Paulo Henrique de Matos Alves

**Caracterização morfológica da cartilagem do processo articular de
vértebras cervicais e lombares de humanos jovens e idosos**

São Paulo

2015

PAULO HENRIQUE DE MATOS ALVES

Caracterização morfológica da cartilagem do processo articular de vértebras cervicais e lombares de humanos jovens e idosos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Prof. Dr. Edson Aparecido Liberti

De acordo: _____

Orientador

São Paulo
2015

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.3091
FMVZ

Alves, Paulo Henrique de Matos
Caracterização morfológica da cartilagem do processo articular de vértebras cervicais
e lombares de humanos jovens e idosos / Paulo Henrique de Matos Alves. -- 2015.
74 f. :il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2015.

Programa de Pós-Graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.
Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Prof. Dr. Edson Aparecido. Liberti.

1. Face articular vertebral. 2. Envelhecimento. 3. Alteração morfológica.
4. Assintomático para dorsalgia. I. Título.

São Paulo, 23 de janeiro de 2015

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Caracterização morfológica da cartilagem do processo articular de vértebras humanas dos segmentos cervical e lombar em jovens e idosos", protocolado sob o CEUA nº 9919031214, sob a responsabilidade de Edson Aparecido Liberti, foi aprovado na reunião de 17/12/2014, e está de acordo com os princípios éticos da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

We certify that the Research "Morphological characterization of cervical and lumbar facet joint in young and elderly", protocol number CEUA 9919031214, under the responsibility Edson Aparecido Liberti, was approved in the meeting of day 12/17/2014, and agree with Ethical Principles adopted by Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo.

We certify that the Research "Morphological characterization of cervical and lumbar facet joint in young and elderly", protocol number CEUA 9919031214, under the responsibility Edson Aparecido Liberti, was approved in the meeting of day 12/17/2014, and agree with Ethical Principles adopted by Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - cep. 05508-900 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (11) 3091.7733 telefax : (55) (11) 3091-8405
e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 17 de maio de 2013.

PARECER 1114/CEP

A Comissão de *Ética em Pesquisas em Seres Humanos* do ICB, na sessão realizada no dia 08.05.013, **APROVOU** o projeto intitulado: "*Caracterização morfológica da cartilagem do processo articular de vértebras humanas dos seguimentos cervical lombar em jovens e idoso*" do pesquisador EDSON APARECIDO LIBERTI e aluno PAULO HENRIQUE DE MATOS ALVES.

Cabe aos Pesquisadores executantes elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou final), de acordo com a resolução 196/06 do Conselho Nacional da Saúde, item IX. 2 letra c. conforme modelo constante no *site.icb.usp.br*.

Ao pesquisador cabe também finalizar o processo junto à Plataforma Brasil quando do encerramento deste.

O primeiro relatório deverá ser encaminhado à Secretaria deste CEP em **08.05.2014**.

Atenciosamente,

Prof. Dra. PAOLO M.A. ZANOTTO
Coordenador da Comissão de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: ALVES, Paulo Henrique de Matos

Titulo: Caracterização morfológica da cartilagem do processo articular de vértebras cervicais e lombares de humanos jovens e idosos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

*O homem que trabalha somente pelo que recebe, não merece
ser pago pelo que faz.*

Abraham Lincoln.

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por me permitir chegar até aqui e me dar forças para seguir em frente. Aos meus pais, Clêidina Maria de Matos e Cotegipe Alves Filho, pelo amor e pela criação que me deram. Devo a vocês o que tenho e o que sou. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Sílvia de Campos Boldrini (*In memorian*), que para mim é sinônimo de doçura, compreensão e sabedoria. Busco sempre a serenidade e paz de espírito que emanava de sua pessoa.

Ao "Mestre", *Prof. Dr. Edson Aparecido Liberti*, por todos os ensinamentos, não só técnicos científicos, mas principalmente os de formação de caráter. É sem dúvida um dos maiores exemplos que tenho de franqueza e retidão.

Ao Prof. Dr. Zenon Silva e à Profa. Dra Roseâmely, obrigado pelo incentivo quanto à anatomia. Vocês jamais serão esquecidos.

Aos meus amores *Regina de Sousa Bolina Matos*, e *Samuel Bolina Matos*, por todo o carinho que recebo e toda a felicidade que vocês me proporcionam. A cada dia que passa tenho mais motivos para agradecer a Deus por este tesouro. Minha família, minha vida!

As minhas irmãs *Kerle e Zélia* e aos meus sobrinhos *Luis Filipe, Miguel, Letícia, Yasmim, Giovanna e Tayná*, fonte de inspiração nos momentos difíceis.

À todos da minha querida "Família Matos", que mesmo distante torceram por mim e me deram força. Vocês estão sempre no meu coração.

À "Família Bolina", de quem recebo tanto carinho, em especial ao Senhor Euclides e à Senhora Paulina. Encontro sempre em vocês o mesmo carinho e segurança que tenho com meus pais e sei que assim posso considerá-los.

Aos amigos, cunhados, "irmãos", Adriano Ciena e Cristina Bolina, pelas inúmeras situações que passamos juntos nestes últimos anos. Sou muito grato por tudo que vocês fizeram e fazem por mim!

AGRADECIMENTOS

À *Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, pela oportunidade de desenvolvimento científico.

À Professora Doutora *Maria Angélica Miglino* e ao *Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Universidade de São Paulo*.

Aos amigos *Sebastião Boleta, Sônia Regina Yokomizo, Kelly Patrícia e Marta Maria Righetti*, pelos auxílios técnicos laboratoriais, pela amizade e pelos momentos descontraídos que fizeram os dias de trabalho menos árduo.

À *Rosana Duarte Prisco*, pela atenção nos atendimentos das análises estatísticas, pela conversa agradável e pela amizade resultante deste processo.

À *Dra. Rose Eli*, pelas incontáveis ajudas na microscopia eletrônica e também pela amizade e carinho.

Aos companheiros do Laboratório de Anatomia Funcional Aplicada à Clínica e a Cirurgia - LAFACC, Vem que é Mole - VQM. *Aline Gonçalves, Aline Marosti, Any Kelly Lima, Bruna Cecília Caixeta, Catarina Tivane, Cibele Maciel, Diana Alves, Eduardo Beber, Eduardo Seyfert, Flávia de Oliveira, Flávio Tampelini, Ivone Benigno, Jodonai Barbosa, Joice Bertaglia, Josemberg Baptista, Josy Cal, Karina Do Valle, Liliana Ribeiro, Lucilene Ferreira, Marcelo Cavalli, Ricardo Bandeira, Ricardo Eustáquio, Ricardo Fontes, Lígia Mendonça Sabrina Caixeta, Thelma Parada, Thiago Habacuque, Valquíria Mariotti, Willian Mayer.*

À *todos os amigos e colegas de pós-graduação* que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta tese. Muito obrigado.

RESUMO

ALVES, P. H. M. **Caracterização morfológica da cartilagem do processo articular de vértebras cervicais e lombares de humanos jovens e idosos.**

[Cartilage morphology of the articular process of cervical and lumbar vertebrae in young people and in the elderly]. 2015. 74 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

A lombalgia e a cervicalgia possui grande incidência em toda a população mundial. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em média, cerca de 80% da população adulta apresenta, em algum momento da vida, pelo menos uma queixa de dor na coluna, onde a degeneração da articulação do processo articular é frequentemente apontada como a etiologia. Diversos estudos vêm sendo realizados, na tentativa de se compreender como ocorre o processo degenerativo patológico dessas articulações, onde, frequentemente são usados indivíduos sintomáticos. Deste modo, avaliou-se, com o uso de técnicas macroscópicas, de microscopia de luz e de microscopia eletrônica, a organização estrutural da cartilagem dos processos articulares (CPas) das vértebras cervicais (C) e lombares (L) de indivíduos jovens (GJ) e idosos (GI), presumivelmente assintomáticos. Foram utilizados blocos vertebrais obtidos de cadáveres necropsiados no Serviço de Verificação de Óbitos da Capital do Estado de São Paulo, onde familiares de todos os indivíduos forneceram informações que permitiram incluir ou excluí-los da pesquisa. Os resultados mostram que ocorrem alterações na superfície da CPa do segmento L no GJ. A degeneração da CPa ocorre de forma heterogênea entre os indivíduos do GI e as características do grau 2 podem ser admitidas como decorrentes do processo de envelhecimento normal, não havendo diferenças entre os segmentos C e L.

Palavras-chave: Face articular vertebral. Envelhecimento. Alteração morfológica. Assintomático para dorsalgia.

ABSTRACT

ALVES, P. H. M. **Cartilage morphology of the articular process of cervical and lumbar vertebrae in young people and in the elderly.** [Caracterização morfológica da cartilagem do processo articular de vértebras cervicais e lombares de humanos jovens e idosos]. 2015. 74 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Back pain and neck pain have a high occurrence in populations worldwide. According to the World Health Organization (WHO), approximately 80% of adults have at some instance in life pain in the spine with an etiology frequently indicated to be the degeneration of the articular process. Several studies have been undertaken to understand how the pathological degenerative process occurs and symptomatic subjects are frequently used for this end. Macroscopic and light and electron microscopy techniques have been employed to assess the structural organization of the cartilage of the articulation processes (CAP) of the cervical (C) and lumbar (L) vertebrae of presumably asymptomatic young (Y) and elderly (E) people. Samples, retrieved from routinely necropsied corpses by the Death Verification Service of the Capital City of the State of São Paulo (SVOC/SP) and the family of all individuals provided information that enabled include or exclude them from search. Results show that changes in the CAP surface of segment L of Y occur. CAP degradation occurs heterogeneously among elderly people, whereas second degree characteristics are caused by normal aging without any difference between the C and L segments.

Keywords: Facet joint. Aging. Morphological changes. Asymptomatic backache.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Obtenção dos espécimes.....	32
Figura 2 - Classificação do grau de degeneração das CPas do segmento Cervical, nos indivíduos dos grupos Jovem (GJ) e Idoso (GI). (X - grau onde não se observou CPa de GJ e de GI)	35
Figura 3 - Classificação do grau de degeneração das CPas do segmento lombar, nos indivíduos dos grupos Jovem (GJ) e Idoso (GI). (X - grau onde não se observou CPa de GJ e de GI)	36
Figura 4 - Representação da obtenção dos cortes histológicos	37
Figura 5 - Exemplo de mensuração da espCPa	39
Figura 6 - Representação da obtenção dos campos de contagem de cond/A	40
Figura 7 - Representação de um campo de contagem de cond/A	41
Figura 8 - Disposição típica das fibras colágenas na cartilagem articular	47
Figura 9 - Fibras colágenas na constituição da CPa de GJ (A,B) e de GI (C,D).	48
Figura 10 - Reação da safranina-O na MEC da CPa de GJ (A,C) e de GI (B,D)	49
Figura 11 - Micrografias eletrônicas de varredura das características gerais das CPas das regiões cervical e lombar de indivíduos de GJ (A, B) e GI (C, D)	50
Figura 12 - Micrografias eletrônicas de varredura das características gerais das CPas da região cervical de indivíduos de GJ (A, C) e GI (B, D), classificados como grau 2	51
Figura 13 - Micrografias eletrônicas de varredura das características gerais das CPas da região lombar de indivíduos de GJ (A, C) e GI (B, D), classificados como grau 2	52
Figura 14 - Micrografia eletrônica de transmissão na CPa de GJ (A,C) e de GI (B,D), classificadas como grau 2	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Dados antropométricos dos indivíduos constituintes dos grupos Jovem (GJ) e idoso (GI)	33
Tabela 2- Classificação do grau de degeneração	34
Tabela 3 - Média da espCPa	54
Tabela 4 - Média do cond/A	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA - *analysis of variance*

