

Características morfológicas, histoquímicas e imunoistoquímicas dos tendões dos músculos semitendíneo e grácil: estudo comparativo entre os sexos*

Morphologic, histochemical, and immunohistochemical characteristics of the tendons of the semitendinosus and gracilis muscles: comparative study between men and women

EDGARD DOS SANTOS PEREIRA JÚNIOR¹, EDGARD DOS SANTOS PEREIRA², GILBERTO YOSHINOBU NAKAMA³, MARCUS VINICIUS MALHEIROS LUZO⁴, MÁRIO CARNEIRO FILHO⁵, RICARDO DIZIOLI NAVARRO⁶

RESUMO

Objetivo: Comparar, entre os sexos, as características morfológicas, histoquímicas e imunoistoquímicas dos tendões dos músculos semitendíneo e grácil a serem utilizados como auto-enxerto nas cirurgias de reconstrução do ligamento cruzado anterior.

* Trabalho realizado na Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.
Não houve fonte de auxílio à pesquisa.

1. Mestre, Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.
2. Doutor, Chefe do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Universidade de Santo Amaro – UNISA – São Paulo (SP), Brasil.
3. Médico, Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.
4. Doutor, Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.
5. Professor Afiliado, Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.
6. Livre-Docente, Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.

Endereço para correspondência: Gilberto Yoshinobu Nakama, Av. Jacutinga, 242, apto. 114, Indianópolis – 04515-030 – São Paulo, SP. Fax: (11) 3571-3850. E-mail: gilberto_nakama@yahoo.com.br
Recebido em 10/4/08. Aprovado para publicação em 13/5/08.

Copyright RBO2008

Métodos: Amostras dos tendões dos músculos semitendíneo e grácil de 36 pacientes (36 joelhos) foram avaliadas. As idades variaram de 15 a 46 anos, com média de 29,3 anos. Com relação à cor, 33 pacientes eram brancos e três não brancos. Quanto ao lado, eram 23 joelhos direitos e 13 esquerdos. Os pacientes foram divididos em dois grupos, sexo masculino (n = 20) e feminino (n = 16). As amostras dos tendões foram submetidas à análise histológica, histoquímica e imunoistoquímica. **Resultados:** Não se observaram diferenças estatisticamente significativas em relação à idade, ao sexo, à cor, ao lado, ao processo inflamatório, à vascularização, e à alcianofilia entre os grupos avaliados. Houve aumento da celularidade nos tendões do músculo semitendíneo em relação aos tendões do músculo grácil (sexo masculino p = 0,03 e sexo feminino p = 0,22). Pôde-se observar tendência nas mulheres à maior presença de calcificações dos tendões dos músculos semitendíneo e grácil (p = 0,06 e p = 0,09), e ao aumento da degeneração das fibras colágenas dos tendões do músculo semitendíneo (p = 0,06). Em relação à presença de receptores de estrógeno nos tendões dos músculos semitendíneo e grácil, observou-se aumento do número de receptores nos pacientes do sexo masculino. **Conclusão:** Observa-

ram-se, entre os sexos, diferenças morfológicas, histoquímicas e imunoistoquímicas no tendão do músculo semitendíneo entre o tendão dos músculos grácil e semitendíneo no sexo masculino.

Descritores – Ligamento cruzado anterior/cirurgia; Tendões/anatomia & histologia; Imunoistoquímica; Estudo comparativo

ABSTRACT

Objective: To compare the morphologic, histochemical, and immunohistochemical characteristics of the tendons of the semitendinosus and the gracilis muscles to be used as autograft in anterior cruciate ligament reconstruction surgeries in men and in women. **Methods:** Tendon samples of the semitendinosus and gracilis muscles of 36 patients (36 knees) were evaluated. Ages ranged from 15 to 46 years, with a mean of 29.3 years. Regarding color, 33 patients were caucasian, and three were non-caucasian. Regarding the side, 23 knees were right knees, and 13 were left knees. Patients were divided into two groups: men ($n = 20$) and women ($n = 16$). Tendon samples were submitted to histological, histochemical, and immunohistochemical analyses. **Results:** No statistically significant differences were seen with respect to age, race, side, inflammatory process, vascularization, and alcianophilia between the groups under evaluation. There was increased cellularity of semitendinosus muscle tendons when compared to gracilis muscle tendons (males $p = 0.03$, and females $p = 0.22$). The authors could observe that women show a trend to greater presence of calcifications in the tendons of the semitendinosus and the gracilis muscles ($p = 0.06$ and $p = 0.09$), and to increased degeneration of the collagen fibers of the semitendinosus muscle tendons ($p = 0.06$). Regarding the presence of estrogen receptors in the tendons of semitendinosus and gracilis muscles, they observed an increased number of receptors in male patients. **Conclusion:** The different genders showed morphologic, histochemical, and immunohistochemical differences in the tendons of the semitendinosus between the tendons of the gracilis and semitendinosus muscles in the male gender.

Keywords – Anterior cruciate ligament/surgery; Tendons/anatomy & histology; Immunohistochemistry; Comparative study

INTRODUÇÃO

Com o aumento da expectativa de vida e o maior interesse na prática esportiva, eleva-se a incidência de lesões do aparelho locomotor, especialmente as lesões ligamentares do joelho e, entre elas, as do ligamento cruzado anterior (LCA).

