

DIEGO UBRIG MUNHOZ

**Avaliação da histoarquitetura e fisiologia dos componentes
articulares: comparação entre lesões condrais focais e
osteoartrite**

São Paulo

2025



DIEGO UBRIG MUNHOZ

**Avaliação da histoarquitetura e fisiologia dos componentes
articulares: comparação entre lesões condrais focais e
osteoartrite**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Riccardo Gomes Gobbi

São Paulo

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Munhoz, Diego Ubrig

Avaliação da histoarquitetura e fisiologia dos componentes articulares : comparação entre lesões condrais focais e osteoartrite / Diego Ubrig Munhoz; Riccardo Gomes Gobbi, orientador. -- São Paulo, 2025.

Tese (Doutorado) -- Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2025.

1.Cartilagem 2.Osteoartrite do joelho 3.Sinovite
4.Remodelação óssea 5.Colágeno 6.Proteoglicanas I.Gobbi,
Riccardo Gomes, orient. II.Título

USP/FM/DBD-397/25

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

*Aos meus pais, **Wanderley**, cujo esforço e apoio permearam toda a minha trajetória e **Gerti** (in memoriam), que me ilumina até hoje.*

*A minha esposa **Paula**, a melhor decisão da minha vida e melhor companheira que poderia ter.*

*Ao meu filho **Benício**, que me motiva diariamente a ser uma pessoa melhor.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Riccardo Gomes Gobbi, meu orientador, pelo ensinamento, pela inspiração e pela confiança constante.

Aos Profs. Olavo Pires de Camargo, Tarcísio Eloy Pessoa de Barros Filho e Alexandre Fogaça Cristante; Professores Titulares do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, e ao Prof. Gilberto Luís Camanho, Ex-Professor Titular do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela possibilidade de aprimorar minha formação acadêmica.

À Profa. Walcy Paganelli Rosolia Teodoro, pela paciência, pelos ensinamentos e pela coorientação ao longo de todo o projeto

À Profa. Vera Lúcia Capellozzi, pela orientação e participação essencial ao projeto.

À Dra. Camila Machado Baldavira, por toda ajuda, pelas sugestões, pela análise estatística e pelo suporte ao projeto como um todo.

À Profa. Ana Paula Velosa, à Dra. Sandra de Moraes Fernezhlian, a Jaine Alves Almeida, a Alexandre Muxfeldt Ab'Saber e a toda a equipe do LIM 17 do Departamento de Reumatologia e do Laboratório de Histomorfometria e Genômica de Pulmão, e ao Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP, pelo apoio fundamental na execução de diversos passos do trabalho.

Ao Prof. Marco Kawamura Demange e Dr. Pedro Nogueira Giglio, pelo apoio ao projeto.

Aos Drs. Roberto Freire da Mota e Albuquerque, Márcia Uchoa de Rezende, José Ricardo Pécora, Fábio Janson Angelini, Luís Eduardo Passarelli Tirico, Camilo Partezani Helito e Marcelo Batista Bonadio, pelo convívio no grupo de joelho, aprendizado e apoio.

Ao Dr. Boudewijn Yohannes Emille Marie Deckers, pelo estímulo ao projeto e pela referência profissional.

A todos os colegas médicos e residentes que passaram pelo grupo de joelho e que, de alguma forma, participaram de uma das fases deste estudo, em especial, aos Drs. Gabriel Ribeiro, André Giardino, Livia Dau Videira, Lucas de Faria, Bruno Butturi, Diego Martuscelli, Marcos Bruxelas, Daniel Leal, Henrique Fuller, Bruno Kubota e Matheus Merino.

À Tânia Fernanda Cardoso, pela ajuda ao projeto.

Às secretarias Tânia Borges e Rosana Moreno do programa de pós-graduação e às bibliotecárias.

A todos os pacientes que participaram desta tese, pela confiança e pela oportunidade de cuidar deles.

NORMALIZAÇÕES ADOTADAS

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. *Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: parte IV (Vancouver) / Sistema Integrado de Bibliotecas da USP*; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, coordenadora; Maria Claudia Pestana; Maria Cristina Cavarette Dziabas; Eliana Maria Garcia; Maria Fatima dos Santos, Maria Marta Nascimento; Suely Campos Cardoso. 3a ed. ed. amp. mod. São Paulo: SIBI/USP. 2016. (Caderno de estudos).

