade de degradação do material, a qual deve ser compatível com sua função no organismo (AMBROSIO, 2006; GORSLINE, et al., 2010).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista as propriedades inerentes do tecido cartilaginoso quando utilizado em implantes, percebe-se que há questionamentos sobre o tema, que vão desde a manipulação deste tecido até as reações celulares apresentadas após a sua implantação. Acredita-se que é preciso avançar um pouco mais no sentido de esclarecer as vantagens e desvantagens do uso de materiais cartilaginosos na reparação tecidual. Foi com esse intuito que buscou-se nessa revisão de literatura informações atualizadas a cerca do assunto, abordando as principais características do tecido cartilaginoso assim como os métodos para a sua conservação para ser implantado. Percebe-se que juntamente com o desenvolvimento na área de bioengenharia tecidual, surgiram avanços no que se concerne a reparação, e até mesmo a regeneração com utilização de técnicas inovadoras possibilitando a regeneração do tecido cartilaginoso em estruturas ossificadas, como as articulações. Porém, mesmo com os resultados até então obtidos, faz-se necessário novos estudos que visem aprimorar o desempenho da utilização deste biomaterial em tecidos moles. Assim, os avanços futuros deverão se basear na melhor compreensão das propriedades físico-químicas do tecido cartilaginoso como biomaterial, para determinadas aplicações, onde novas combinações que se assemelhem a estrutura original do tecido, se torne ainda mais promissora na recuperação do tecido lesionado.

REFERÊNCIAS

- ACKERMANN M.R. Inflamação e cicatrização. In: McGavin, M.D.; Zachary J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.89-146.2013.
- AMBROSIO, L. Biomaterials for tissue regeneration. **Medical device manufacturing and technology**. 2006.
- BALBINO, C. A.; PEDREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 41(1) : 27-51, 2005.
- BEHEREGARAY, W. K.; GIANOTTI G. C.; LEAL J. S.; GARCEZ T.; CONTESINI E. A. Eletroestimulação na cicatrização de feridas cutâneas experimentais em coelhos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.5, p.878 - 883, mai/2014.
- BINNEBÖSEL M, Klink CD, Otto J, Conze J, Jansen PL, Anurov M, et al. Impact of mesh positioning on foreign body reaction and collagenous ingrowth in a rabbit model of open incisional hernia repair. **Hernia**. 14(1):71-77. 2010.
- BI, L., CAO, Z., HU, Y., SONG, Y., YU, Y., YANG, B., MU, J., HUANG, Z., HAN, Y. Effects of different cross-linking conditions on the properties of genipin-cross-linked chitosan/collagen scaffolds for cartilage tissue engineering. **J Mater Sci: Mater Med**. V. 56, p. 45-57, 2010.
- BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; MOURA, P. A. P.; COLLA, K.; TOCCHIO, A. F. Z.; MORAIS, C. G.; MIRANDA, R. A.; ROBES, R. R.; IOSHII, S. O. Inflammatory reaction and tensile strength of the abdominal wall after an implant of polypropylene mesh and polypropylene/poliglecaprone mesh for abdominal wall defect treatment in rats. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo , v. 29, supl. 1, p. 45-51, 2014.

BOTTINO, M. C.; THOMAS V.; MONCY V. J.; DERRICK R. D.; GREGG M. J. Acellular dermal matrix graft: Synergistic effect of rehydration and natural crosslinking on mechanical properties. **Journal of Biomedical Materials Research b: Applied Biomaterials**, v. 95b, issue 2.2010.

BRACCIALLI, CS.; DALECK, C.R.; COSTA NETO, JM. ; Implante de cartilagem auricular de bovino, conservada em glicerina a 98%, na aurícula de cães. **Vet. Not.**, n.7, p.53-59, 2001.

BRACCIALLI, C. S.; DALECK, C. R.; REPETTI, C. S. F.; HATAKA, A.; FRIOLANI, M Reaparação da parede torácica de cão com cartilagem auricular de bovino conservada em glicerina a 98% - Relato de caso. **Veterinária Notícias** (UFU. Impresso), v. 11, p. 99-105, 2005.

CARDINAL, M., EISENBUD, D.E., ARMSTRONG, D.G. Wound shape geometry measurements correlate to eventual wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, Saint Louis, v.17, p. 173-178, 2009.