APA - articulação do processo articular

C - cervical

cm - centímetro

cond/A - número de condrócitos por área

CPa - cartilagem do processo articular

DA - departamento de anatomia

DAD - doença articular degenerativa

espCPa - espessura da cartilagem do processo articular

FMVZ - faculdade de medicina veterinária e zootecnia

GI - grupo idoso

GJ - grupo jovem

ICB - instituto de ciências biomédicas

Kg - quilograma

L - lombar

MEC - matriz extracelular

MET - microscopia eletrônica de transmissão

MEV - microscopia eletrônica de varredura

OA - osteoartrite

RM - ressonância magnética

SVO - serviço de verificação de óbitos

TC - tomografia computadorizada

ZC - zona calcificada

ZI - zona intermediária

ZP - zona profunda

ZS - zona superficial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1	Breve considerações anatômicas e biomecânicas da coluna	21
2.2	Envelhecimento cartilágneo	23
2.3	Degeneração Facetária	24
3	OBJETIVOS	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	GRAU DE DEGENERAÇÃO.....	34
4.2	TÉCNICAS HISTOLÓGICAS.....	37
4.3	AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA.....	38
4.3.1	Espessura da CPa (espCPa)	38
4.3.2	Número de condrócitos por área (cond/A).....	40
4.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA.....	41
4.4.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	42
4.4.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	42
4.5	TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	43
5	RESULTADOS.....	45
5.1	RESULTADOS QUALITATIVOS	45
5.1.1	Grau de Degeneração	45
5.1.2	Fibras Colágenas	46
5.2	Matriz Extra Celular (MEC).....	49
5.2.1	Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV).....	50
5.2.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	53
5.3	RESULTADOS QUANTITATIVOS	54
5.3.1	Número de Condrócitos por Área (cond/A).....	54
5.3.2	Espessura da Cpa (espCPa)	54
6	DISCUSSÃO	56
7	CONCLUSÕES	63
	REFERÊNCIAS.....	64
	ANEXOS.....	73

INTRODUÇÃO

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DA CARTILAGEM DO PROCESSO ARTICULAR DE VÉRTEBRAS CERVICAIS E LOMBARES DE HUMANOS JOVENS E IDOSOS

1 INTRODUÇÃO

Em meados da década de 1970, estudos sobre as dores na coluna vertebral começaram a ser publicados com maior frequência (CHAFFIN; PARK, 1973; BENN; WOOD, 1975; BROWN, 1975), demonstrando a preocupação da comunidade científica com um problema que viria a se tornar, dez anos depois, uma das enfermidades mais comuns da sociedade (REULER, 1985). Atualmente, a dorsalgia tem se revelado como a causa de enormes prejuízos nos âmbitos social, psicológico e econômico. Estima-se que 15% a 20% dos adultos apresentem dores na coluna, no decorrer de um ano, e que 50% a 80% da população relatam pelo menos um episódio de dor lombar durante a sua vida.

Dentre as dorsalgias, a lombalgia e a cervicalgia são as mais frequentes e atingem todas as idades, desde adolescentes a idosos, tornando-se causa de incapacidade na população adulta. Segundo Rubin (2007) são vários os fatores de risco para o desenvolvimento desta dor, dentre eles, atributos físicos, situação socioeconômica, estado de saúde, fatores ocupacionais e estado psicológicos. Quando se analisa as pesquisas sobre dorsalgia, verifica-se na literatura grande variação da sua ocorrência em virtude dos vários fatores que influenciam os resultados, como por exemplo, populações específicas (crianças, adultos ou idosos), condição socioeconômica (países desenvolvidos ou em desenvolvimento), fatores ocupacionais e outros (LEINO, 1993; BOOS et al., 1995a; PUNNETT et al., 2005; RUBIN, 2007). Apesar dessa variabilidade de ocorrência, a dorsalgia toma lugar de destaque em proporção mundial. Em estudos epidemiológicos recentes, um grupo de pesquisadores Australianos calcularam a incidência global de lombalgias, utilizando o padrão de medidas "DALY" (*disability-adjusted life years*), que leva em consideração os anos de vida perdidos por incapacidade. Verificaram uma incidência de 9,4% para lombalgia, e 4,9% para cervicalgia, classificando-as em

primeiro e quarto lugar, respectivamente, entre as maiores causas de incapacidade global dentre quaisquer outros fatores incapacitantes (HOY et al., 2014a, b).

Como revisado por Fontes (2011), diversas estruturas anatômicas podem estar envolvidas na origem da cervicalgia ou lombalgia, tais como as vertebrais e paravertebrais (ligamentos e músculos), os discos intervertebrais, e a articulação do processo articular (**APA**) (BOGDUK; TYNAN; WILSON, 1981; SCHWARZER et al., 1994; FONTES, 2011; MANCHIKANTI et al., 2001)

A **APA**, comumente denominada na literatura de articulação "facetária" ou "zigoapofisária", tem sido indicada como fonte clinicamente relevante de dorsalgia em cerca de 15 a 45 % dos casos de dor lombar crônica (MANCHIKANTI et al., 2007; MANCHUKONDA et al., 2007). A manifestação dos sintomas, como dores e limitações de movimentos oriundos da APA é conhecida como síndrome facetária. e está, segundo Manchikanti et al., mais relacionada a pacientes submetidos à intervenções lombares, com prevalência de 8% a 32% (MANCHIKANTI et al., 2008), enquanto que aquelas não correlacionadas a traumas ou a procedimentos cirúrgicos são em média de 7% (WAGGERSHAUSER; SCHWARZKOPF; REISER, 2006). Entretanto a indicação da **APA** como etiologia de dor pode estar subestimada, uma vez que a literatura relata que a síndrome facetária tem sido negligenciada em pacientes com dor lombar crônica, pela manifestação de quadro clínico inespecífico, dificuldade de diagnóstico por exames convencional ou radiológicos, pequeno número de médicos que praticam exame funcional manual, e ainda, uma ampla falta de acesso ao diagnóstico por bloqueio anestésico (DREYER; DREYFUSS, 1996; GRGIC, 2011).

Apesar da dorsalgia não ser um problema de ocorrência exclusiva em indivíduos idosos (MANCHIKANTI et al., 2008), são raros os trabalhos que se dedicam ao estudo da **APA** em indivíduos jovens, o que dificulta as pesquisas sobre a possível ocorrência de processos de degeneração nessa parcela da população. Mesmo em indivíduos idosos, Sato et al. (2002), ao avaliarem a articulação do segmento lombar, afirmam não ser possível estabelecer se as alterações encontradas são devido a processos patológicos, ou relacionadas ao processo de envelhecimento normal.

Além disso, estudos morfológicos com o uso de material cadavérico humano não são frequentes e, quando ocorrem, apresentam grande variação na formação dos grupos experimentais. Entre as diferentes abordagens encontradas, estão o

baixo número de amostras (SATO et al., 2002); a avaliação de apenas um segmento da coluna (TANNO et al., 2003; YOGANANDAN et al., 2003); a avaliação apenas em indivíduos idosos (TISCHER et al., 2006) e espécimes oriundos de indivíduos acometidos por processos patológicos (BLEIL et al., 2014).

Pelo exposto, verifica-se que tanto os aspectos normais da estrutura da **APA**, bem como aqueles decorrentes do processo de envelhecimento normal ainda são assuntos a serem abordados sob o aspecto morfológico. Também se faz necessário uma comparação entre as diferentes regiões da coluna vertebral de indivíduos jovens e idosos, uma vez que a maioria dos trabalhos encontrados referem-se à apenas um segmento específico, ou cervical (FLETCHER; HAUGHTON, 1990; YOGANANDAN et al., 2003; KETTLER; WERNER; WILKE, 2007; PARK et al., 2014;) ou lombar (FUJIWARA et al., 2001; TANNO et al., 2003; TISCHER et al., 2006; WANG; YANG, 2009; VARLOTTA et al., 2011).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Breve considerações anatômicas e biomecânicas da coluna

As 33 vértebras da coluna vertebral humana estão divididas em vários segmentos, sendo 24 vértebras móveis nos segmentos pré-sacrais (7 cervicais, 12 torácicas e 5 lombares). Todas essas vértebras, exceto as duas primeiras vértebras cervicais, apresentam elementos em comum, sendo estes, o corpo e o arco. O corpo é a parte anterior volumosa da vértebra, do qual projeta-se na região posterior o arco. Do arco partem processos ósseos, que são: os processos transversos lateralmente; processo espinhoso posteriormente e processos articulares superiormente e inferiormente. Estes elementos têm características típicas de cada região, de acordo com a função que exercem, e alinham-se através de articulações específicas para formar a coluna vertebral.

Basicamente dois tipos de articulações existem entre as vértebras, sendo estas, cartilagíneas do tipo sínfises, através do disco intervertebral e sinoviais do tipo plana, através das **APAs** vertebrais. Esta última apresenta uma diferença sutil, em sua morfologia, de acordo com o segmento da coluna vertebral em que se apresenta. (GARDNER; GRAY; O'RAHILLY, 1986; ROSSE; GADDUM-ROSSE, 2006).

A **APA** da região lombar possui a face articular superior côncava e a inferior convexa, enquanto a região cervical possui ambas as faces planas. O posicionamento das faces articulares cervicais é paralelo ao plano sagital proporcionando maior flexão e extensão, já a **APA** da região cervical estão localizados diagonalmente entre os planos frontal e sagital, proporcionando um grau de liberdade maior entre flexão/extensão, rotação e inclinação lateral (LIPPERT, 1996).

Como articulação sinovial, a **APA** apresenta grande amplitude de movimento, sendo esta maior nos segmentos lombar e cervical. A maior movimentação, associada ao peso do corpo ou de cargas externas, gera consequentemente uma maior probabilidade de desgaste, o que explica a maior incidência de dores nessas regiões (TISCHER et al., 2006; MOORE; DALLEY, 2011). Esta maior mobilidade é devida, em partes, pela posição das **APAs** e pela cápsula articular mais frouxa,

principalmente no segmento cervical. A cápsula articular, que envolve a **APA**, tem em média 1mm de espessura chegando à 2mm em sua fixação no osso subcondral (YAHIA; GARZON, 1993). Além de oferecer proteção contra movimentos excessivos ela também fornece informações proprioceptivas (PICKAR, 2002). A inervação dessa articulação é proveniente da divisão medial do ramo posterior do nervo espinal de seu respectivo nível e do nível superior. Além da cápsula, o osso subcondral também recebe inervação, sendo estas as estruturas de possível fonte de dor na **APA**, uma vez que a cartilagem da superfície articular não possui sensibilidade (BOGDUK, 1983).

A cartilagem do processo articular (**CPa**) é um tecido conjuntivo desprovido de nervos, vasos sanguíneos e linfáticos. Ela está caracterizada morfológicamente por um pequeno número de condrócitos, os quais são responsáveis pela produção, organização e manutenção de uma abundante matriz extracelular (**MEC**). Suas propriedades biomecânicas garantem baixo atrito, resistência, suporte e distribuição de forças, porém, possui baixa capacidade regenerativa devido ao número limitado de células. Sua matriz extracelular é composta principalmente por água, colágeno e proteoglicanas, tendo as células uma representação de, aproximadamente, apenas 5% do peso úmido. A **CPa** está organizada estrutural e funcionalmente em 4 camadas, ditas como zonas: superficial (**ZS**), intermediária (**ZI**) (ou de transição), profunda (**ZP**), e calcificada (**ZC**) (WONG; CARTER, 2003).

A **ZS** proporciona uma superfície de deslizamento suave, compondo cerca de 10% a 20% da espessura total da cartilagem articular. Possui o maior teor de colágeno dentre as demais zonas e suas fibrilas são densamente arranjadas paralelamente à superfície articular. Em comparação com a **ZS**, a **ZI** tem uma concentração mais elevada de proteoglicanas, menor concentração de colágeno e menor concentração de água (BUCKWALTER; MANKIN, 1998a). Esta **ZI** é composta de condrócitos esféricos e fibras de colágeno orientadas como uma malha. Na **ZP**, as fibras de colágeno estão perpendiculares à superfície articular e os condrócitos se organizados em grupos isógenos. A **ZC**, mais profunda, possui poucas células e grandes quantidades de sais de cálcio, constituindo ponto de fusão ao osso subcondral (BUCKWALTER; MANKIN, 1998a).

2.2 Envelhecimento cartilagíneo

É consenso na literatura de que a cartilagem articular passa por um processo de desgaste natural com o envelhecimento, porém, não se tem ainda não se distingue claramente as características da degeneração patológica e aquelas decorrentes do envelhecimento normal (POOLE, 1997; MARTIN; BUCKWALTER, 2002; LOTZ; LOESER, 2013).

A diferenciação entre o normal e o patológico é prejudicada pela forte correlação existente entre o aumento da idade e da prevalência de doenças articulares, correlação esta que, segundo Buckwalter e Mankin (1998b), constitui uma importante evidência de que as mudanças estruturais e funcionais da cartilagem, decorrentes da senescência dos condrócitos, contribuem para o desenvolvimento e progressão de doenças como a osteoartrite (**OA**).