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Estrutura: Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig L, Lijmer JG, Moher D, Rennie D, de Vet HC, Kressel HY, Rifai N, Golub RM, Altman DG, Hooft L, Korevaar DA, Cohen JF; STARD Group. STARD 2015: an updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies. *Radiology*. 2015 Dec;277(3):826-32. doi: 10.1148/radiol.2015151516.

Nomes das estruturas anatômicas baseados na *Nomina Anatômica*, 5a ed. Rio de Janeiro, 1984.

Vocabulário ortográfico da língua portuguesa, 5a edição, 2009, elaborado pela Academia Brasileira de Letras, em consonância com o Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa, promulgado pelo decreto no 6583/2008.

RESUMO

Munhoz DU. Avaliação da histoarquitetura e fisiologia dos componentes articulares: comparação entre lesões condrais focais e osteoartrite [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2025.

Introdução: Lesões da cartilagem articular compreendem um espectro de entidades clínicas que variam de lesões condrais focais (LCF) a osteoartrite avançada (OA). Alterações estruturais da matriz extracelular (MEC), como perda de proteoglicanos, expressão de diferentes tipos de colágenos e mudança de fenótipo celular, são encontradas na cartilagem associadas à perda de homeostase articular envolvida na patogênese dessas doenças. Além disso, outros componentes articulares como o osso subcondral e a sinóvia, contribuem para a evolução do processo degenerativo. A diferenciação clínica entre as entidades nem sempre é clara, sendo o conhecimento estrutural destes componentes de grande importância para se associar a melhores opções terapêuticas. **Objetivo:** Nossa proposta neste estudo é realizar um perfil morfológico comparativo da cartilagem, osso subcondral e tecido sinovial em casos de LCF e OA, na tentativa de se identificar marcadores precoces do processo degenerativo. **Métodos:** Neste estudo comparativo transversal, biópsias osteocondrais e sinoviais foram coletadas durante procedimentos cirúrgicos de pacientes com LCF (n = 9), OA (n = 11) e de indivíduos controles (n = 4). A cartilagem foi avaliada pelo escore de OARSI, perda de proteoglicanas pela Safranina O-*Fast-green*, quantificação da celularidade, e dos colágenos dos tipos I e II por imunofluorescência, assim como o osso subcondral pelo escore de Aho. Ainda, biópsias sinoviais foram submetidas à avaliação pelo escore de Krenn, expressão do colágeno dos tipos I, III e V e expressão de perlecan e decorina. **Resultados:** Os grupos LCF e OA se mostraram similares em todos os parâmetros osteocondrais. O grupo OA apresentou valores menores de colágeno I e III no tecido sinovial comparado ao grupo LCF. O grupo-controle apresentou melhor pontuação no escore de osso subcondral e diminuição da perda de proteoglicanos, quando comparado aos outros grupos. Os parâmetros de celularidade, escore de OARSI, colágeno I e II na cartilagem, escore de Krenn e colágeno V na sinóvia, foram similares em todos os grupos. **Conclusão:** O presente estudo demonstra que as alterações estruturais na cartilagem articular e no osso subcondral do grupo LCF, são semelhantes às aquelas observadas na OA. No entanto, o colágeno I e III apresentam-se mais expressos no tecido sinovial do grupo LCF, o que sugere uma ativação precoce do remodelamento sinovial e, consequentemente, uma evolução do processo degenerativo cartilaginoso.

Palavras-chave: Cartilagem. Osteoartrite do joelho. Sinovite. Remodelação óssea. Colágeno. Proteoglicanas.

ABSTRACT

Munhoz DU. Evaluation of the histoarchitecture and physiology of joint components: comparison between focal chondral lesions and osteoarthritis [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2025.