Observa-se crescente participação das mulheres nas atividades esportivas, com aumento significativo do número das lesões ligamentares do joelho; no sexo feminino, o número de lesões do LCA é proporcionalmente maior do que no masculino, atingindo, na literatura, proporção de três a nove para um⁽¹⁻³⁾.

A maior incidência das lesões observadas no sexo feminino provavelmente ocorre pelo fato de o LCA apresentar características anatômicas e fisiológicas próprias que podem aumentar a predisposição à lesão^(1-2, 4-7).

Embora o ligamento patelar (LP) seja considerado o procedimento com maior frequência utilizado para substituir o LCA, observam-se complicações na região doadora, inclusive de ordem estética, que fazem pensar em outras alternativas para minimizar esses efeitos negativos⁽⁸⁻⁹⁾.

Como alternativa de tratamento cirúrgico e aperfeiçoamento das técnicas de fixação, destaca-se a que utiliza os tendões dos músculos flexores do joelho, como o semitendíneo e o grácil (STG), sendo muito utilizada nos dias atuais, com resultados semelhantes aos do LP e com menos complicações relacionadas à área doadora⁽¹⁰⁻¹⁵⁾. Entretanto, mesmo com o aprimoramento das técnicas e com a contínua melhoria dos resultados cirúrgicos, ainda não existe o substituto ideal para o LCA⁽¹⁶⁾. Discute-se, inclusive, qual seria a técnica mais adequada para a reconstrução do LCA nas mulheres.

Quanto à estrutura histológica, os tendões e ligamentos usados como auto-enxertos, constituídos basicamente por colágeno, apresentam características viscoelásticas que interferem na estabilidade articular. Entretanto, quando avaliamos isoladamente o sexo feminino, constata-se que a frouxidão ligamentar generalizada^(6,17) e as alterações hormonais^(5,18) são mais evidentes. Esses fatores poderiam, em alguns casos,

levar a resultados insatisfatórios na reconstrução do LCA no sexo feminino.

O objetivo deste trabalho é comparar as características morfológicas, histoquímicas e imunoistoquímicas dos tendões dos músculos STG entre homens e mulheres, com o propósito de buscar respostas para as questões acima formuladas.

MÉTODOS

O protocolo de pesquisa foi submetido previamente à avaliação e aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo, de acordo com os princípios éticos para as pesquisas em seres humanos, conforme Resolução Federal do MS 196 de 10 de outubro de 1996 e a Declaração de Helsinque (1964), versão atualizada de 1983.

Estudamos amostras das extremidades excedentes dos tendões dos músculos semitendíneo e grácil utilizados como auto-enxerto nas cirurgias de reconstrução do LCA, de 36 pacientes (36 joelhos) portadores da síndrome de instabilidade anterior do joelho, selecionados na faixa etária de 15 a 46 anos, operados consecutivamente. Quanto aos pacientes, 16 eram do sexo feminino (44,4%) e 20 do masculino (55,6%). A média de idade foi de $29,9 \pm 9,6$ anos para o sexo feminino e $28,9 \pm 6,4$ para o masculino, variando de 15 a 46 anos. Em relação à cor, 33 pacientes eram brancos e três não brancos. Quanto ao lado de retirada, foram estudados os tendões de 23 joelhos direitos (63,9%) e 13 esquerdos (36,1%). Os pacientes eram oriundos do Grupo de Joelho da Escola Paulista de Medicina-EPM da Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP e do consultório particular, operados entre agosto de 2001 e janeiro de 2003. Os critérios de inclusão foram: pacientes com tendões sem indícios de doenças degenerativas e material suficiente para análise (pelo menos 2cm de comprimento). Foram excluídos os tendões dos músculos semitendíneo e grácil regenerados, em joelhos já submetidos à reconstrução do LCA e os resultados dos casos que apresentaram problemas de processamento e coloração (artefatos).

Quanto aos critérios de exclusão, eliminamos três resultados de avaliação da celularidade, da vascularização, dos microseqüestros ósseos e do processo in-

flamatório, sendo uma amostra do tendão do músculo semitendíneo do grupo do sexo feminino e uma do masculino e uma amostra do tendão do músculo grácil do grupo feminino por problemas de processamento ou “artefatos” (tabelas 1, 2, 3 e 4). Eliminou-se, também, mais um resultado da avaliação da presença de microseqüestros ósseos em amostra de tendão do músculo semitendíneo do grupo feminino por perda de lâmina (tabela 2). Eliminaram-se, devido a “artefa-

TABELA 1
Celularidade dos tendões dos músculos semitendíneo e grácil segundo o sexo. Comparação entre os diferentes tendões de um mesmo indivíduo pelo teste *t* pareado e entre os mesmos tendões de sexos diferentes pelo teste *t* de Student ($\alpha = 0,05$)

	Celularidade			
	Semitendíneo		Grácil	
	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino
Média	143,5	161,7	132,7	144,7
Desvio-padrão	27,6	45,5	29,9	26,6
Erro padrão da média	7,1	10,4	7,7	5,9
Valor máximo	224	255	206	182
Valor mínimo	119	107	86	87
Número de casos	15 (14)	19 (19)	15 (14)	20 (19)
<i>t</i> de Student	$t = 1,36 \quad p = 0,18$		$t = 1,25 \quad p = 0,22$	
<i>t</i> pareado	$(14 \text{ pares}) \quad t = 1,28 \quad p = 0,22$			
<i>t</i> pareado	$(19 \text{ pares}) \quad t = 2,32 \quad p = 0,03^*$			