A osteoartrite, caracterizada por alterações morfofuncionais da articulação somadas à dor é a doença articular de maior frequência na população idosa e possui estreita associação com o processo de envelhecimento (BUCKWALTER; MARTIN; MANKIN, 2000; ZHANG; JORDAN, 2010).

Apesar da **OA** comprometer todos os elementos articulares (ODDIS, 1996; BUCKWALTER; MANKIN; GRODZINSKY, 2005;) afirmam que as primeiras mudanças observadas são a deterioração da cartilagem e o remodelamento ósseo com formação de osteófitos. Dentre as várias alterações que ocorrem na cartilagem articular, inicialmente observa-se o surgimento de fibrilações na **ZS** e a diminuição das proteoglicanas (POOLE, 1997; PANULA et al., 1998). Em fases mais avançadas da doença, as modificações se dão na orientação da rede de colágeno, formação de fissuras progressivas que vão desde a superfície articular até o osso subcondral e, ainda, a ação concomitante de enzimas degenerativas da **MEC**, causando diminuição da espessura da cartilagem (TEMPLE-WONG et al., 2009; LOTZ; LOESER, 2013)

Relativamente aos mecanismos responsáveis pela degradação progressiva da cartilagem articular, há ainda pontos que permanecem desconhecidos; entretanto, este processo pode ser explicado por três estágios: 1 - alteração na **MEC** cartilagínea, 2 - resposta dos condrócitos à mudança tecidual e 3 - diminuição da resposta sintética das células, em atividades que acontecem de maneira

sobrepostas umas às outras, culminando na perda gradual do tecido cartilagíneo (MANKIN et al., 1971; LIPPIELLO; HALL; MANKIN, 1977; BUCKWALTER; MANKIN; GRODZINSKY, 2005).

Outra característica da cartilagem articular durante o envelhecimento é a diminuição da densidade celular que, segundo Meachim e Collins (1962) e Stockwell (1967), ocorre independente de sua espessura, em qualquer uma das diversas articulações do corpo. Adicionalmente, Lotz e Loeser (2013) descrevem que a manutenção da cartilagem depende da presença de um número suficiente de células funcionalmente ativas, capazes de sintetizar quantidades apropriadas de componentes da **MEC**.

Apesar de toda a relação do envelhecimento com a **OA**, autores como Ferrucci et al. (2002) e Loeser (2009), sugerem que essa patologia não é consequência direta do envelhecimento articular, mas sim o resultado da dificuldade dos condrócitos em promover a homeostasia da cartilagem em situações de estresse. Corroborando com esta ideia Buckwalter e Mankin (1998b) afirmam que o uso moderado das articulações ao longo da vida não aumenta o risco de sua deterioração. Assim, a degeneração da cartilagem articular normal não seria, simplesmente, o resultado do desgaste mecânico pelo envelhecimento; todavia, é certo que o avançar da idade torna a cartilagem mais vulnerável, o que contribui para o surgimento e a progressão de doenças articulares (SCHUMACHER, 1999; OLMEZ; TERKELTAUB, 2002; MITSUYAMA et al., 2007).

2.3 Degeneração Facetária

O conceito de “complexo de três articulações” (Three-joint Complex) postulado por Kirkaldy-Willis et al., (1983) define o conjunto das duas **APAs** e o disco intervertebral como unidade funcional da coluna vertebral, sendo interdependentes para seu funcionamento fisiológico, de maneira que, alterações degenerativas em uma destas estruturas afetaria diretamente a outra. A partir de então, o conceito de três articulações foi utilizado na tentativa de explicar como a

degeneração discal afetaria a faces articulares, através da diminuição de altura do disco intervertebral, alteração de suas propriedades mecânicas e, subsequente, aumento da carga sobre as facetas articulares, causando dor localizada. (KIRKALDY-WILLIS et al., 1978; YONG-HING; KIRKALDY-WILLIS, 1983).

Tem sido descrito que o processo de degeneração ocorre primeiramente no disco intervertebral, iniciando-se então um efeito em cascata, com a subsequente lesão da **CPa** (BUTLER et al., 1990; FUJIWARA et al., 1999). Estudos biomecânicos apontam que a ação estabilizadora de músculos e ligamentos da coluna diminuiria a tensão sobre o disco intervertebral, mas em contra partida, sobrecarregaria a **CPa** (GOEL et al., 1993; COHEN; RAJA, 2007). Para autores como Rubin et al. (1990) e Boos et al. (1995b), nem sempre a degeneração da **CPa** é concomitante ao surgimento de sintomas, pois os mesmos podem se manifestar mesmo em indivíduos com CPas aparentemente preservadas.

O "complexo de doenças articulares degenerativas da coluna vertebral" tem sido frequentemente estudado, porém, assim como relatado por Fontes (2011) em estudo dos discos intervertebrais, a maior parte das pesquisas relaciona-se à região lombar; com apenas uma pequena parcela dos trabalhos preocupando-se em avaliar as características das estrutura da região cervical. Quanto aos trabalhos que se dedicam à **CPa**, a maioria se desenvolve em indivíduos vivos, com o emprego de técnicas radiológicas de ressonância magnética (**RM**) ou tomografia computadorizada (**TC**), para avaliações biomecânicas (PANJABI et al., 1993; FUJIWARA et al., 2001), incidência de processos degenerativos (MASTER; EUBANKS; AHN, 2009; PARK et al., 2014), ou tratamento por bloqueios anestésicos (DATTA et al., 2009; GOPINATHAN; PEH, 2011), entre outros.

As investigações em material cadavérico humano são escassas, o que, para Gilbody et al., (2011) e Fontes (2011), ocorre provavelmente devido à dificuldade de sua obtenção. Dentre essas pesquisas destacam-se os trabalhos de Tanno et al., (2003); Tischer et al., (2006) e Kettler; Werner e Wilke (2007) que avaliaram, em indivíduos idosos, as características macroscópicas do processo de degeneração das **CPas**.

O processo de degeneração que ocorre nas **CPas** é preocupação antiga entre os que se dedicam a esclarecer, não somente os aspectos estruturais, como também a sintomatologia a ela associada. Assim, Kellgren e Lawrence (1957) foram uns dos primeiros pesquisadores a propor um sistema de classificação de

degeneração, baseado em imagens radiográficas que, com o passar do tempo, foram substituídas por técnicas que possibilitavam melhor visualização da morfologia da articulação. Em uma revisão da literatura, Kettler e Wilke (2006) listaram os vários sistemas de classificação existentes para se avaliar a degeneração da **CPa**. Para as **CPas** lombares, encontraram o uso de técnicas de análise anatômica macroscópica, (WANG; YU; HAUGHTON, 1989) histológica (GRIES et al., 2000), radiográfica (KELLGREN; LAWRENCE, 1957), de tomografia convencional (DEMAEREL et al., 1992) e computadorizada (COSTE et al., 1994) e ressonância magnética (WEISHAUP et al., 1999). Relativamente às CPas cervicais, Kettler e Wilke (2006) encontraram somente classificações que utilizavam-se de técnicas de análise anatômica e radiográfica.

Até os dias atuais, a classificação anatômica utilizada é o sistema proposto por Wang (1989), baseado em características macroscópicas que permitem classificar a degeneração da **CPa** em 4 graus diferentes, de acordo com as características apresentadas. Estas, vão desde o aspecto mais bem preservado (grau 1) até a degeneração total da cartilagem (grau 4) (GROGAN et al., 1997; TANNO et al., 2003; KETTLER; WERNER; WILKE, 2007).

A Degeneração da **APA** no segmento lombar é descrita por meio de inspeção macroscópica por vários autores (SWANEPOEL; ADAMS; SMEATHERS, 1995; GROGAN et al., 1997; FUJIWARA et al., 2000; TANNO et al., 2003 KUSAKABE et al., 2006; TISCHER et al., 2006; LI et al., 2011) Nestes estudos, as alterações patológicas atribuídas à degeneração da articulação são o adelgaçamento da **CPa**, esclerose do osso subcondral, formação de osteófitos e surgimento de cistos sinoviais. Em contrapartida, para a região cervical, poucos estudos morfológicos e até mesmo epidemiológicos são encontrados (FLETCHER; HAUGHTON, 1990; MASTER; EUBANKS; AHN, 2009; WILKE; ZANKER; WOLFRAM, 2012). Além disso, as alterações degenerativas descritas nestes estudos não são correlacionadas a idade ou ao segmento vertebral (KETTLER; WERNER; WILKE, 2007).

Ao avaliar, com o uso de **RM**, a coluna cervical de jovens assintomáticos com idade entre 17 e 26 anos, a fim de investigar o estreitamento da **CPa** e o surgimento de osteófitos, Siivola et al. (2002) não verificaram sinais de degeneração nessa articulação. Também utilizando-se de **RM** Otsuka et al. (2010) realizaram, em indivíduos com ausência de sintomas de degeneração na **APA**, mensurações da

área das **CPas** no segmento lombar de adultos, com idades entre 20 e 49 anos, e detectaram um pequeno aumento da área nos indivíduos acima de 40 anos.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

Objetivos gerais:

Analisar, com o uso de técnicas macroscópicas, de microscopia de luz e de microscopia eletrônica (de varredura e de transmissão), a organização estrutural da cartilagem dos processos articulares (**CPas**) das vértebras cervicais (segmento **C**) e lombares (segmento **L**) de indivíduos jovens (**GJ**) e idosos (**GI**), presumivelmente assintomáticos.

Objetivos específicos:

Analisar se a presença de alterações nos segmentos (**C** e **L**) de ambos os grupos (**GJ** e **GI**) são compatíveis com processos degenerativos normais ou patológicos; e em caso de degeneração, se a mesma ocorre de forma diferente entre o segmento **C** e o segmento **L**.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados blocos vertebrais oriundos do trabalho de Fontes (2011), previamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa sob o código FR 149732 (CONEP 03/08/2007), e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (**ICB/USP**), número 811/CEP em 13/11/2007 (Anexo I), devidamente cadastrados em biorrepositório do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (**DA/ICB/USP**).

Os espécimes foram obtidos de cadáveres necropsiados rotineiramente no Serviço de Verificação de Óbitos da Capital do Estado de São Paulo (**SVOC/SP**), lotado na Faculdade de Medicina da USP (**FM/USP**) onde, no formulário de necropsia, os familiares de todos os indivíduos assinaram um termo consentindo com a extração de material para pesquisa, além de fornecerem informações que permitiram incluir ou excluir os indivíduos na mesma. Sendo assim, foram excluídos aqueles que foram submetidos à intervenção cirúrgica; portadores de doenças neoplásicas ou reumatológicas, com históricos de trauma e de dor referida em trajeto radicular ou localizado na região cervical ou lombar, e aqueles que apresentavam deformidades evidentes na região de coleta do material. Informações antropométricas sobre os indivíduos como raça, gênero, peso e altura também foram obtidas.

Os blocos vertebrais foram extraídos das regiões entre a quarta e a sexta vértebras cervicais (segmento **C**), e entre a quarta vértebra lombar e a primeira vértebra sacral (segmento **L**) (Figura 1) de indivíduos separados nos grupos Adulto Jovem (**GJ**, idade <35 anos, n=5), e Idoso (**GI**, idade >65 anos, n=5) (Tabela 1).

Após fixados em solução de formalina (10%) por um período mínimo de 7 dias, foi dissecada a região da **CPa**, individualizando-se para cada grupo (**GJ** e **GI**) 10 **CPas** superiores e 10 **CPas** inferiores em cada segmento (**C** e **L**).

Figura 1- Obtenção dos espécimes

Fonte: Adaptado de (FONTES, R. B. V., 2011).

Legenda: **a** - Vista superior dos blocos vertebrais cervical (**C**) e lombar (**L**). **b** - Ampliação da **APA** evidenciando os processos articulares superior (**PaSup**) e inferior (**PaInf**) fixos ao corpo vertebral (**CV**) através do pedículo do arco vertebral (**p**). **c** - Corte sagital evidenciando a quarta, quinta e sexta vértebra cervical (**C4**, **C5** e **C6**); quarta e quinta vértebra lombar (**L4** e **L5**) e a primeira vértebra sacral (**S1**). **d** - Individualização das **CPas** cervicais (**cabeça de seta**) e lombares (**asterisco**).