Introduction: Articular cartilage lesions encompass a spectrum of clinical entities ranging from focal chondral lesions (FCL) to advanced osteoarthritis (OA). Changes in extracellular matrix (ECM) structure such as proteoglycan loss, different collagen expression, and phenotypic shifts in chondrocytes are observed in cartilage and are associated with the disruption of joint homeostasis involved in the pathogenesis of these conditions. Furthermore, other articular components such as the subchondral bone and synovium also play significant roles during the degenerative process. Clinical differentiation between these entities is not always straightforward, and improved structural knowledge of this components may influence therapeutic decision-making. **Objective:** The proposal of this study is to perform a comparative morfological profile of cartilage, subchondral bone, and synovial tissue in cases of focal chondral lesions (FCL) and osteoarthritis (OA), aiming to identify early markers of degenerative process. **Methods:** In this cross-sectional comparative study, osteochondral and synovial biopsies were obtained during surgical procedures from patients with FCL (n = 9), OA (n = 11), and control individuals (n = 4). Cartilage was assessed by the OARSI score, proteoglycan loss via Safranin'O-*fast-green* staining, cellularity count, and expression of collagen types I and II, just as subchondral bone was evaluated using a Aho histological scoring system. Furthermore, synovial biopsies were analyzed using the Krenn score, expression of collagen types I, III, and V, and expression. of perlecan and decorin. **Results:** The FCL and OA groups showed similar results across all osteochondral parameters. The OA group presented significantly lower levels of collagen types I and III in the synovial tissue compared to the FCL group. The control group exhibited significantly better subchondral bone scores and reduced proteoglycan loss compared to the other groups. Cartilage cellularity, OARSI scores, collagens II and II in cartilage, Krenn scores, and synovial collagen V levels were similar across all groups. **Conclusion:** The present study demonstrates that the structural changes in the articular cartilage and subchondral bone of the FCL group are similar to those observed in OA. However, type I and III collagens are more highly expressed in the synovial tissue of the FCL group, suggesting an early activation of synovial remodeling and, consequently, a progression of the cartilage degenerative process.

Keywords: Cartilage. Knee osteoarthritis. Synovitis. Bone remodelling. Collagen. Proteoglycans.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Imagem ilustrativa de exames radiológicos nos casos selecionados para o grupo LCF. Observam-se variedades de lesões condrais observadas pela descontinuidade do tecido condral (grau III ou grau IV), em alguns casos, já com edema ósseo associado. Nota-se ausência de artrose radiográfica na terceira coluna.	50
Figura 2 -	Imagens radiográficas demonstrativas dos pacientes selecionados para o grupo OA. Nota-se diminuição de espaço articular, osteófitos, esclerose subcondral e deformidades ósseas.	51
Figura 3 -	Identificação do método para extração de material osteocondral. Observa-se agulha de biópsia utilizada (a), posicionamento para retirada de biópsia perpendicular à superfície (b) e material extraído para análise (c).	53
Figura 4 -	Imagem comparativa entre lesão pré e pós-biópsia de lesão osteocondral. Lesão condral pré-biópsia (a) e aspecto intralesional de sítio de biópsia (b).	53
Figura 5 -	Imagem demonstrativa dos locais de biópsia nos casos de lesão condral focal no centro(a) e borda/periferia da lesão(b).	54
Figura 6 -	Imagem demonstrativa nos casos do grupo OA. Observa-se na imagem o processo de retirada de amostra osteocondral.	54
Figura 7 -	Demonstrativo de quantificação de perda de proteoglicanos/coloração azul em (a) por meio de densidade de impregnação. Observa-se a quantificação de área corada de perda representada pela marcação em amarelo (b).	59
Figura 8 -	Imagens representativas de alguns casos de LCF por artroscopia e sob visualização direta (última foto). Notam-se casos com acometimento grau III ou IV.	67
Figura 9 -	Imagens intraoperatórias de alguns casos representativos do grupo OA. Nota-se intensa degeneração, osteófitos, perda condral difusa e extensa, e formação de tecido cicatricial macroscópico.	67
Figura 10 -	Organização estrutural da matriz extracelular da cartilagem.....	70
Figura 11 -	Atribuição dos escores de OARSI na cartilagem para os diferentes grupos avaliados	71
Figura 12 -	Atribuição dos escores de osso subcondral na região mais acometida para os diferentes grupos avaliados	72
Figura 13 -	Atribuição dos escores de osso subcondral na região menos acometida para os diferentes grupos avaliados	72