TABELA 2
Microseqüestro ósseo (ausente e presente) nos tendões dos músculos semitendíneo e grácil segundo o sexo. Comparações pelo teste do qui-quadrado ($\alpha = 0,05$)

Microseqüestro ósseo	Semitendíneo		Grácil	
	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino
Ausente	6	13	7	15
Presente	9	5	8	5
Total	15	18	15	20
Qui-quadrado	$\chi^2 = 3,48 \quad p = 0,06$		$\chi^2 = 2,95 \quad p = 0,09$	
	$\chi^2 = 0,14 \quad p = 0,71$			
	$\chi^2 = 0,04 \quad p = 0,85$			

TABELA 3

Processo inflamatório (ausente e presente), nos tendões dos músculos semitendíneo e grácil segundo o sexo

Processo inflamatório	Semitendíneo		Grácil	
	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino
Ausente	15	19	15	20
Presente	0	0	0	0
Total	15	19	15	20

TABELA 4

Vascularização (normal e alterada) nos tendões dos músculos semitendíneo e grácil segundo o sexo

Vascularização	Semitendíneo		Grácil	
	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino
Normal	15	19	15	20
Alterada	0	0	0	0
Total	15	19	15	20

TABELA 5

Presença do receptor de estrógeno (ausente, presente focal e presente difuso), nos tendões dos músculos semitendíneo e grácil segundo o sexo. Comparação entre os resultados negativos e positivos (focal + difuso) pelo teste de qui-quadrado ($\alpha = 0,05$)

Receptor de estrógeno	Semitendíneo		Grácil	
	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino
Ausente	10	6	5	5
Presente focal	1	7	1	8
Presente difuso	0	2	1	3
Total	11	15	7	16

Qui-quadrado	$\chi^2 = 6,95$ p = 0,008*	$\chi^2 = 3,20$ p = 0,07
	$\chi^2 = 1,17$ p = 0,28	
	$\chi^2 = 0,26$ p = 0,61	

TABELA 6

Grau de alteração da estrutura medido pelo tricrômico de Masson (0, 1 e 2), nos tendões dos músculos semitendíneo e grácil segundo o sexo. Comparação pelo teste do qui-quadrado ($\alpha = 0,05$)

Alteração (tricrômico de Masson)	Semitendíneo		Grácil	
	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino
0	5	13	7	8
1	3	4	1	7
2	7	3	7	5
Total	15	20	15	20

Qui-quadrado	$\chi^2 = 3,44$ p = 0,06	$\chi^2 = 0,16$ p = 0,69
	$\chi^2 = 0,56$ p = 0,46	
	$\chi^2 = 2,51$ p = 0,11	

TABELA 7

Grau de degeneração medido pela alcianofilia (0, 1, 2 ou 3) nos tendões dos músculos semitendíneo e grácil segundo o sexo. Comparação pelo teste do qui-quadrado ($\alpha = 0,05$)

Grau de degeneração (alcianofilia)	Semitendíneo		Grácil	
	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino
0	6	7	4	4
1	5	7	2	10
2	2	4	9	3
3	1	1	0	2
Total	14	19	15	19

Qui-quadrado	$\chi^2 = 0,12$ p = 0,73	$\chi^2 = 0,15$ p = 0,70
	$\chi^2 = 0,84$ p = 0,36	
	$\chi^2 = 1,15$ p = 0,28	

ou a resultados não conclusivos nas lâminas preparadas pelo método imunoistoquímico, nove resultados do grupo masculino, sendo cinco do tendão do músculo semitendíneo e quatro do grácil, e 14 do feminino, sendo cinco do semitendíneo e nove do grácil (tabela 5). Nas lâminas coradas pelo método do tricrô-

mico de Masson para a avaliação de alterações da estrutura dos tendões, excluíram-se dois resultados do grupo feminino, um do tendão do semitendíneo e um do grácil (tabela 6). Das lâminas coradas pelo Alcian Blue, para avaliação do grau de degeneração dos tendões, eliminaram-se três casos do grupo feminino, dois do tendão do músculo semitendíneo e um do grácil, e dois do masculino, um do semitendíneo e um do grácil (tabela 7). Adotou-se como limite superior da idade de 46 anos, uma vez que nas mulheres, acima dessa idade e após a menopausa supõem-se que as alterações

hormonais poderiam interferir no estudo^(5,19). Como limite inferior selecionaram-se dados de pacientes com idade de 15 anos para sexo feminino⁽²⁰⁾ e de 19 anos para o masculino. Os grupos mostraram-se equivalentes quanto à idade, à cor e ao lado de retirada da amostra, reduzindo o “ruído experimental” e permitindo compará-los. No tocante à celularidade, optou-se por cinco campos aleatórios, com o objetivo de não se escolherem campos somente com alterações visíveis.