A fim de se evitar um possível viés, todos os blocos permaneceram com a numeração de identificação do **SVOC**, impossibilitando ao observador, no momento da descrição dos resultados, determinar a qual grupo pertencia o material. Este procedimento de mascaramento da amostra foi mantido até o momento da análise estatística.

Tabela 1- Dados antropométricos dos indivíduos constituintes dos grupos Jovem (**GJ**) e idoso (**GI**)

Número SVO espécime	Idade (anos)	Gênero	Altura (cm)	Peso (Kg)
GJ				
2788	29	♀	162	70
4410	32	♂	180	88
4413	32	♂	170	49
5050	34	♀	162	106
5091	34	♂	182	80
Média GJ	32,2		171,2	78,6
GI				
2786	68	♂	165	60
8354	79	♀	160	40
8356	83	♂	180	110
8358	81	♂	165	80
4411	91	♀	150	45
Média GI	80,4		164	67

Fonte: Adaptado de (FONTES, R. B. V., 2011).

4.1 GRAU DE DEGENERAÇÃO

A fim de se estabelecer um delineamento inicial para o presente estudo, determinou-se macroscopicamente o grau de degeneração das **CPas (C, L)** de ambos os grupos (**GJ, GI**), de acordo com a classificação preconizada por Wang (1989).

Tabela 2- Classificação do grau de degeneração

Grau	Características
1	Espessura uniforme da cartilagem com superfície lisa, revestindo completamente a superfície articular
2	Cartilagem revestindo toda a superfície articular, porém, com erosões ou irregularidades.
3	Superfície articular não revestida completamente por cartilagem, frequentemente irregular e de coloração alterada, com exposição do osso subjacente;
4	Ausência completa ou resquícios de cartilagem na superfície articular

Fonte: Adaptado de (WANG; YU; HAUGHTON, 1989).

Desta forma, verificou-se que as **CPas** dos segmentos **C** e **L** distribuíram-se entre os graus 1 e 2 no **GJ**, e entre os graus 2 e 4 no **GI** (Figuras 2 e 3).

Figura 2- Classificação do grau de degeneração das CPas do segmento Cervical, nos indivíduos dos grupos Jovem (GJ) e Idoso (GI). (X- grau onde não se observou CPA de GJ e de GI)

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: **A**, superfície lisa e de espessura regular. **B**, pequenas irregularidades na superfície (**setas finas**). **C**, tecido de granulação na superfície articular (**estrela**). **D**, tecido conjuntivo entre as superfícies articular (**seta espessa**) e erosão da cartilagem (**cabeça de seta**). **E**, região de exposição de osso subcondral (**meia lua**).

Figura 3- - Classificação do grau de degeneração das CPas do segmento lombar, nos indivíduos dos grupos Jovem (GJ) e Idoso (GI). (X- grau onde não se observou CPA de GJ e de GI)

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: **A**, cartilagem lisa e brilhante. **B**, pequenas irregularidades na superfície (**setas finas**). **C**, tecido de granulação na superfície articular (**estrela**). **D**, erosão da cartilagem (**cabeça de seta**). **E**, resquício de cartilagem articular, com regiões sem fixação ao osso subcondral (**setas espessas**).

4.2 TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

Inicialmente, com o auxílio de uma navalha histológica descartável, foram realizados em cada **CPa**, cortes macroscópicos perpendiculares à sua superfície, obtendo-se um bloco de, aproximadamente, 5mm de largura e 13mm de comprimento, contendo todas as zonas cartilagueiras (Figura 4A). Em seguida, os blocos foram submetidos à descalcificação por imersão em solução de **EDTA** (ácido etilenodiaminotetracético, 0,25M), por um período de doze meses, sendo cada CPa individualizada em recipiente com 70ml de solução, trocadas a cada 3 dias. Após descalcificação, os espécimes foram incluídos em parafina e submetidos a cortes semi-seriados com 5µm de espessura (Figura 4B) e inicialmente corados pelos método da H.E. (Figura 4C), para avaliação dos aspectos gerais do tecido cartilagueo (BEHMER; TOLOSA; FREITAS NETO, 1975).

Figura 4- Representação da obtenção dos cortes histológicos

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: **A** - Área de **CPa** retirada da face articular do segmento cervical (**S**). **B** - Localização equidistantes dos dez cortes na **CPa**. **C** - Corte histológico.

Para a evidenciação da **MEC** foi utilizada a coloração da Safranina-O (LUNA, 1968) e a fim de se tipificar as fibras colágenas, empregou-se o método do Picro-sirius analisado sob luz polarizada, conforme preconizado por Junqueira; Bignolas; Brentani, (1979).

Todas as análises foram realizadas em microscópio binocular (Carl Zeiss, modelo Axioshop 40) e documentadas em um aparelho de aquisição de imagem computadorizada¹ do Laboratório de Anatomia Funcional Aplicado à Clínica e à Cirurgia (**LAFACC**) do **ICB/USP**.

4.3 AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA

Nos cortes corados com H.E., realizou-se a contagem do **número de condrócitos por área (cond/A)** e a mensuração da **espessura da CPa (espCPa)**. Para tanto, foram utilizados os princípios de amostragem sistemática e uniformemente aleatória, através de um estudo piloto a fim de se determinar a quantidade mínima de “campos de quantificação” passíveis de serem analisados por métodos estatísticos, como preconizado por Gundersen et al. (1999). Desta forma, obteve-se um número de 10 cortes por **CPa** de cada segmento (**C**, **L**), de ambos os grupos (**GJ**, **GI**).

4.3.1 Espessura da **CPa** (espCPa)

Com o uso de equipamento de sistema de imagem computadorizada, previamente descrito com objetiva de 10x, foram obtidas dez medidas de **espCPa**, equidistantes entre si, em cada um dos dez cortes de todas as **CPas**. As mensurações foram realizadas em posição perpendicular à superfície da **CPa**, desde a **ZS** até a **ZP**, no limite desta última com a **ZC** (Figura 5). Os resultados obtidos foram expressos em média ($\pm$ DP).

¹ Carl Zeiss, software Axiovision Rel. 4.6, Göttingen, Alemanha. – LAFACC – ICB/USP

Figura 5- Exemplo de mensuração da **espCPa**

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: Zona Superficial (**ZS**). Zona Intermediária (**ZI**). Zona Profunda (**ZP**). Zona Calcificada (**ZC**). Osso subcondral (**Os**). Limite entre a **ZP** e a **ZC** (**Linha verde**). Técnica H.E.

4.3.2 Número de condrócitos por área (**cond/A**)

Inicialmente, conforme ilustra a Figura 6, em cada um dos 10 cortes foram selecionados, de forma aleatória, 10 campos de contagem, utilizando-se uma tabela de números randômicos (Anexo II).

Figura 6- Representação da obtenção dos campos de contagem de **cond/A**

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: Disposição aleatória dos dez campos de contagem (**círculos**), obtidos através de uma tabela de números randômicos.

Em seguida, com o uso do sistema de imagem computadorizada previamente descrito, foram obtidas imagens de todos os campos com objetiva de 40X, sobre as quais foi sobreposto um sistema teste formado por linhas de inclusão e exclusão com medidas de 0,15x0,15mm (Figura 7) Foram contadas as células que tocavam a linha de inclusão (verde) assim como aquelas que se encontravam dentro do sistema teste. Não foram computadas as células que tocavam a linha de exclusão (vermelha). Os resultados foram apresentados sob a forma de média ($\pm$ DP).

Figura 7- Representação de um campo de contagem de **cond/A**

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: Linhas de exclusão (**linha vermelha**). Linha de inclusão (**tracejado verde**). Células contabilizadas (**setas verdes**).

4.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA

Para as análises em microscopia eletrônica foram utilizadas 2 **CPas** de cada segmento (**C** e **L**) de ambos os grupos (**GJ** e **GI**), selecionando-se aqueles que obtiveram o Grau 2 na classificação de degeneração, por ser esse o grau representativo de comparações entre os dois grupos.

4.4.1 *Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

Aproximadamente a metade de cada **CPa** foi fixada em solução de *Karnovsky* modificada contendo glutaraldeído (2,5%), paraformaldeído (2%), e solução de cacodilato de Sódio (0,1M) durante 24 horas. Em seguida, os espécimes foram lavados em solução tampão fosfato de Sódio (12 a 24 horas) e pós-fixadas em solução de tetróxido de Ósmio (1%), com posterior desidratação em série crescente de alcoóis (60% ao absoluto). Após imersas em solução de acetato de uranila (3 horas, a 4° C) ,as **CPas** foram secas em aparelho ponto-crítico (Balzers CPD-30), montadas em bases metálicas apropriadas, cobertas com íons de ouro (aparelho Balzers SCD-040), e examinadas em microscópio eletrônico de varredura LEO 435 VP do Departamento de Anatomia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootectina da USP. (DA/FMVZ/USP)

4.4.2 *Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)*

Utilizando-se uma navalha histológica, foram retirados fragmentos de aproximadamente 0,2mm de espessura, paralelos à superfície das **CPas** que, após imersos em solução fixadora (glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato), durante 2 horas, foram lavados e pós-fixados em solução de tetróxido de Ósmio (1%), por um período de 2 horas. Em seguida, os espécimes foram lavados em solução de tampão fosfato de Sódio (PBS) contrastados com a solução aquosa de acetato de uranila (0,5%), durante 12 horas, e desidratados em série crescente de alcoóis (de 70% ao absoluto) e óxido de propileno. Após a inclusão em resina, foram obtidos cortes ultrafinos (60 nm) em ultramicrotomo (Leica Ultracut UCT, Germany), coletados em telas de cobre de 200 “mesh” (Sigma-Aldrich, USA) e contra-corados com acetato de uranila e citrato de chumbo (REYNOLDS, 1963). As telas foram examinadas ao microscópio eletrônico de transmissão FEI-Morgagni 268D do DA/FMVZ/USP.

4.5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Para a análise estatística utilizou-se o teste *ANOVA* (*Analysis of variance*), seguido por comparações múltiplas pelo método de Tukey, com nível de significância de $p < 0,05$ (ZAR, 1984).

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 RESULTADOS QUALITATIVOS

5.1.1 *Grau de Degeneração*

Em geral, não houve grande diferença nas características apresentadas pelas **CPa** de um mesmo grau, quando comparadas entre os segmentos **C** e **L**.

As **CPa** classificadas como grau 1 foram exclusivamente do **GJ**, com **CPa** de aspecto íntegro, superfície lisa, coloração esbranquiçada e espessura constante. O grau 2 foi o único a abranger ambos os grupos (**GJ** e **GI**), contendo a maior parte da amostra (40%), apresentando **CPa** com pequenas irregularidades e erosões em sua superfície. A comparação das **CPa** com o grau 2, entre os grupos (**GJ** e **GI**), não apresentou diferença qualitativa, sugerindo que estas estariam igualmente preservadas.

O **GI** foi o único a apresentar **CPa** dos graus de maior degeneração, notando-se no grau 3 regiões de erosões, fibrilações e tecido conjuntivo entre as faces articulares, tornando o aspecto da superfície áspero e de coloração amarelada. No grau 4, foi observado **CPa** extremamente delgada, com coloração escura e regiões que não apresentavam fixação no osso subcondral, aparentando um aspecto de bolha, entretanto, não foram encontradas ausências total de cartilagem em nenhum dos indivíduos (Figuras 2-3).

5.1.2 Fibras Colágenas

As lâminas coradas pela técnica de Picro-sirius foram analisadas sob luz polarizada; algumas com o uso de filtro de quartzo. Desta forma, foi possível a tipificação das fibras colágenas, bem como sua orientação na diversas zonas da **CPa**.

Ao se avaliar, inicialmente a orientação das fibras, verificou-se que, no grupo jovem (**GJ**), embora formassem uma malha, as mesmas tinham uma orientação preferencialmente longitudinal (Figura 8A). Já no grupo idoso (**GI**), o aspecto característico de malha pantográfica foi evidenciado, ou seja, as fibras estavam orientadas em sentido diagonal relativamente à superfície da **CPa** (Figura 8B). Esta configuração foi observada tanto em CPas do segmento cervical quanto do segmento lombar.