Figura 14 -	Distribuição dos escores de osso subcondral intragrupo	74
Figura 15 -	Quantificação da celularidade total na cartilagem	75
Figura 16 -	Perda de proteoglicanos na matriz extracelular da cartilagem. Nota-se maior proporção de tons azulados nos grupos LC e OA. O grupo OA apresenta diferença em relação ao grupo-controle conforme indicado no gráfico.	76
Figura 17 -	Expressão de colágenos do tipo I(a) e II(b) na matriz extracelular da cartilagem. Observa-se entre os grupos marcação similar de colágeno I entre os grupos na imunofluorescência, confirmado pelo gráfico de valores. Observa-se para o colágeno II maior marcação de colágeno II no grupo-controle conforme gráfico, sem diferença estatística.	77
Figura 18 -	Organização estrutural da matriz extracelular sinovial.....	78
Figura 19 -	Gráfico de distribuição dos escores de Krenn.....	79
Figura 20 -	Imunofenotipagem dos proteoglicanos perlecan e decorina na matriz extracelular sinovial	80
Figura 21 -	Expressão de colágenos do tipo I, III e V na matriz extracelular da sinóvia	81
Figura 22 -	Desenho comparativo das alterações encontradas nos grupos OA e LCF	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Perfil clínico e epidemiológico dos pacientes por grupo	52
Tabela 2 -	Escore histopatológico de cartilagem da OARSI.....	57
Tabela 3 -	Escore de Krenn para camada de revestimento sinovial.....	61
Tabela 4 -	Escore de Krenn para densidade de células	61
Tabela 5 -	Escore de Krenn para infiltrado inflamatório	61
Tabela 6 -	Escore de Krenn para graus de sinovite	62
Tabela 7 -	Localização das biópsias, classificação de lesões e tratamento realizado	68
Tabela 8 -	Avaliação da expressão (em %) da mediana de marcadores de colágeno sinovial entre os grupos Controle, LCF e Artrose	82
Tabela 9 -	Comparação da expressão mediana da perda de matriz e celularidade de cartilagem entre os grupos Controle, LCF e Artrose	82

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

35SO ₄	Sulfato
ACI	Implante autólogo de condrócitos (<i>Autologous Chondrocyte Implantation</i>)
ADAM12	<i>Disintegrin and Metalloproteinase 12</i>
AINE	Anti-inflamatórios não Esteroidais
AR	Artrite Reumatoide
ARGS	Alanina-arginina-glicina-serina
ATJ	Artroplastia Total de Joelho
ATX	Enzima Autotaxina
BMSC	Células Estromais da Medula Óssea (<i>Bone Marrow Stromal Cells</i>)
BSA	Albumina de Soro Bovino
CGRP	Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina (<i>Calcitonin Gene Related Peptide</i>)
COACH	<i>Osteoarthritis Cartilage Histopathology</i>
COL	Colágeno
COMP	Proteína da Matriz Oligomérica da Cartilagem
CTX-II	Telopectídeo C-terminal Reticulado do Colágeno Tipo II
DDR2	Receptor de Domínio de Discoidina 2
dGEMRIC	<i>Delayed Gadolinium-Enhanced MRI of Cartilage</i>
DLP	Dislipidemia
DM	Diabetes Mellitus Tipo 2
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FACS	<i>Fluorescence Activated Cell Sorter</i>
FGF	Fator de Crescimento de Fibroblastos (<i>Fibroblast Growth Factor</i>)
FLS	<i>Fibroblast-like Synoviocyte</i>
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FS	Fibrose Sinovial
GelMA	Gelatina Metacrilato
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HC	Hospital das Clínicas
HE	Hematoxilina e Eosina

HELIX	<i>Urinary Type II Collagen Helical Peptide</i>
HHGS	<i>Histochemical Grading System</i>
HPB	Hiperplasia Prostática Benigna
HYBID	<i>Hyaluronan Binding Protein Involved in Hyaluronan Depolymerization</i>
ICRS	<i>International Cartilage Regeneration and Joint Preservation Society</i>
IGF-I	<i>Insulin Growth Factor I</i>
IIINys	Colágeno tipo III N-telopeptídeo
IIQ	Intervalo Interquartil
IL	Interleucina
IMSYC	<i>Immunologic Synovitis Score</i>
IOT	Instituto de Ortopedia e Traumatologia
JAK	Janus Kinase
JOC	Junção Osteocondral
KL	Kellgren-Lawrence
LCA	Ligamento Cruzado Anterior
LCF	Lesão Condral Focal
LCM	Ligamento Colateral Medial
LCP	Ligamento Cruzado Posterior
LIM	Laboratório de Investigação Médica
LIPUS	<i>Low-intensity Pulsed Ultrasound</i>
LPA	Ácido Lisofosfatídico (<i>Lysophosphatidic Acid</i>)
MEC	Matriz Extracelular
MMP-3	Metaloproteinase de Matriz 3
MTX	Metotrexato
NITEGE	Neoepítipo de Agrecan
NO	Óxido Nítrico
OA	Osteoartrite
OARSI	<i>Osteoarthritis Research Society International</i>
PBS	Solução Salina Tamponada com Fosfato
PG	Proteoglicanos
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
sCT	Calcitonina de salmão
SOX9	<i>SRY-Box Transcription Factor 9</i>
TBS	Solução Salina Tamponada com Tris-fosfato