Obtenção e conservação das amostras

A via de acesso consistiu em incisão vertical na região ântero-medial da extremidade proximal da tibia, com 3 a 4cm. A inserção distal dos tendões flexores do joelho foi liberada e retirada com tenótomo apropriado. Os enxertos foram preparados em mesa especial, limpos e medidos separadamente, no tamanho padrão de 20cm de comprimento. Parte do material colhido dos tendões dos músculos semitendíneo e grácil, não utilizado durante o procedimento cirúrgico, com pelo menos 2cm de comprimento, foram inspecionados macroscopicamente, identificados, separadamente, por etiquetas e armazenados em frascos de vidro, numerados e preenchidos com solução de formol a 10%.

Análise do material

O material foi encaminhado ao Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital do Grajaú, da Faculdade de Medicina de Santo Amaro/SP, para a elaboração das lâminas. As amostras, após a inclusão em bloco de parafina, foram submetidas a cortes de 4 e 5µm e à análise anatomopatológica, histoquímica e imunoistoquímica. Em todas as avaliações, em todos os casos havia uma lâmina para o tendão do músculo semitendíneo e outra para o do grácil. Todos os casos foram identificados com números, nos quais a patologista desconhecia o sexo do paciente. Após análise completa do material, esses números foram revelados.

Metodologia histológica

As amostras foram coradas pela hematoxilina-eosina (HE) e as lâminas foram analisadas em microscopia óptica com aumento de 400 vezes. A estrutura dos ten-

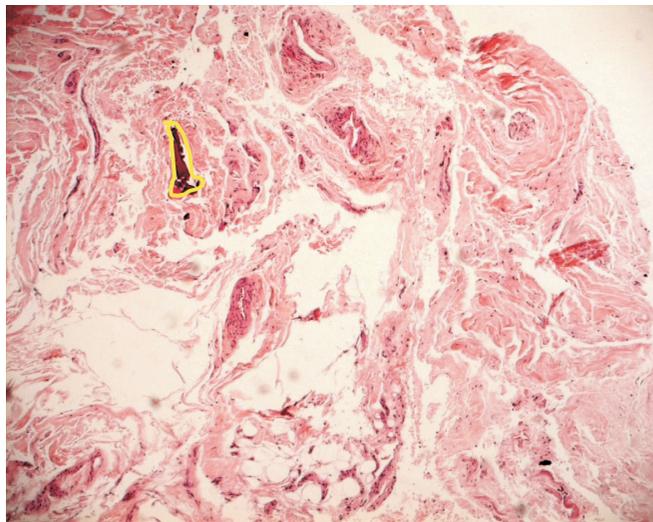


Figura 1 – Microscopia óptica de amostra de tendão do músculo grácil (feminino). Detalhe da presença de microsequeüstro ósseo (HE, 50x).

dões foi avaliada quanto à celularidade, à presença ou ausência de processo inflamatório, à vascularização e à existência de microsequeüstros ósseos (figura 1). O processo inflamatório foi classificado em presente ou ausente. A vascularização foi analisada pela classificação apresentada no trabalho de Kartus *et al*⁽²¹⁾ em: grau 0: vasos paralelos às fibras colágenas; grau 1: leve aumento dos vasos; grau 2: moderado aumento dos vasos; e grau 3: acentuado aumento dos vasos.

Para a análise estatística considerou-se o grau 0 como normal e os demais foram agrupados, como alterados. Os microsequeüstros ósseos foram avaliados em presentes ou ausentes. Quanto à celularidade, foi analisada pela classificação descrita nos trabalhos de Kartus *et al*⁽²¹⁾ em: grau 0: até 99 células/cinco campos; grau 1: 100 a 199 células/cinco campos; grau 2: 200 a 299 células/cinco campos; e grau 3: mais de 300 células/cinco campos.

Nesse parâmetro, escolhemos cinco campos aleatórios para a sua contagem e utilizou-se a contagem total (parâmetro contínuo) para a realização da análise estatística.

A avaliação por microscopia óptica foi realizada no Serviço de Anatomia Patológica do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

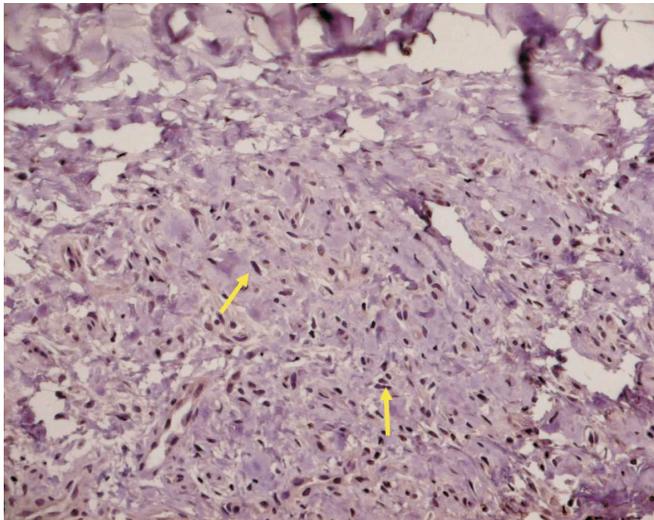


Figura 2 – Microscopia óptica de tendão de músculo grácil (feminino) pelo método imunohistoquímico (microfotografia). No detalhe (setas), os receptores de estrógeno classificados como positivo difuso (200x).