Figura 8 - Disposição típica das fibras colágenas na cartilagem articular

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: **A**- Esquema da disposição típica das fibras colágenas na cartilagem articular, constituindo as arcadas de Benninghoff. **B**- Disposição das fibras colágenas em **GJ**, com as mais espessas, tanto na cor verde como na cor laranja orientando-se longitudinalmente (**seta**). **C**- Arranjo das fibras colágenas em **GI**, com as fibras espessas de ambas as cores assumindo orientação diagonal, conferindo o aspecto de malha pantográfica. (**A,B**. Picro sirius sob luz polarizada e filtro de quartzo. Barra de calibração:100µm).

Relativamente aos tipos de fibras colágenas, observou-se em ambos os segmentos (**C** e **L**) e grupos (**GJ** e **GI**) que a quase totalidade das fibras, tanto espessas como delgadas, eram do tipo II, assumindo a coloração esverdeada (Figura 9).

Figura 9 - Fibras colágenas na constituição da **CPa** de **GJ** (**A,B**) e de **GI** (**C,D**).

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: Notar, em ambos os grupos que, independentemente da direção das fibras, tanto as espessas (**A,C**) como as delgadas (**B, D**) são fibras do tipo II. Barra de calibração:100µm.

5.2 Matriz Extra Celular (MEC)

A intensidade de marcação da safranina-O na **MEC** variou ao se comparar **GJ** com **GI**. Enquanto que nos indivíduos jovens, tanto nas **CPas** cervicais como nas lombares, o padrão foi de coloração intensa, os indivíduos idosos destacaram-se por exibir um padrão mais claro. Particularmente na região cervical, foi detectada uma zona de coloração mais intensa, situada profundamente (Figura 10 - Reação da safranina-O na MEC da CPa de GJ (A,C) e de GI (B,D) Figura 10)

Figura 10 - Reação da safranina-O na **MEC** da **CPa** de **GJ** (A,C) e de **GI** (B,D)

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: Verifica-se que, tanto na região cervical quanto na lombar, que a intensidade de marcação foi intensa em **GJ** (A, C). Notar, na região cervical de **GI** (B), uma faixa profunda de marcação intensa. Barra de calibração 50µm.

5.2.1 Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV)

Ao se comparar, em linhas gerais, as superfícies das **CPas** de ambos os grupos (**GJ**, **GI**) das regiões cervical e lombar, notou-se nos indivíduos jovens, uma superfície lisa e homogênea, constituída por fibrilas paralelas. As superfícies dos indivíduos idosos exibiam como características, aspectos de degeneração em diferentes graus, chegando mesmo à completa destruição da superfície articular (Figura 11).

Figura 11 - Micrografias eletrônicas de varredura das características gerais das **CPas** das regiões cervical e lombar de indivíduos de **GJ** (A, B) e **GI** (C, D)

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: Notar nos indivíduos jovens, a superfície homogênea (*) e a direção paralela das fibrilas (**setas brancas**). Nos indivíduos idosos, observa-se a descamação da superfície (seta preta) com diferentes graus de degeneração. Barra de calibração: **A**, **C** 100µm, **B** 10µm, **D** 1µm.

Analisando-se a região cervical dos indivíduos de ambos os grupos (**GJ**, **GI**) classificados como grau 2, são evidentes as características das **CPas** anteriormente descritas, ou seja, superfície lisa e homogênea nos indivíduos jovens, e em processo de degeneração nos indivíduos idosos (Figura 12).

Figura 12 - Micrografias eletrônicas de varredura das características gerais das **CPas** da região cervical de indivíduos de **GJ** (**A**, **C**) e **GI** (**B**, **D**), classificados como grau 2

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: Nota-se que nesse grau, os indivíduos jovens exibem superfícies íntegras, diferentemente do padrão fibrilar dos indivíduos idosos. Barra de calibração: 100µm.

Na região lombar, embora nos indivíduos jovens predomine superfícies lisas e homogêneas, em diversas regiões as mesmas começam a apresentar características relativas ao processo de degeneração. Nos indivíduos idosos, já nessa fase, o processo de degeneração encontra-se em estágio avançado (Figura 13).

Figura 13 - Micrografias eletrônicas de varredura das características gerais das **CPas** da região lombar de indivíduos de **GJ** (**A, C**) e **GI** (**B, D**), classificados como grau 2

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: Notar, nos indivíduos jovens, as superfícies lisa e homogênea (**A**), e em processo de degeneração (**C**). Nos indivíduos idosos, já nessa fase, é evidente o processo de degeneração (**B, D**). Barra de calibração: 100µm.

5.2.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Foi observada a presença de fibras colágenas em ambos os segmentos (**C** e **L**) dos indivíduos jovens e idosos, que se apresentaram com espessuras e comprimentos variados. No **GI**, notou-se maior eletrodensidade da **MEC** em comparação com o **GJ**, tanto no segmento **C** quanto em **L** (Figura 14).

Figura 14 - Micrografia eletrônica de transmissão na **CPa** de **GJ** (**A,C**) e de **GI** (**B,D**), classificadas como grau 2

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

Legenda: Verifica-se fibras colágenas, tanto na região cervical quanto na lombar, de ambos os grupos (**GJ** e **GI**). Notar, nos indivíduos do **GI** (**B, D**), **MEC** com maior eletrodensidade.

5.3 RESULTADOS QUANTITATIVOS

5.3.1 Número de Condrócitos por Área (**cond/A**)

A densidade dos condrócitos/ μm^2 não diferenciou estatisticamente entre os grupos. Assim, em **GJ** foram observados 1,64 ($\pm 0,32$) células na região cervical, e 1,08 ($\pm 0,34$) na região lombar. Em **GI** observou-se 1,65 ($\pm 0,3$) células na região cervical, e 1,21 ($\pm 0,36$) na região lombar (Tabela 3).

Tabela 3 - Média do **cond/A**

Segmento Grupo	GJ	GI
Cervical	1,64 $\pm$ 0,32	1,08 $\pm$ 0,34
Lombar	1,65 $\pm$ 0,30	1,21 $\pm$ 0,36

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

5.3.2 Espessura da **Cpa** (**espCPa**)

Quanto a esse parâmetro, em ambas as regiões (cervical e lombar), não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre **GJ** e **GI**. Apesar da análise estatística não acusar diferenças, o alto valor do desvio padrão (**DP**) indicou a alta variabilidade da **espCPa**, observada principalmente entre as **CPas** que apresentavam integridade de sua superfície e aquelas com degeneração ou perda de tecido cartilágneo (Tabela 4)

Tabela 4 - Média da **espCPa**

Segmento Grupo	GJ	GI
Cervical	787 $\pm$ 213	786 $\pm$ 438
Lombar	659 $\pm$ 200	666 $\pm$ 429

Fonte: (ALVES, P. H. M., 2014).

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Como previamente descrito, apesar da dorsalgia não ser um problema de ocorrência exclusiva em indivíduos idosos (MANCHIKANTI, et al., 2008), o fato de os indivíduos do **GJ** terem sido classificados no máximo com grau 2 de degeneração confirma a forte relação do envelhecimento com as desordens cartilagíneas descritas por autores como Grogan et al. (1997). Estudos macroscópicos como o de Li et al. (2011) sobre a prevalência da degeneração da **CPa** no segmento lombar de indivíduos jovens e idosos, que revelaram mais sinais de degeneração com o avanço da idade, e o de Kettler et al. (2006) em **CPas** do segmento cervical apenas de indivíduos com idades relativamente altas (59 a 92 anos), reforçam a relação da degeneração com o envelhecimento encontrada no **GI**, onde a maior porcentagem de indivíduos foi classificada nos graus 2 e 3 de Wang. Esses dados são confirmados por trabalhos que utilizam imagens de **TC**, e que têm como vantagem propiciar a análise de um número maior de amostras, como é o caso de Park et al. (2014), que examinaram a **CPa** do segmento cervical em 320 indivíduos entre 40 e 79 anos de idade, e observaram uma maior propensão à degeneração nos indivíduos mais velhos.

Entretanto, o fato de se relacionar a degeneração da **CPa** ao aumento da idade, não deve ser interpretado como uma consequência obrigatória do processo de envelhecimento, uma vez que no presente estudo, foram observadas **CPas** do **GI** com grau 2, ou seja, 35% dos indivíduos idosos com esse nível de degeneração, frente a 45% dos indivíduos jovens (**GJ**) com a superfície relativamente íntegra. Esses achados são pertinentes com os descritos por Tanno et al. (2003) ao verificarem preservação de características macroscópicas em indivíduos idosos, mesmo que estas não sejam de incidência alta nesta população.

A não observação de diferenças quanto ao grau de degeneração da **CPa** entre os segmentos **C** e **L** dos grupos **GJ** e **GI** diverge de autores como Kettler; Werner e Wilke (2007), que relataram em indivíduos idosos, uma região lombar (segmento **L**) afetada de forma mais intensa em relação à região cervical (segmento **C**). É necessário ressaltar, porém, que a metodologia por eles utilizada difere da que foi empregada no método de comparação da presente pesquisa, uma vez que os

autores, ao descreverem seus resultados sobre o segmento **C**, os comparam com os de Tischer et al. (2006), obtidos no segmento **L**. Aliás, essa não parece ser uma prerrogativa somente de Kettler; Werner e Wilke (2007), pois Li et al., (2011) generalizam característica da degeneração da CPa no segmento lombar para as demais regiões da coluna.

O predomínio de fibras colágenas do tipo II na **CPa** de ambos os segmentos (**C** e **L**) de **GJ** e **GI**, demonstra a característica normal da constituição da cartilagem articular que, segundo Buckwalter e Mankin, (1998) é de 90 a 95%. A sua organização nos grupos **GJ** e **GI**, são compatíveis com as descrições clássicas de configuração em malha. Porém, a orientação longitudinal em **GJ**, e diagonal em **GI**, indicam alterações na disposição das arcadas de Benninghoff da a **ZI**, a principal responsável pela absorção de impactos (BENNINGHOFF, 1925; RESPONTE, NATOLI; ATHANASIOU, 2007).

Como a organização das fibras colágenas tem influência direta nas propriedades biomecânicas da cartilagem, a perda deste arranjo é considerada por Onyekwelu, Goldring e Hidaka (2009) como indicativo de processo degenerativo, uma vez que a cartilagem adulta tem pouca capacidade de remodelamento e regeneração. Entretanto, mesmo que os resultados aqui apresentados mostrem que algumas **CPas** do **GJ** tenderam a perder parcialmente a organização característica da **ZI**, vale salientar que a **ZS** manteve-se intacta, uma condição adversa aos indícios de degeneração da cartilagem que, segundo Buckwalter e Mankin (1997), manifestam-se primeiramente nessa zona. A importância da **ZS** para a manutenção da integridade da cartilagem também é reconhecida por Guilak et al., (1994), que admitem ser mais a organização do tecido dessa zona, mais importante do que a sua própria composição.

Vários autores têm usado a técnica de coloração safranina-O para avaliar o teor de proteoglicanas em cartilagens sob diferentes processos que tenham efeitos em sua estrutura, como o envelhecimento e a osteoartrite. Assim, tanto em humanos (BUCKWALTER; MANKIN, 1997; CHANGOOR et al., 2011; LOTZ; LOESER, 2012) como em animais (SHEPARD; MITCHELL, 1976; SHIMIZU et al., 1997; TUMAN; IM, 2012; YEH et al., 2008), independentemente do modelo, a diminuição da intensidade da coloração é sempre relacionada ao desgaste da cartilagem, indicando desta forma a perda de proteoglicanas, que ocorre principalmente na **ZS** e **ZI**. Mesmo em casos de cartilagens severamente comprometidas, a perda de proteoglicanas

restringe-se a essas zonas, como observado por Bleil et al., (2014) em **CPas** anquilosadas de indivíduos idosos.

Na presente pesquisa, em linhas gerais, a coloração menos intensa observada no **GI** em relação ao **GJ** indica, qualitativamente, uma menor concentração de proteoglicanas, o que é aceito como um dos indicativos do início do processo de degeneração, como ocorre na **OA** (GUILAK et al., 1994; SHIMIZU et al., 1997; MANKIN, 1998; AROKOSKI, et al., 2000; DAVID-VAUDEY et al., 2005; Bi, et al., 2006;). Segundo Dijkgraaf et al., (1995) a diminuição das proteoglicanas, como observado no **GI**, pode levar ao desequilíbrio na hidratação da cartilagem, e subsequente perda de características biomecânicas, como a elasticidade. Reforçam essa teoria os trabalhos de Vignon; Arlot e Hartmann (1983) e Adams; Brandt, (1991) ao afirmarem que, em casos de degeneração patológica, a diminuição das proteoglicanas é precedida por um aumento no comprimento das cadeias de glicosaminoglicanas. Esse processo é então acompanhado pelo conteúdo de água na matriz, o que proporciona uma maior permeabilidade da **MEC**, e aumenta a vulnerabilidade do tecido cartilágneo a danos mecânicos.