CHANG N.J.; LIN C.C.; LI C.F.; WANG D.A.; ISSARIYAKU N; YEH M.L. The combined effects of continuous passive motion treatment and acellular PLGA implants on osteochondral regeneration in the rabbit. **Biomaterials**, Guilford, v. 33, n. 11, p. 3153-3163, 2012.

COELHO, M. C. O.; REZENDE, C. M. F.; TENÓRIO, A. P. M. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, v. 29, n. 2, p. 297-303, 1999.

CORSI, R.; CORSI, P.; PIRANA, S. Fatores que prejudicam a cicatrização das feridas: revisão da literatura. **Revista Brasileira de Cirurgia**, 85(2) : 47-53, 1995.

DAAMEN W.F; HAFMANS T.; VEERKAMP J.H.; VAN KUPPEVELT T.H. Elastin as a Biomaterial for for tissue engineering. **Biomaterials**, 28(30): 4378-4398.2007.

EMERTCAN, A. T.; INAN, S.; OZTURCAN, S.; BILAC, C.; CILAKER, S. Comparison of the effects of collagenase and extract of centella asiatica in an experimental model of wound healing: an immunohistochemical and histopathologica study. **Wound Repair and Regeneration**, Saint Louis, v. 16, p. 674-681, 2008.

FERNANDES,C. P. M.; LOPES,T. V.; CAPELLA,S. O.; FONTOURA, E. G.; TILLMANN, M. T.; FÉLIX, S.R.; NOBRE, M. O. Estudo comparativo de métodos de avaliação de contração de feridas cutâneas abertas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, Brasil, v. 52, n. 2, p. 106-111, ISSN 1678-4456.jun/2015.

FORTI, F. L.; GOISSIS, G ; PLEPIS, A. M. G. Modifications on Collagen Structures Promotes by 1,4-Dioxane Improve Thermal and Biological Properties of Bovine Pericardium as a Biomaterial. **Journal of Biomaterials Applications**, Londres, UK, v. 20, p. 267-285, 2006.

FOSSUM T.W. Cirurgias do Sistema Tegumentar [Surgeries cutaneous system]: In: Fossum T.W. **Cirurgia de pequenos animais** [Small Animal Surgery]. 4th ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.190-288. 2014.

GIRARDI, RCG. **Comportamento de matrizes de colágeno utilizadas no tratamento de feridas planas induzidas em pele de rato**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo - Universidade de São Carlos, São Paulo, Brasil, 2005.

GRINNELL, F.; HO CH; LIN YC; SKUTA G. Differences in the regulation of fibroblast contraction of floating versus stressed collagen matrices. **Journal of Biological Chemistry** v.274, p.918-923, 1999.

GOISSIS, G.; PICCIRILLI, L. ; PLEPIS, A. M. G. ; DAS GUPTA, D. K. . Preparation and Characterization of anionic collagen:P(VDF-TrFE) composites. **Polymer Engineering and Science**, EUA, v. 39, n. 3, p. 474-482, 1999.

GORSLINE, R.T.; TANGKAWATTANA, P.; LANNUTTI, J. J.; YAMAGUCHI, M.; KAEDING, C. C.; BERTONE, A. L. Accelerated chondrogenesis in nanofiber polymeric scaffolds embedded with BMP-2 genetically engineered chondrocytes. **J. Biomed. Sci. Eng.** v. 3, n. 3, p. 908-916, 2010.

HWANG, Y. K.; CHOI, J. W.; HWANG, C. H.; PARK, W.; PARK, K. D.; SUH, K.; KIM, J. W. Synthetic polymer membranes as a proxy of skins in permeation studies of biologically active compounds. **Macromol. Res.**, Seoul, v. 20, n. 4, p. 379-384, 2012.

HENCH L. L.; PEREIRA M. M.; ORÉFICE R. L.; JONES, J. R. Biocompatibilidade, bioatividade e engenharia de tecidos. In: ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M; MANSUR, H. S. **Biomateriais: Fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, Cap.16. p. 479-506, 2006.

HORVAI, A. Anatomy and Histology of Cartilage. In: LINK, T. M. (Ed.) **Cartilagen Imaging: Significance, Techniques, and New Developments**. San Francisco: Springer, c. 1, p. 1-10. 2011.