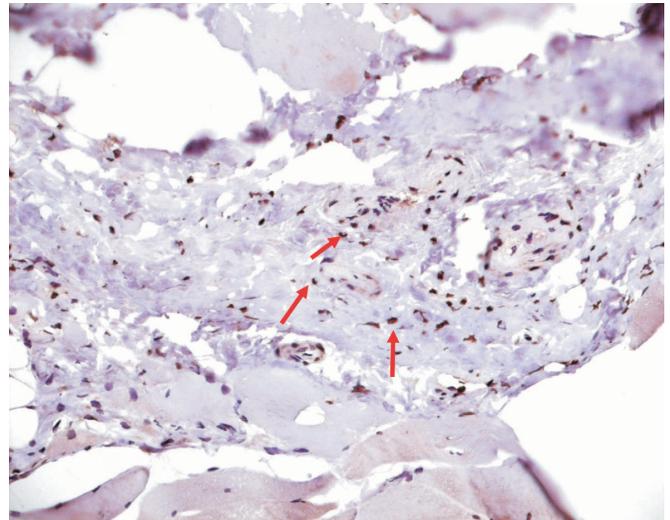


Figura 3 – Microscopia óptica de tendão de músculo grácil (masculino) pelo método imunohistoquímico (microfotografia). No detalhe (setas), os receptores de estrógeno classificados como positivo focal (200x).

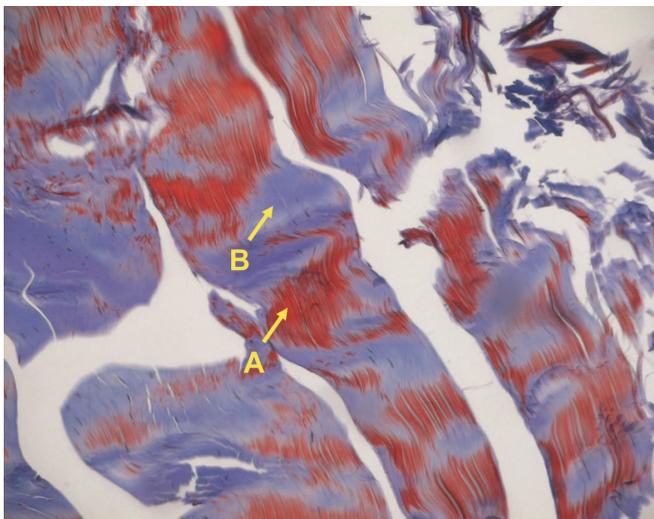


Figura 4 – Microscopia óptica nos detalhes (setas): **A)** tecido normal e **B)** presença de fibrose (tricroômico de Masson – 100x).

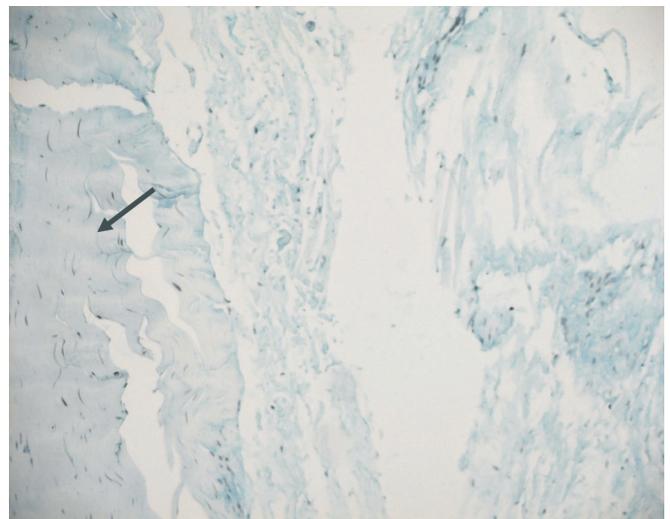


Figura 5 – Microscopia óptica de tendão de músculo grácil (feminino). No detalhe (seta), alteração no conteúdo de glicosaminoglicanos (alteração de alcianofilia) (*Alcian Blue* – 50x).

Metodologia imunohistoquímica

A presença dos receptores de estrógeno foi avaliada pelo método imunohistoquímico (figuras 2 e 3).

Os cortes histológicos de 4 μ m em lâminas tratadas pelo 3-aminopropyltriethoxi-silane (*Sigma*[®]) foram preparados seguindo as etapas técnicas do Laboratório de Imunohistoquímica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

(bloqueio de peroxidase endógena, fervura em tampão citrato na panela de pressão por três minutos e meio, lavagem, incubação com anticorpo primário, incubação com anticorpo secundário, revelação, contra-coloração, diferenciação e montagem), utilizando-se como anticorpo primário o receptor de estrógeno (*Dako*[®] m7047 clone 1DS) e como anticorpo secundário o

kit LSAB plus (Dako® K690); a contracoloração foi feita com a hematoxilina de Harris. Lâminas com espécies referentes a controles positivos (tecido mamário) foram submetidas ao mesmo procedimento técnico simultaneamente nas reações realizadas. As amostras foram classificadas em negativo, positivo focal e positivo difusa.

Metodologia histoquímica

Foram realizadas: técnicas histoquímicas de tricrômico de Masson para análise das fibras colágenas quanto à arquitetura estrutural (figura 4) e de *Alcian Blue* para a análise da alcianofilia (figura 5).

A arquitetura das fibras colágenas foi classificada em: grau 0 – normal; grau 1 – desorientação das fibras; e grau 2 – cicatrização com fibrose regular.