Sob **MEV**, em linhas gerais, as superfícies articulares das **CPas** dos segmentos **C** e **L** de **GJ** estavam relativamente bem preservadas; em **GI**, houve certa heterogeneidade, observando-se diferentes graus de preservação e ou degeneração. Particularmente nas **CPas** classificadas como grau 2, os resultados mostraram que, apesar de haver equivalência entre **GJ** e **GI** quanto à classificação macroscópica, independente do segmento (**C** ou **L**), a superfície articular do **GI** ainda se mostra com maior desgaste em relação ao **GJ**. Esta avaliação mostrou-se de fundamental importância, uma vez que revelou detalhes como as fibrilações, e também permitiu identificar o estado de degeneração no segmento **L** de **GJ**, tornando-o definitivamente o mais suscetível ao desgaste em relação ao segmento **C**.

Na comparação específica entre os grupos no Grau 2, foi nítido o comprometimento da **ZS** do segmento **C** em **GI** que, para Thambyah e Broom (2006) assume a função de um "trampolim", capaz de redirecionar parte da força e diminuir a tensão do contato entre as superfícies articulares. Desta forma, a presença das fibrilações destacadas sob **MEV**, podem comprometer o papel da **ZS** na resistência de cargas aplicadas à cartilagem (THAMBYAH et al., 2012). Para Kääb et al. (2000) e Hughes; Archer e Gwynn (2005) a carga mecânica a que é submetida diariamente

a cartilagem articular, é um fator significativo para a manutenção da sua estrutura e função normais, prejudicadas tanto com a aplicação de cargas excessivas, quanto na ausência total de forças.

Ainda no grau 2, as fibrilações da **ZS** encontradas no segmento **L** em alguns indivíduos do **GJ** são indícios de um processo de degeneração já nessa fase, também descrito por Master; Eubanks e Ahn (2009) ao compararem a **APA** entre os segmentos **C** e **L** de indivíduos jovens e idosos, e observarem sinais de menor conservação no segmento **L** dos primeiros. Todavia, supõe-se que as **CPas** lombares do **GJ**, encontram-se no início do processo de degeneração, pois as mesmas características fibrilares observadas nos segmentos **C** e **L** do **GI**, somadas à fraca intensidade de marcação pelo método da Safranina-O apresentada por este grupo, sugerem um desequilíbrio funcional avançado (KETTLER; WERNER; WILKE, 2007)

A análise ultraestrutural da **MEC** evidenciou que a principal diferença entre os grupos **GJ** e **GI** foi a maior eletrondensidade das **CPas** dos indivíduos idosos em ambos os segmentos (**C** e **L**). Segundo Scotchford e Ali (1997) e Rahamim et al. (2001) uma eletrondensidade alta da **MEC** cartilágnea está relacionada como restos celulares, proteoglicanas e fibras colágenas em degradação, característicos de desordens no tecido. Tais observações, acompanhadas por erosão na **ZS** e descontinuidade das fibras colágenas, também foram descritas por Henzgen et al. (1996) em degradação induzida na cartilagem de ratos.

Nos espécimes aqui avaliados pertencentes aos grupos **GJ** e **GI** que exibiram grau 2, não é possível confirmar as descrições de Scotchford e Ali (1997) e Rahamim et al. (2001), uma vez que as imagens obtidas para os indivíduos idosos não evidenciaram restos celulares ou fibras em degradação. A maior eletrondensidade em **GI** pode ser interpretada, principalmente no segmento **L**, como uma maior condensação de fibras colágenas espessas, um aspecto atribuído ao processo de envelhecimento normal.

Ainda, esses resultados no **GI** podem ser explicados pelas alterações na **MEC** cartilágnea associadas ao envelhecimento que, de acordo com Lotz e Loeser (2012) resumem-se em: mudança na tensão mecânica da cartilagem, levando as células à síntese deficiente de **MEC** e,consequentemente, perda da manutenção tecidual. Como as características citadas pelo envelhecimento patológico são, praticamente, as mesmas encontradas para o envelhecimento normal, a diferença entre ambos

nessa fase (grau 2) ainda não pode ser estabelecida. A linha tênue que parece separar esses dois processos é o agravamento da situação fragilizada da cartilagem no envelhecimento normal, de modo a provocar dor e redução na mobilidade (MARTIN; BUCKWALTER, 2002) o que, de acordo com os dados aqui exibidos, talvez aconteçam em fases posteriores, a partir do grau 3 de degeneração.

No que diz respeito à densidade celular (**cond/A**), a heterogeneidade entre os indivíduos do **GI** pode ter sido o fator que não fez diferir esse grupo do **GJ**. Todavia, embora estatisticamente semelhantes, verifica-se uma tendência de **GI** exibir uma densidade menor, o que pode ser uma consequência do processo envelhecimento, tanto em condições normais quanto patológicas, como descrito por Meachim e Collins (1962); Stockwell (1967) e Vignon et al. (1976), que observaram uma diminuição da densidade de células na cartilagem articular da patela, cabeça e côndilo femoral de indivíduos jovens e idosos.

Porém, há que se ressaltar os trabalhos que relatam um aumento da densidade de condrócitos em cartilagens íntegras de indivíduos idosos (QUINTERO et al., 1984), com o intuito de preservar o tecido cartilágneo durante o envelhecimento. Ao se considerar esses resultados, não se pode descartar a possibilidade de que, nos indivíduos de **GI** com grau 2, as **CPas** tenham apresentado maior densidade celular, contrastando com as dos graus 3 e 4 que, por estarem em estágio avançado de degeneração apresentariam hipoteticamente, menor densidade, causando o alto desvio padrão observado nos resultados.

Muito embora tenha se destacado na literatura que a cartilagem, de forma geral, diminui sua espessura com a progressão da idade (DING et al., 2003; YUDOH et al., 2005; ROSSI, 2008), pelos mesmos motivos expostos para a densidade de condrócitos (**cond/A**), não foi possível detectar diferenças estatísticas na espessura da cartilagem (**espCPa**), entre os grupos **GJ** e **GI**. Tal observação poderia ser corroborada pelo estudo de Uhrenholt et al. (2008) na **CPa** da região cervical de indivíduos entre 20 e 49 anos de idade, que também não notaram diferenças estatísticas nessa espessura; porém, a idade dos indivíduos pode ter influenciado os resultados, uma vez que os indivíduos mais velhos (49 anos) são relativamente jovens quando comparados com a média de idade do **GI** (80 anos).

Na literatura, a diminuição da **espCPA** e do **cond/A** atribuída ao envelhecimento, é justificada pelos mecanismos que levam à diminuição progressiva das funções dos condrócitos, que segundo Guerne et al. (1995); Rosen et al. (1997)

e Loeser (2009) sofrem declínio da atividade de fatores de crescimento, prejudicando a capacidade sintética e mitótica das células.

Ainda não se sabe ao certo se a origem deste processo de degeneração se dá primeiramente na diminuição das células com posterior destruição da matriz, ou o contrário. (CARLO, 2003; HUGHES, ARCHER, AP GWYNN, 2005).

Contudo, Lotz e Loeser (2012) apontam que os eventos no mecanismo de degeneração da cartilagem ocorrem em cascata, formando um círculo vicioso, de modo que a diminuição de proteoglicanas e o aparecimento de fibrilações, como observado no **GI**, resultam em mudanças nas propriedades biomecânicas da cartilagem. Quando os condrócitos detectam a alteração tecidual, liberam mediadores que estimulam respostas celulares anabólicas e catabólicas (BUCKWALTER; MANKIN; GRODZINSKY, 2005; LOTZ; LOESER, 2012). A degradação das moléculas de colágeno, que também alteram as propriedades biomecânicas da cartilagem, provocam aumento da rigidez e susceptibilidade à lacerações (BANK, BAYLISS, LAFEVER, 1998; CHEN et al., 2002). Por fim, a falha na restauração da homeostase da cartilagem, leva a uma perda progressiva da cartilagem articular (GUERNE; SUBLET; LOTZ, 1994; ROSEN et al., 1997; LOESER, 2009).

Levando-se em consideração o mecanismo intrínseco de degeneração ocorrido no processo de envelhecimento da cartilagem, as características apresentadas pelas **CPas** no Grau 2 do **GI** talvez não devessem ser classificadas como patológicas, principalmente por se tratarem de indivíduos assintomáticos. Porém, degenerações além deste ponto, podem ser devidas a fatores externos, como sobrecargas ou uso intenso das articulação ao longo da vida, que agravam a situação da cartilagem levando a uma deterioração que provoque o surgimento de sintomas caracterizando, então, uma degeneração patológica (MARTIN, BUCKWALTER, 2002).

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos, é lícito concluir-se que:

apresentados acerca das características morfológicas nas **CPas** dos segmentos **C** e **L** de indivíduos jovens (**GJ**) e idoso (**GI**), podemos concluir que:

- Ocorrem alterações na superfície da **CPa** do segmento **L** do **GJ** classificado como grau 2.
- A degeneração da **CPa** ocorre de forma heterogênea entre todos os indivíduos do **GI**.
- As características do grau 2 no **GI** podem ser admitidas como decorrentes do processo de envelhecimento normal.
- Não há diferença no processo de degeneração entre os segmentos **C** e **L** no **GI**.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. E.; BRANDT, K. D. Hypertrophic repair of canine articular cartilage in osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection. **Journal of Rheumatology**, v. 18, n. 3, p. 428–435, 1991.
- AROKOSKI, J. P. et al. Normal and pathological adaptations of articular cartilage to joint loading. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 10, n. 4, p. 186–198, 2000.
- BANK, R.; BAYLISS, M.; LAFEBER, F. Ageing and zonal variation in post-translational modification of collagen in normal human articular cartilage. **The Biochemical Journal**, v. 351, n. 330, p. 345–351, 1998.
- BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C. DE; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: EDART, 1975.
- BENN, R. T.; WOOD, P. H. Pain in the back: An attempt to estimate the size of the problem. **Rheumatol Rehabil**, v. 14, n. 3, p. 121–8, 1975.
- BENNINGHOFF, A. Form und Bau der Gelenkknorpel in ihren Beziehungen zur Funktion - Zweiter Teil: Der Aufbau des Gelenkknorpels in seinen Beziehungen zur Funktion. **Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie**, v. 2, n. 5, p. 783–862, 1925.
- BI, X. et al. Fourier transform infrared imaging spectroscopy investigations in the pathogenesis and repair of cartilage. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1758, n. 7, p. 934–941, 2006.
- BLEIL, J. et al. Histomorphologic and histomorphometric characteristics of zygapophyseal joint remodeling in ankylosing spondylitis. **Arthritis & Rheumatology**, v. 66, n. 7, p. 1745–54, jul. 2014.
- BODEN, S. D. et al. Abnormal magnetic-resonance scans of the lumbar spine in asymptomatic subjects . A prospective investigation Abnormal Lumbar Magnetic-Resonance Spine Scans of the in Asymptomatic. **The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume**, v. 72, n. 8, p. 403–408, 1990.
- BOGDUK, N. The innervation of the lumbar spine. **Spine**, v. 8, n. 3, p. 286–293, 1983.
- BOGDUK, N.; TYNAN, W.; WILSON, A. S. The nerve supply to the human lumbar intervertebral discs. **Journal of Anatomy**, v. 132, n. Pt 1, p. 39–56, 1981.
- BOOS, N. et al. 1995 Volvo Award in clinical sciences. The diagnostic accuracy of magnetic resonance imaging, work perception, and psychosocial factors in identifying symptomatic disc herniations. **Spine**, v. 20, n. 24, p. 2613–2625, 1995a.
- BOOS, N. et al. 1995 Volvo Award in clinical sciences. The diagnostic accuracy of magnetic resonance imaging, work perception, and psychosocial factors in identifying symptomatic disc herniations. **Spine**, v. 20, n. 24, p. 2613–2625, 1995b.

BROWN, J. Factors contributing to the development of low back pain in industrial workers. **American Industrial Hygiene Association Journal**, v. 36, n. 1, p. 26–31, 1975.