IWASAKI, N.; KASAHARA, Y.; YAMANE, S.; IGARASHI, T.; MINAMI, A.; NISIMURA, S. Chitosan-based hyaluronic acid hybrid polymer fibers as a scaffold biomaterial for cartilage tissue engineering. **Polymers.**, Guildford, v. 3, n. 1, p. 100-113, 2011.

JUNQUEIRA LCU, BIGNOLAS G, BRENTANI RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochemical Journal**. 1979.

JUNQUEIRA LCU, CARNEIRO J. Histologia básica. 12th ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2013. 556p.

KIM, H.J.; KIM, K.K.; PARK, I.K.; CHOI, B.S.; KIM, J. H.; KIM, M.S. Hybrid scaffolds composed of hyaluronic Acid and Collagen for Cartilage Regeneration. **J. Tissue Eng. Regen. Med.**, Chichester, v. 9, n. 2, p. 57-62, 2012

LIMA, C. R. O.; RABELO, R. E.; MOURA, V. M. B. D.; SILVA, L.A. F.; TRESVENZOL, L. M. F. Cicatrização de feridas cutâneas e métodos de avaliação. Revisão de literatura. **Revista CFMV**, v. 56, p. 53-59, 2012.

MARCHI, J.; USSUI V.; DELFINO C.S.; BRESSIANI A.H.; MARQUES M.M.. Analysis *in vitro* of the cytotoxicity of potential implant materials. I: Zirconia-titania sintered ceramics. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 94B, i. 2, p. 305-311, 2011

MAYNE R.; Bergeson R.E. Structure and function of collagen types. London: **Academic Press**; 1987.232p.

MCDUGALL, S.; DALLON, J.; SHERRATT, J.; MAINI, P. Fibroblast migration and collagen deposition during dermal wound healing: mathematical modeling and clinical implications. **Philos Transact Math Phys Engineering Science**. v. 364, p.1385-1405, 2006.

MENDONCA, R.J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 3, Jul/2009 .

MENEZES, F.F.; COELHO, M.C.O.C.; LEAO, A.M.A.C. Avaliação clínica e aspectos histopatológicos de feridas cutâneas de cães tratadas com curativo temporário de pele. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, Londrina, v. 2, n.4, p.1-3, 2008.

MORETTI A.I.; PINTO, F.J.; CURY, V.; JURADO, M.C.; MARCONDES W.; VELASCO I.T.; SOUZA, H.P. Nitric oxide modulates metalloproteinase-2, collagen deposition and adhesion rate after polypropylene mesh implantation in the intra-abdominal wall. **Acta Biomater**, 8(1):108-115. 2012.

MORIMOTO, N.; SASO, Y.; TAIRA, T.; SUZUKI, S. Viability and function of autologous and allogeneic fibroblasts seeded in dermal substitutes after implantation. **Journal of Surgical Research**, v. 125, n. 1, p. 56-67, 2005.

NASCIMENTO, D.L.; VULCANI, V.A.S.; MARTINS V.C.A.; PLEPIS, A.M.G. Mineralização de matriz derivada de cartilagem auricular. **Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais**. 2012;

PLEPIS, A. M. G.; GOISSIS, G.; DAS GUPTA, D. K. . Dielectric and Pyroelectric Characterization of anionic and native collagen. **Polymer Engineering and Science**, v. 36, n. 24, p. 2932-2938, 1996.

RABELO, R.E.; TAVARES, G.A; PAULO, N. M.; SILVA, L.A.F.; DAMASCENO, A.D.; ANDRADE, M.A.; MARTINS, F.G.; ROMANI, A.F.; SILVA, O.C.; TRINDADE, B.R. Características físicas e microbiológicas do centro tendíneo diafragmático bovino conservado em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4%. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 5, n. 4, p. 229-238, out./dez. 2004.

RADHIKA M.; SEHGAL P.K. Studies on the desamidation of bovine collagen. **J Biomed Mater Res.**, n. 35:497-503.1997.

RICH, L.; WHITTAKER, P. Collagen and picrosirius red staining: a polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution. **Brazilian Journal of Morphological Science**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 97-104, 2005.