A análise da alcianofilia foi feita pela classificação apresentada por Kartus *et al*⁽²¹⁾ em: grau 0 – negativa; grau 1 – leve; grau 2 – moderada; e grau 3 – acentuada.

A avaliação por microscopia óptica foi realizada no Serviço de Anatomia Patológica do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Análise estatística

Nas comparações das frequências das classes entre os grupos (amostras) utilizou-se o teste do qui-quadrado (χ^2) para tabelas de contingência e, na sua impossibilidade, o teste exato de Fisher. Nas comparações entre os grupos, para inferência das médias, utilizou-se o teste *U* de Mann-Whitney com transformação *z* para amostras não paramétricas e não relacionadas (tabela 1), o teste *t* de Student para amostras paramétricas e não relacionadas e o teste *t* pareado para as paramétricas relacionadas (tabela 4). Adotou-se o nível de confiança de 5% ($\alpha = 0,05$). Nas comparações, utilizaram-se testes bilaterais e as diferenças comprovadas estatisticamente foram evidenciadas por asteriscos (*) nas tabelas. Utilizaram-se os programas estatísticos *StatSoft, Inc.*® (2001) *Statistica (Data analysis software system)*, versão 6.0 e *GraphPad Software, Inc.*® (1996) *Graphpad Prism*, versão 2.01.

RESULTADOS

Após análise estatística, observou-se que os grupos feminino e masculino demonstram equivalência (grupos comparáveis), em relação à idade (em anos), à cor e ao lado de retirada.

Por meio do estudo histológico, verificou-se maior celularidade nos tendões do músculo semitendíneo em relação aos tendões do músculo grácil (sexo masculino – $p = 0,03$ e sexo feminino – $p = 0,22$) (tabela 1), e tendência de maior presença de calcificações nos tendões dos músculos semitendíneo e grácil das mulheres ($p = 0,06$ e $p = 0,09$) (tabela 2). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os sexos, quanto à existência de processo inflamatório e à vascularização (tabelas 3 e 4).

Pela análise imunoistoquímica, verificou-se que os pacientes do sexo masculino possuem maior quantidade de receptores de estrógeno nos tendões dos músculos semitendíneo e grácil (tabela 5).

A análise histoquímica, com o auxílio do tricrômico de Masson, demonstrou tendência a maior alteração estrutural da fibras colágenas dos tendões do músculo semitendíneo ($p = 0,06$) (tabela 6). Não se encontraram diferenças entre os sexos na degeneração medida pela alcianofilia (tabela 7).

DISCUSSÃO

Em alguns casos, pós-reconstrução do LCA, com os tendões do grácil e do semitendíneo, particularmente no sexo feminino, foi observada frouxidão ligamentar na avaliação tardia, sem explicação, frouxidão não percebida no pós-operatório imediato e mesmo sem sintomatologia de instabilidade, demonstrando tratar-se de frouxidão progressiva⁽²²⁻²³⁾. Diante desse quadro, procurou-se comparar entre os sexos as características histológicas, histoquímicas e imunoistoquímicas dos tendões dos músculos semitendíneo e grácil utilizados em operações para a reconstrução do ligamento cruzado anterior em pacientes portadores da síndrome da instabilidade anterior do joelho e, paralelamente, detectar alterações que pudessem explicar os resultados adversos nas mulheres.

Kartus *et al*, ao avaliarem a utilização do ligamento patelar, como auto-enxerto na reconstrução do liga-

mento cruzado anterior, comparando após dois anos, com um grupo controle, observam aumento da celularidade na porção central e na periferia do tendão, chegando à conclusão de que, até dois anos, o ligamento patelar não deve ser utilizado como auto-enxerto para uma futura revisão do ligamento cruzado anterior⁽²¹⁾. Acreditava-se que o aumento da celularidade encontrada no tendão do músculo semitendíneo em ambos os sexos pode sugerir um tendão mais suscetível à lesão⁽²¹⁾. Quanto à celularidade, encontrou-se aumento do número de células no tendão do músculo semitendíneo em ambos os sexos quando comparados com o tendão do músculo grácil (tabela 1). Encontramos resultados estatisticamente significantes ($p = 0,03^*$) nos homens ao compararmos os tendões do músculo semitendíneo com o grácil. Esse achado, de forma isolada, não representa nenhum dano da estrutura tendinosa no sexo masculino. Quando avaliamos, macroscopicamente, os tendões dos músculos semitendíneo e grácil, o tendão do m. semitendíneo mostrou-se mais volumoso e resistente, reforçado pelo fato de que, nos primeiros relatos da reconstrução do ligamento cruzado anterior, ele era usado de forma isolada.

Pesquisando a presença ou não de calcificações, encontramos resultados expressivos (tabela 2). Houve diferença da presença de microseqüestros ósseos ao compararem-se os sexos. Os mesmos existiram em maior quantidade nos tendões flexores das mulheres, tanto nos músculos semitendíneo como no grácil ($p = 0,06$ e $p = 0,09$, respectivamente). Apesar de não haver comprovação estatística, foi um achado importante que pode explicar resultados insatisfatórios no sexo feminino. É provável que tal diferença seja comprovada aumentando-se o tamanho da amostra.

A presença dos microseqüestros ósseos sugere um tendão de menor resistência, com um grau de degeneração que pode comprometer a estabilidade ligamentar^(*).