BUCKWALTER, J. A.; MANKIN, H. J. Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions. **Instructional Course Lectures**, v. 47, p. 477–486, 1998a.

BUCKWALTER, J. A.; MANKIN, H. J. Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. **Instructional Course Lectures**, v. 47, p. 487–504, 1998b.

BUCKWALTER, J. A.; MARTIN, J.; MANKIN, H. J. Synovial joint degeneration and the syndrome of osteoarthritis. **Instructional Course Lectures**, v. 49, p. 481–489, 2000.

BUCKWALTER, J.; MANKIN, H. Articular Cartilage. Part II: Degeneration and Osteoarthrosis, Repair, Regeneration, and Transplantation. **Instructional Course Lectures**, v. 47, p. 487–504, 1997.

BUCKWALTER, J.; MANKIN, H.; GRODZINSKY, A. Articular cartilage and osteoarthritis. **American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v. 54, p. 465–480, 2005.

BUTLER, D. et al. Discs degenerate before facets. **Spine**, v. 15, n. 2, p. 111–113, 1990.

CARLO, M. DEL; LOESER, R. F. Increased oxidative stress with aging reduces chondrocyte survival: correlation with intracellular glutathione levels. **Arthritis and Rheumatism**, v. 48, n. 12, p. 3419–30, dez. 2003.

CHAFFIN, D. B.; PARK, K. S. A longitudinal study of low-back pain as associated with occupational weight lifting factors. **American Industrial Hygiene Association journal**, v. 34, n. 2, p. 513–525, 1973.

CHANGOOR, A et al. Structural characteristics of the collagen network in human normal, degraded and repair articular cartilages observed in polarized light and scanning electron microscopies. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 19, n. 12, p. 1458–68, dez. 2011.

CHEN, A. C. et al. Induction of advanced glycation end products and alterations of the tensile properties of articular cartilage. **Arthritis and Rheumatism**, v. 46, n. 12, p. 3212–7, 2002.

COHEN, S.; RAJA, S. Pathogenesis, diagnosis, and treatment of lumbar zygapophysial (facet) joint pain. **Anesthesiology**, v. 106, n. 3, p. 591–614, mar. 2007.

DATTA, S. et al. Systematic assessment of diagnostic accuracy and therapeutic utility of lumbar facet joint interventions. **Pain Physician**, v. 12, p. 437–60, 2009.

DAVID-VAUDEY, E. et al. Fourier Transform Infrared Imaging of focal lesions in human osteoarthritic cartilage. **European Cells & Materials**, v. 10, p. 51–60; discussion 60, 2005.

DIJKGRAAF, L. C. et al. The Structure, Biochemistry, and Metabolism of Osteoarthritic Cartilage: A Review of the Literature. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 53, n. 10, p. 1182–1192, 1995.

DING, C. et al. Sex differences in knee cartilage volume in adults: role of body and bone size, age and physical activity. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 42, n. 11, p. 1317–23, nov. 2003.

DREYER, S. J.; DREYFUSS, P. H. Low back pain and the zygapophysial (facet) joints. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 77, n. 3, p. 290–300, 1996.

FERRUCCI, L. et al. Biomarkers of frailty in older persons. **Journal of endocrinological investigation**, v. 25, p. 10–15, 2002.

FLETCHER, G.; HAUGHTON, V. M. Age-related changes in the cervical facet joints: studies with cryomicrotomy, MR, and CT. **American Journal of Roentgenology**, v. 154, n. 4, p. 817–820, 1990.

FONTES, R. B. V. **O disco intervertebral humano nas regiões cervical e lombar : morfologia e envelhecimento**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2011.

FUJIWARA, A. et al. The relationship between facet joint osteoarthritis and disc degeneration of the lumbar spine: an MRI study. **European Spine Journal**, v. 8, n. 5, p. 396–401, 1999.

FUJIWARA, A. et al. The Effect of Disc Degeneration and Facet Joint Osteoarthritis on the Segmental Flexibility of the Lumbar Spine. **Spine**, v. 25, n. 23, p. 3036–3044, dez. 2000.

FUJIWARA, A. et al. Orientation and osteoarthritis of the lumbar facet joint. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 385, p. 88–94, 2001.

GARDNER, E. D.; GRAY, D. J.; O'RAHILLY, R. **Gardner-Gray-O'Rahilly anatomy : a regional study of human structure**. Philadelphia: Saunders, 1986.

GILBODY, J. et al. The use and effectiveness of cadaveric workshops in higher surgical training: a systematic review. **Annals of the Royal College of Surgeons of England**, v. 93, n. 5, p. 347–52, jul. 2011.

GOEL, V. K. et al. A combined finite element and optimization investigation of lumbar spine mechanics with and without muscles. **Spine**, v. 18, p. 1531–1541, 1993.

GOPINATHAN, A.; PEH, W. C. G. Image-guided facet joint injection. **Biomedical Imaging and Intervention Journal**, v. 7, n. 1, 2011.

GRGIC, V. [Lumbosacral facet syndrome: functional and organic disorders of lumbosacral facet joints]. **Lijec Vjesn**, v. 133, n. 9-10, p. 330–336, 2011.

GROGAN, J. et al. Lumbar facet joint tropism does not accelerate degeneration of the facet joints. **American Journal of Neuroradiology**, v. 18, n. 7, p. 1325–9, ago. 1997.

GUERNE, P. A. et al. Growth factor responsiveness of human articular chondrocytes in aging and development. **Arthritis and Rheumatism**, v. 38, n. 7, p. 960–968, 1995.

GUERNE, P. A.; SUBLET, A.; LOTZ, M. Growth factor responsiveness of human articular chondrocytes: distinct profiles in primary chondrocytes, subcultured chondrocytes, and fibroblasts. **Journal of Cellular Physiology**, v. 158, n. 3, p. 476–484, 1994.

GUILAK, F. et al. Mechanical and biochemical changes in the superficial zone of articular cartilage in canine experimental osteoarthritis. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 12, n. 4, p. 474–484, 1994.

GUNDERSEN, H. J. G. et al. The efficiency of systematic sampling in stereology - Reconsidered. **Journal of Microscopy**, v. 193, p. 199–211, 1999.

HENZGEN, S. et al. Degradation of articular cartilage during the progression of antigen-induced arthritis in mice. A scanning and transmission electron microscopic study. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 48, n. 4, p. 255–63, jun. 1996.

HOY, D. et al. The global burden of low back pain: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 73, n. 6, p. 968–74, 2014a.

HOY, D. et al. The global burden of neck pain: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 73, n. 7, p. 1309–1315, 2014b.

HUGHES, L. C.; ARCHER, C. W.; AP GWYNN, I. The ultrastructure of mouse articular cartilage: Collagen orientation and implications for tissue functionality. A polarised light and scanning electron microscope study and review. **European Cells and Materials**, v. 9, p. 68–84, 2005.

JUNQUEIRA, L. C. U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R. R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **The Histochemical Journal**, v. 11, p. 447–455, 1979.

KÄÄB, M. J. et al. Effect of mechanical load on articular cartilage collagen structure: a scanning electron-microscopic study. **Cells, Tissues, Organs**, v. 167, n. 2-3, p. 106–20, jan. 2000.

KELLGREN, J. H.; LAWRENCE, J. S. Radiological assessment of osteo-arthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 16, n. 4, p. 494–502, dez. 1957.

KETTLER, A.; WERNER, K.; WILKE, H. J. Morphological changes of cervical facet joints in elderly individuals. **European Spine Journal**, v. 16, n. 7, p. 987–992, jul. 2007.

KETTLER, A.; WILKE, H.-J. Review of existing grading systems for cervical or lumbar disc and facet joint degeneration. **European Spine Journal**, v. 15, n. 6, p. 705–18, jun. 2006.

KIRKALDY-WILLIS, W. H. et al. Pathology and pathogenesis of lumbar spondylosis and stenosis. **Spine**, v. 3, p. 319–328, 1978.

KUSAKABE, T. et al. Facet cyst in the lumbar spine: radiological and histopathological findings and possible pathogenesis. **Journal of neurosurgery. Spine**, v. 5, n. 5, p. 398–403, nov. 2006.

LEINO, P. Depressive and distress symptoms as predictors of low back pain , neck-shoulder pain, and other musculoskeletal morbidity : a lo-year follow-up of metal industry employees. **Pain**, v. 53, n. 1, p. 89–94, 1993.

LI, J. et al. Prevalence of facet joint degeneration in association with intervertebral joint degeneration in a sample of organ donors. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 29, n. 8, p. 1267–74, ago. 2011.

LIPPIELLO, L.; HALL, D.; MANKIN, H. Collagen synthesis in normal and osteoarthritic human cartilage. **Journal of Clinical Investigation**, v. 59, n. 1976, p. 28–30, 1977.

LOESER, R. F. Aging and osteoarthritis: the role of chondrocyte senescence and aging changes in the cartilage matrix. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 17, n. 8, p. 971–9, ago. 2009.

LOTZ, M.; LOESER, R. F. Effects of aging on articular cartilage homeostasis. **Bone**, v. 51, n. 2, p. 241–248, 2012.

LUNA, L. G. **Histologic staining methods of the armed forces institute of pathology**. 3. ed. New York: McGraw-Will, 1968. p. 62

MANCHIKANTI, L. et al. Evaluation of the relative contributions of various structures in chronic low back pain. **Pain physician**, v. 4, p. 308–316, 2001.

MANCHIKANTI, L. et al. Prevalence of Facet Joint Pain in Chronic Low Back Pain in Postsurgical Patients by Controlled Comparative Local Anesthetic Blocks. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 88, p. 449–455, 2007.

MANCHIKANTI, L. et al. Age-related prevalence of facet-joint involvement in chronic neck and low back pain. **Pain physician**, v. 11, n. 1, p. 67–75, jan. 2008.

MANCHUKONDA, R. et al. Facet joint pain in chronic spinal pain: an evaluation of prevalence and false-positive rate of diagnostic blocks. **Journal of spinal disorders & techniques**, v. 20, p. 539–545, 2007.

MANKIN, H. J. et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 53, n. 3, p. 523–37, 1 abr. 1971.

MARTIN, J.; BUCKWALTER, J. Aging, articular cartilage chondrocyte senescence and osteoarthritis. **Biogerontology**, v. 3, p. 257–264, 2002.

MASTER, D. L.; EUBANKS, J. D.; AHN, N. U. Prevalence of concurrent lumbar and cervical arthrosis: an anatomic study of cadaveric specimens. **Spine**, v. 34, n. 8, p. E272–5, 15 abr. 2009.

MEACHIM, G.; COLLINS, D. H. Cell Counts of Normal and Osteo-Arthritic Articular Cartilage in Relation to the Uptake of Sulphate ($^{35}\text{SO}_4$) in vitro. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 21, n. 1, p. 45–50, 1 mar. 1962.

MITSUYAMA, H. et al. Calcification of human articular knee cartilage is primarily an effect of aging rather than osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 15, n. 5, p. 559–65, maio 2007.

MOORE, K. L.; DALLEY, A. F. **Anatomia Orientada para a Clínica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

ODDIS, C. V. New perspectives on osteoarthritis. **The American Journal of Medicine**, v. 100, p. 10S–15S, 1996.

OLMEZ, N.; SCHUMACHER, H. R. Crystal deposition and osteoarthritis. **Current Rheumatology Reports**, v. 1, n. 2, p. 107–111, dez. 1999.

ONYEKWELU, I.; GOLDRING, M. B.; HIDAKA, C. Chondrogenesis, joint formation, and articular cartilage regeneration. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 107, n. 3, p. 383–92, 1 jun. 2009.

OTSUKA, Y. et al. In vivo measurement of lumbar facet joint area in asymptomatic and chronic low back pain subjects. **Spine**, v. 35, n. 8, p. 924–8, 15 abr. 2010.

PANJABI, M. M. et al. Articular facets of the human spine. Quantitative three-dimensional anatomy. **Spine**, v. 18, p. 1298–1310, 1993.

PANULA, H. E. et al. Articular cartilage superficial zone collagen birefringence reduced and cartilage thickness increased before surface fibrillation in experimental osteoarthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 57, n. 4, p. 237–245, 1 abr. 1998.

PARK, M. S. et al. Facet joint degeneration of the cervical spine: a computed tomographic analysis of 320 patients. **Spine**, v. 39, n. 12, p. E713–8, 20 maio 2014.