RODRIGUES, D.F; MENDES, F.F; DIAS, T.A.; LIMA, A.R; SILVA, L.A.F. O programa Image j como ferramenta de análise morfométrica de feridas cutâneas [The Image J software as a tool for morphometric analysis in cutaneous wounds]. **Enciclopédia Biosfera** . dez/ 2013.

ROSS, M.H.; PAWLINA, W. Cartilagem. In: Histologia: Texto e atlas. 6ªEd. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**; 2011. 987 p.

ROSSI, J. W. C.; BARBOSA, L. C.O.; ESTEVES, A. Avaliação do potencial osteogênico do perióstio em associação com uma membrana de colágeno. **Acta ortop. bras.** [Internet]. 2010.

SANTOS A.L. 2010. **Avaliação de membrana experimental implantada em cavidade cirurgicamente confeccionada em calota craniana de coelhos**. Estudo histológico. Dissertação de Mestrado em Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP. 105p.

SEVERINO, P.; SANTANA, M.H.A.; PINHO, S.C.; SOUTO, E.B. Polímeros sintéticos biodegradáveis: matérias-primas e métodos de produção de micropartículas para uso em drug delivery e liberação controlada. **Polímeros**, São Carlos, v. 21, n. 4, p. 286-92, 2011.

SILVA, L.A.F; FRANCO, L.G; MENEZES, L.B; MOURA, V.M.B.D., BERNARDES, KM., & SOUZA, MA. Hernioplastia experimental em coelhos por meio de cartilagem auricular bovina conservada em glutaraldeído. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 61(3), 606-612, 2009

SIONKOWSKA, A. Current Research on the Blends of Natural and Synthetic Polymers as New Biomaterials: Review. **Progress in Polymer Science**, 1254-1276,2011.

SMITH, J.W. Molecular pattern in native collagen. **Nature**, Londres, v. 219, p. 157 – 63, 1968.

SOUZA, L.O. **Estudo experimental e comparativo da utilização da cartilagem septal e auricular no dorso nasal de coelhos**. Tese (Doutorado) São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2012.

THEVENOT, P. T.; BAKER, D. W.; WENG, H.; SUN, M.-W.; TANG, L. The pivotal role of fibrocytes and mast cells in mediating fibrotic reactions to biomaterials. **Biomaterials**, 32(33),8394–8403, 2011.

VASCONCELOS, A.C. Processo inflamatório relacionado com a presença de biomateriais. In: Órefice, RL.; Pereira, MM.; Mansur, HS.; Biomateriais – Fundamentos e aplicações, 1ed. Rio de Janeiro: **Cultura Médica**, 2006. 279-280p

VALENCIA-BASTO, C. Cicatrización: proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas. **Investig. andina**, Pereira, v. 12, n. 20, Apr/ 2010

VIDAL, B.D.C. Evaluation of the carbohydrate role in the molecular order of collagen bundles: microphotometric measurements of textural birefringence. **Cell Mol Biol**, 32(5): p. 527-535. 1986.

VILELA L.M.; DEL CARLO R.J.; SILVA J.C.P.; MATTA S.L.P.; REIS A.M.S. Avaliação das fibras colágenas de meniscos frescos e preservados em glicerina: estudo experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30(4):321-327. 2009.

VILLANOVA, J.C.O; ORÉFICE, R.L.; CUNHA, A.S. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. **Polímeros**, São Carlos, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.

VULCANI, V. A. S.; MACORIS, D.G.; PLEPIS, A. M. G.; MARTINS, V. C. A.; LAPENA, M.H. Obtenção, caracterização e aplicação cirúrgica de matrizes de colágeno na parede abdominal de equinos. **Ciência Animal Brasileira** (UFG), v. 9, p. 778-785, 2008.

YAN L.P.; WANG, Y.J.;REN L.; W.U.G.; CARIDADE, S.G.; FAN, J.B.; WANG, L.Y.; JI, P.H.;OLIVEIRA J.M.; OLIVEIRA, J.T.; MANO, J.F.; REIS, R.L. Genipin-cross-linked collagen/chitosan biomimetic scaffolds for articular cartilage tissue engineering applications. **J. Biomed. Mater. Res. A.**, Hoboken, v. 95, n. 2, p. 465-75, 2010.