Avaliou-se o processo inflamatório com o intuito de encontrar possíveis alterações estruturais dos tendões

que pudessem enfraquecê-lo, como está descrito na literatura⁽²⁴⁻²⁶⁾.

Quanto à vascularização, adotamos como parâmetro a classificação apresentada no trabalho de Kartus *et al*, usada na avaliação da reutilização do ligamento patelar como enxerto⁽²¹⁾. O aumento da vascularização é muito enfatizado em trabalhos que discutem a possível reutilização do ligamento patelar como auto-enxerto para revisão do LCA. Da mesma forma, existe a hipótese da correlação entre a fisiopatologia de processo degenerativo e ruptura tendinosa com a diminuição da vascularização dos tendões⁽²⁷⁾.

Não se encontraram diferenças entre o processo inflamatório e vascularização entre os sexos. Todos os casos foram negativos em relação ao processo inflamatório e grau zero para o parâmetro vascularização.

Neste estudo, surpreendentemente, ao analisarem-se os receptores de estrógeno, não se encontraram alterações nas mulheres, contrariando a literatura consultada^(19,28). A presença dos receptores de estrógeno avaliados por método imunoistoquímico surpreendeu-nos, pois encontraram-se mais alterações no sexo masculino. Entretanto, a presença em maior quantidade de receptores do estrógeno nos homens tanto no tendão do m. semitendíneo quanto no m. grácil ($p = 0,008$) se dá de forma difusa, o que parece não prejudicar a qualidade do tendão. A influência dos receptores de estrógeno no ligamento cruzado anterior de animais de laboratório é controversa^(19,28).

Em relação à avaliação histoquímica, optou-se pela análise pelo método do tricrômico de Masson, que tem como objetivo visualizar a estrutura do tendão quanto à sua arquitetura, além do método de *Alcian Blue* na constatação da presença da alcianofilia, que demonstra a degeneração mixóide no interstício do tendão, tornando-o mais frágil com o processo degenerativo. Em relação à análise do tricrômico de Masson, observou-se maior evidência das alterações das fibras colágenas no sexo feminino. Esse desarranjo observado nas fibras colágenas nas mulheres, associado a outros parâmetros, pode alterar a qualidade dos tendões dos músculos semitendíneo e grácil que serão utilizados como auto-enxerto para reconstrução do ligamento cruzado anterior. Apesar de não se acharem valores esta-

(*) Comunicação pessoal da Dra. René Zon Felippe, do Serviço de Anatomia Patológica do IOT-HC-FMUSP.

tísticos significantes ($p = 0,06$ e $p = 0,69$) em relação a esse parâmetro, há tendência em relatar que no sexo feminino os tendões semitendíneo são mais degenerados. Quanto à presença da alcianofilia, não se encontraram alterações ($p = 0,73$ e $p = 0,70$) em relação aos sexos.

Ao finalizar o estudo, entretanto, identificamos algumas limitações relacionadas, principalmente, com o número de pacientes analisados. Com uma amostra maior, possivelmente, os resultados estatísticos seriam mais significativos.

Salienta-se que os tendões dos músculos semitendíneo e grácil são uma opção satisfatória na cirurgia de reconstrução do ligamento cruzado anterior e que se devem identificar possíveis alterações, como a frouxidão ligamentar generalizada, examinando-se o joelho contralateral em relação à estabilidade ligamentar e, ao constatarem-se tais alterações, utilizar outra opção de auto-enxerto, como o ligamento patelar.

A relevância clínica está na constatação de que na reconstrução do LCA os piores resultados ocorrem nas mulheres quando são usados como enxerto de tendões flexores.

Em relação a perspectivas futuras, dever-se-á rever a prática médica e continuar a pesquisa de detecção de outros fatores que possam alterar os resultados cirúrgicos, como a propriocepção, a densidade óssea, os estudos biomecânicos para avaliação da resistência e do coeficiente de rigidez dos tendões dos músculos semitendíneo e grácil entre os sexos e os estudos clínicos de longo seguimento.

CONCLUSÕES

Houve diferença imunoistoquímica nos tendões do músculo semitendíneo entre os sexos e diferença morfológica entre os tendões dos músculos semitendíneo e grácil no sexo masculino. Não encontramos nenhuma diferença histoquímica entre os sexos.