PICKAR, J. G. Neurophysiological effects of spinal manipulation. **The Spine Journal**, v. 2, n. 5, p. 357–371, set. 2002.

POOLE, C. A. Articular cartilage chondrons: form, function and failure. **Journal of Anatomy**, v. 191 (Pt 1, p. 1–13, jul. 1997.

PUNNETT, L. et al. Estimating the global burden of low back pain attributable to combined occupational exposures. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 48, n. 6, p. 459–69, dez. 2005.

QUINTERO, M. et al. Cellular aspects of the aging of articular cartilage. I. Condylar cartilage with a normal surface sampled from normal knees. **Revue du Rhumatisme et des Maladies Ostéo-articulaires**, v. 51, n. 7-8, p. 375–9, 1984.

RAHAMIM, E. et al. Electron microscope and biochemical observations of the surface active phospholipids on the articular surfaces and in the synovial fluid of the temporomandibular joint: A preliminary investigation. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 59, p. 1326–1332, 2001.

RESPONTE, D. J.; NATOLI, R. M.; ATHANASIOU, K. A. Collagens of articular cartilage: structure, function, and importance in tissue engineering. **Critical Reviews in Biomedical Engineering**, v. 35, n. 5, p. 363–411, jan. 2007.

REULER, J. B. Low Back Pain. **The Western Journal of Medicine**, v. 143, n. August, p. 259–265, 1985.

REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. **The Journal of Cell Biology**, v. 18, p. 208–213, 1963.

ROSEN, F. et al. Differential effects of aging on human chondrocyte responses to transforming growth factor beta: increased pyrophosphate production and decreased cell proliferation. **Arthritis and Rheumatism**, v. 40, n. 7, p. 1275–1281, 1997.

ROSSE, C.; GADDUM-ROSSE, P. **Hollinshead - Tratado de Anatomia**. Rio de Janeiro: Revinter, 2006.

ROSSI, E. Osteoarticular system aging. **Einstein**, v. 6, n. Supl 1, p. 7–12, 2008.

RUBIN, D. I. Epidemiology and Risk Factors for Spine Pain. **Neurologic Clinics**, v. 25, n. 2, p. 353–371, 2007.

SATO, S. et al. Morphometrical study of the joint surface and capsule of the lumbar zygapophysial joint with special reference to their laterality. **Okajimas Folia Anatomica Japonica**, v. 79, n. 1, p. 43–54, 2002.

SCHWARZER, A. C. et al. The relative contributions of the disc and zygapophyseal joint in chronic low back pain. **Spine**, v. 19, p. 801–806, 1994.

SCOTCHFORD, C. A.; ALI, S. Y. Association of magnesium whitlockite crystals with lipid components of the extracellular matrix in human articular cartilage. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 5, p. 107–119, 1997.

SHEPARD, N.; MITCHELL, N. The localization of proteoglycan by light and electron microscopy using Safranin O. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 54, n. 3, p. 451–460, mar. 1976.

SHIMIZU, C. et al. Method of histomorphometric assessment of glycosaminoglycans in articular cartilage. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 15, n. 5, p. 670–4, set. 1997.

SIIVOLA, S. M. et al. MRI changes of cervical spine in asymptomatic and symptomatic young adults. **European spine journal**, v. 11, n. 4, p. 358–63, ago. 2002.

STOCKWELL, R. A. The cell density of human articular and costal cartilage. **Journal of Anatomy**, v. 101, n. Pt 4, p. 753–63, set. 1967.

SWANEPOEL, M. W.; ADAMS, L. M.; SMEATHERS, J. E. Human lumbar apophyseal joint damage and intervertebral disc degeneration. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 54, n. 3, p. 182–8, mar. 1995.

TANNO, I. et al. Which portion in a facet is specifically affected by articular cartilage degeneration with aging in the human lumbar zygapophysial joint? **Okajimas Folia Anatomica Japonica**, v. 80, n. 1, p. 29–34, maio 2003.

TEMPLE-WONG, M. M. et al. Biomechanical, structural, and biochemical indices of degenerative and osteoarthritic deterioration of adult human articular cartilage of the femoral condyle. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 17, n. 11, p. 1469–76, nov. 2009.

TERKELTAUB, R. A. What does cartilage calcification tell us about osteoarthritis? **The Journal of Rheumatology**, v. 29, n. 3, p. 411–415, 2002.

THAMBYAH, A. et al. Macro-, micro- and ultrastructural investigation of how degeneration influences the response of cartilage to loading. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 5, n. 1, p. 206–15, jan. 2012.

TISCHER, T. et al. Detailed pathological changes of human lumbar facet joints L1-L5 in elderly individuals. **European Spine Journal**, v. 15, n. 3, p. 308–15, mar. 2006.

TUMAN, K. J.; IM, H. NIH Public Access. **Changes**, v. 63, n. 10, p. 2966–2973, 2012.

UHRENHOLT, L. et al. Degenerative and traumatic changes in the lower cervical spine facet joints. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, v. 37, n. 5, p. 375–84, 2008.

VARLOTTA, G. P. et al. The lumbar facet joint: A review of current knowledge: Part 1: Anatomy, biomechanics, and grading. **Skeletal Radiology**, v. 40, p. 13–23, 2011.

VIGNON, E. et al. The cell density of human femoral head cartilage. **Clinical orthopaedics and Related Research**, p. 303–8, 1976.

VIGNON, E.; ARLOT, M.; HARTMANN, D. Hypertrophic repair of articular cartilage in experimental osteoarthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 42, n. December 1981, p. 82–88, 1983.

WAGGERSHAUSER, T.; SCHWARZKOPF, S.; REISER, M. Facet blockade, peridural and periradicular pain therapy. **Der Radiologe**, v. 46, p. 520–526, 2006.

WANG, J.; YANG, X. Age-related changes in the orientation of lumbar facet joints. **Spine**, v. 34, n. 17, p. E596–8, 1 ago. 2009.

WANG, Z.; YU, S.; HAUGHTON, V. M. Age-related changes in the lumbar facet joints. **Clinical Anatomy**, v. 2, p. 55–62, 1989.

WILKE, H.-J.; ZANKER, D.; WOLFRAM, U. Internal morphology of human facet joints: comparing cervical and lumbar spine with regard to age, gender and the vertebral core. **Journal of anatomy**, v. 220, n. 3, p. 233–41, mar. 2012.

WONG, M.; CARTER, D. . Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective. **Bone**, v. 33, n. 1, p. 1–13, jul. 2003.

YAHIA, L. H.; GARZON, S. Structure on the capsular ligaments of the facet joints. **Annals of Anatomy**, v. 175, p. 185–188, 1993.

YEH, T.-T. et al. Intra-articular injection of collagenase induced experimental osteoarthritis of the lumbar facet joint in rats. **European spine journal**, v. 17, n. 5, p. 734–42, maio 2008.

YOGANANDAN, N. et al. Anatomic study of the morphology of human cervical facet joint. **Spine**, v. 28, n. 20, p. 2317–23, 15 out. 2003.

YONG-HING, K.; KIRKALDY-WILLIS, W. H. The pathophysiology of degenerative disease of the lumbar spine. **The Orthopedic Clinics of North America**, v. 14, p. 491–504, 1983.

YUDOH, K. et al. Potential involvement of oxidative stress in cartilage senescence and development of osteoarthritis: oxidative stress induces chondrocyte telomere instability and downregulation of chondrocyte function. **Arthritis Research & Therapy**, v. 7, n. 2, p. R380–91, jan. 2005.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. [s.l: s.n.]. p. 663

ZHANG, Y.; JORDAN, J. M. Epidemiology of osteoarthritis. **Clinics in geriatric medicine**, v. 26, n. 3, p. 355–69, ago. 2010.

ANEXOS

Anexo I - Aprovação do trabalho de Fontes (2011) pela Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB/USP)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - cep. 05508-900 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (11) 3091.7733 telefax : (55) (11) 3091-7438
e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 14 de novembro de 2007.

PARECER 811/CEP

Prezado Senhor,

Atendendo sua solicitação, a *Comissão de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do ICB*, em sua 80ª reunião realizada em 13.11.07, analisou o projeto de sua responsabilidade intitulado: *"Repercussões morfológicas do envelhecimento nos discos intervertebrais cervicais e lombares humanos"*.

Informo a V.Sa. que, após análise e discussão o referido projeto foi **aprovado** por esta Comissão.

Lembramos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou final), de acordo com a resolução 196/06 do Conselho Nacional da Saúde, item IX.2 letra c.

O primeiro relatório deverá ser encaminhado à Secretaria deste CEP em **13 de novembro de 2008**.

Atenciosamente,

Prof. Dr. LUIZ VICENTE RIZZO
Coordenador da Comissão de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB /USP

Ilmo. Sr.
RICARDO BRAGANÇA DE VASCONCELLOS FONTES
Departamento de Anatomia
Instituto de Ciências Biomédicas -USP

ISSUES, LOGY COURSE

you are looking for a random number R fulfilling $1 \leq R \leq 57$.

- 1: Take the first unused digit in the first (unnumbered) block and cross it out.
- 2: In the block with that number read the unused digits in pairs until a pair fulfill the criterion. (= 26)
Cross out all read pairs. If the upper limit of the number you are looking for is => 100 you deal with triplets in stead, etc.

Random Numbers'

71137	71138	71139	71140	71141	71142	71143	71144	71145	71146	71147	71148	71149	71150	71151	71152	71153	71154	71155	71156	71157	71158	71159	71160	71161	71162	71163	71164	71165	71166	71167	71168	71169	71170	71171	71172	71173	71174	71175	71176	71177	71178	71179	71180	71181	71182	71183	71184	71185	71186	71187	71188	71189	71190	71191	71192	71193	71194	71195	71196	71197	71198	71199	71200	71201	71202	71203	71204	71205	71206	71207	71208	71209	71210	71211	71212	71213	71214	71215	71216	71217	71218	71219	71220	71221	71222	71223	71224	71225	71226	71227	71228	71229	71230	71231	71232	71233	71234	71235	71236	71237	71238	71239	71240	71241	71242	71243	71244	71245	71246	71247	71248	71249	71250	71251	71252	71253	71254	71255	71256	71257	71258	71259	71260	71261	71262	71263	71264	71265	71266	71267	71268	71269	71270	71271	71272	71273	71274	71275	71276	71277	71278	71279	71280	71281	71282	71283	71284	71285	71286	71287	71288	71289	71290	71291	71292	71293	71294	71295	71296	71297	71298	71299	71300	71301	71302	71303	71304	71305	71306	71307	71308	71309	71310	71311	71312	71313	71314	71315	71316	71317	71318	71319	71320	71321	71322	71323	71324	71325	71326	71327	71328	71329	71330	71331	71332	71333	71334	71335	71336	71337	71338	71339	71340	71341	71342	71343	71344	71345	71346	71347	71348	71349	71350	71351	71352	71353	71354	71355	71356	71357	71358	71359	71360	71361	71362	71363	71364	71365	71366	71367	71368	71369	71370	71371	71372	71373	71374	71375	71376	71377	71378	71379	71380	71381	71382	71383	71384	71385	71386	71387	71388	71389	71390	71391	71392	71393	71394	71395	71396	71397	71398	71399	71400	71401	71402	71403	71404	71405	71406	71407	71408	71409	71410	71411	71412	71413	71414	71415	71416	71417	71418	71419	71420	71421	71422	71423	71424	71425	71426	71427	71428	71429	71430	71431	71432	71433	71434	71435	71436	71437	71438	71439	71440	71441	71442	71443	71444	71445	71446	71447	71448	71449	71450	71451	71452	71453	71454	71455	71456	71457	71458	71459	71460	71461	71462	71463	71464	71465	71466	71467	71468	71469	71470	71471	71472	71473	71474	71475	71476	71477	71478	71479	71480	71481	71482	71483	71484	71485	71486	71487	71488	71489	71490	71491	71492	71493	71494	71495	71496	71497	71498	71499	71500	71501	71502	71503	71504	71505	71506	71507	71508	71509	71510	71511	71512	71513	71514	71515	71516	71517	71518	71519	71520	71521	71522	71523	71524	71525	71526	71527	71528	71529	71530	71531	71532	71533	71534	71535	71536	71537	71538	71539	71540	71541	71542	71543	71544	71545	
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	--