REFERÊNCIAS

1. Arendt E, Dick R. Knee injury patterns among men and women in collegiate basketball and soccer. NCAA data and review of literature. *Am J Sports Med.* 1995;23(6):694-701.
2. Griffin LY, Agel J, Albohm MJ, Arendt EA, Dick RW, Garrett WE, et al. Noncontact anterior cruciate ligament injuries: risk factors and prevention strategies. *J Am Acad Orthop Surg.* 2000;8(3):141-50.
3. Gwinn DE, Wilckens JH, McDevitt ER, Ross G, Kao TC. The relative incidence of anterior cruciate ligament injury in men and women at the United States Naval Academy. *Am J Sports Med.* 2000;28(1):98-102.
4. Souryal TO, Freeman TR. Intercondylar notch size and anterior cruciate ligament injuries in athletes. A prospective study. *Am J Sports Med.* 1993;21(4):535-9. Erratum in: *Am J Sports Med.* 1993;21(5):723.
5. Wojtys EM, Huston LJ, Lindenfeld TN, Hewett TE, Greenfield ML. Association between the menstrual cycle and anterior cruciate ligament injuries in female athletes. *Am J Sports Med.* 1998;26(5):614-9. Erratum in: *Am J Sports Med.* 2000;28(5):747.
6. Rozzi SL, Lephart SM, Gear WS, Fu FH. Knee joint laxity and neuromuscular characteristics of male and female soccer and basketball players. *Am J Sports Med.* 1999;27(3):312-9.
7. White KK, Lee SS, Cutuk A, Hargens AR, Pedowitz RA. EMG power spectra of intercollegiate athletes and anterior cruciate ligament injury risk in females. *Med Sci Sports Exerc.* 2003;35(3):371-6.
8. Sachs RA, Daniel DM, Stone ML, Garfein RF. Patellofemoral problems after anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med.* 1989;17(6):760-5.
9. Rosenberg TD, Franklin JL, Baldwin GN, Nelson KA. Extensor mechanism function after patellar tendon graft harvest for anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med.* 1992;20(5):519-25; discussion 525-6.
10. Camanho GL, Andrade MH. Estudo comparativo da reabilitação dos pacientes submetidos à reconstrução do ligamento cruzado anterior com enxertos do terço médio do tendão patelar e com os dos tendões dos músculos flexores mediais do joelho. *Rev Bras Ortop.* 1999;34(9/10):513-8.
11. Yunes M, Richmond JC, Engels EA, Pinczewski LA. Patellar versus hamstring tendons in anterior cruciate ligament reconstruction: A meta-analysis. *Arthroscopy.* 2001;17(3):248-57.
12. Aune AK, Holm I, Risberg MA, Jensen HK, Steen H. Four-strand hamstring tendon autograft compared with patellar tendon-bone autograft for anterior cruciate ligament reconstruction. A randomized study with two-year follow-up. *Am J Sports Med.* 2001;29(6):722-8.
13. Ejerhed L, Kartus J, Sernert N, Köhler K, Karlsson J. Patellar tendon or semitendinosus tendon autografts for anterior cruciate ligament reconstruction? A prospective randomized study with a two-year follow-up. *Am J Sports Med.* 2003;31(1):19-25.
14. Jansson KA, Linko E, Sandelin J, Harilainen A. A prospective randomized study of patellar versus hamstring tendon autografts for anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med.* 2003;31(1):12-8.

15. Svensson M, Sernert N, Ejerhed L, Karlsson J, Kartus JT. A prospective comparison of bone-patellar tendon-bone and hamstring grafts for anterior cruciate ligament reconstruction in female patients. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2006; 14(3):278-86.
16. West RV, Harner CD. Graft selection in anterior cruciate ligament reconstruction. *J Am Acad Orthop Surg.* 2005;13(3): 197-207. Review.
17. Huston LJ, Wojtys EM. Neuromuscular performance characteristics in elite female athletes. *Am J Sports Med.* 1996; 24(4):427-36.
18. Arnold C, Van Bell C, Rogers V, Cooney T. The relationship between serum relaxin and knee joint laxity in female athletes. *Orthopedics.* 2002;25(6):669-73.
19. Liu SH, Al-Shaikh RA, Panossian V, Finerman GA, Lane JM. Estrogen affects the cellular metabolism of the anterior cruciate ligament. A potential explanation for female athletic injury. *Am J Sports Med.* 1997;25(5):704-9.
20. Hofmeister EP, Gillingham BL, Bathgate MB, Mills WJ. Results of anterior cruciate ligament reconstruction in the adolescent female. *J Pediatr Orthop.* 2001;21(3):302-6.
21. Kartus J, Movin T, Papadogiannakis N, Christensen LR, Lindahl S, Karlsson J. A radiographic and histologic evaluation of the patellar tendon after harvesting its central third. *Am J Sports Med.* 2000;28(2):218-26.
22. Noojin FK, Barrett GR, Hartzog CW, Nash CR. Clinical comparison of intraarticular anterior cruciate ligament reconstruction using autogenous semitendinosus and gracilis tendons in men versus women. *Am J Sports Med.* 2000;28(6): 783-9.
23. Salmon LJ, Refshauge KM, Russell VJ, Roe JP, Linklater J, Pinczewski LA. Gender differences in outcome after anterior cruciate ligament reconstruction with hamstring tendon autograft. *Am J Sports Med.* 2006;34(4):621-9.
24. Liu SH, Yang RS, al-Shaikh R, Lane JM. Collagen in tendon, ligament, and bone healing. A current review. *Clin Orthop Relat Res.* 1995;(318):265-78.
25. Goradia VK, Rochat MC, Kida M, Grana WA. Natural history of a hamstring tendon autograft used for anterior cruciate ligament reconstruction in a sheep model. *Am J Sports Med.* 2000;28(1):40-6.
26. Movin T. Tendon tissue sampling. *Scand J Med Sci Sports.* 2000;10(6):368-71.
27. Rothman RH, Rubin ML. Tendon calcification and vascularity. *Surg Gynecol Obstet.* 1967;125(3):577-80.
28. Warden SJ, Saxon LK, Castillo AB, Turner CH. Knee ligament mechanical properties are not influenced by estrogen or its receptors. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290(5): E1034-40.

Declaração de inexistência de conflitos de interesse: Declaramos para os devidos fins que não há qualquer conflito de interesse que impeça a publicação deste artigo.