TGF- β	<i>Transforming Growth Factor Beta</i>
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TUNEL	<i>Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick End Labeling</i>
USP	Universidade de São Paulo
WOMAC	<i>Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index</i>
α -SMA	Alfa-actina do Músculo Liso

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	22
2.1	OBJETIVO GERAL.....	22
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3	REVISÃO DA LITERATURA	24
4	MÉTODOS.....	47
4.1	DESENHO, LOCAL E FORMATO DO ESTUDO	47
4.2	CÁLCULO AMOSTRAL E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	47
4.2.1	Cálculo amostral.....	47
4.2.2	Critérios de inclusão.....	47
4.2.3	Critérios de exclusão	49
4.3	CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO.....	49
4.3.1	Grupo LCF.....	49
4.3.2	Grupo OA.....	50
4.3.3	Grupo controle.....	51
4.4	PROCEDIMENTOS, COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS	52
4.4.1	Biópsias de unidade osteocondral	52
4.4.2	Utilização de amostras para análise separada de escore de osso e cartilagem.....	55
4.4.3	Biópsia sinovial	55
4.4.4	Cuidados pós-operatórios	56
4.5	LOCAIS DE COLETA, GERENCIAMENTO E ANÁLISE DE AMOSTRAS	56
4.6	METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS ESTUDADOS	56
4.6.1	Microscopia óptica e análise qualitativa da estrutura e da matriz da cartilagem.....	56
4.6.2	Avaliação do grau de artrose - Escore OARSI	57
4.6.3	Avaliação do grau de acometimento subcondral.....	58
4.6.4	Quantificação da celularidade por análise de imagem digital	58
4.6.5	Avaliação dos proteoglicanos	59
4.6.6	Imunofluorescência para colágeno	60
4.6.7	Análise do escore de KRENN para sinovite.....	61
4.6.8	Imuno-histoquímica para Perlecan e Decorina	62

4.6.9	Análise semiquantitativa para expressão de glicosaminoglicanos na sinóvia (atribuição de escores).....	62
4.7	ESTATÍSTICA E METODOLOGIA DE ANÁLISE DE DADOS	63
4.7.1	Análise de dados	63
5	RESULTADOS.....	66
5.1	DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS, CASOS E COMPLICAÇÕES	66
5.1.1	Grupo LCF.....	66
5.1.2	Grupo OA.....	67
5.1.3	Grupo controle.....	68
5.2	AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA QUALITATIVA DA CARTILAGEM.....	68
5.3	ESCORES DE OARSI NA CARTILAGEM	70
5.4	ESCORES DE OSSO SUBCONDRA.....	71
5.4.1	Escore osso subcondral, biópsia do centro/local mais acometido – Intergrupos.....	71
5.4.2	Escore de osso subcondral, biópsia da periferia – Intergrupos	72
5.4.3	Escore osso subcondral comparação intragrupo LCF.....	73
5.4.4	Escore osso subcondral comparação intragrupo OA.....	73
5.4.5	Comparação dos padrões intraindividuais	74
5.5	CELULARIDADE DA CARTILAGEM	74
5.6	AVALIAÇÃO DE PERDA DE PROTEOGLICANOS NA CARTILAGEM.....	75
5.7	AVALIAÇÃO DA IMUNOFLUORESCÊNCIA DE COLÁGENO I E II NA CARTILAGEM.....	76
5.8	HISTOLOGIA SINOVIAL E AVALIAÇÃO DO ESCORE DE KRENN NA SINÓVIA.....	77
5.9	AVALIAÇÃO DOS ESCORES DE PROTEOGLICANOS NA SINÓVIA (IMUNO-HISTOQUÍMICA PERLECAN E DECORINA)	79
5.10	IMUNOFLUORESCÊNCIA PARA COLÁGENO I, III E V NA SINÓVIA	80
5.11	TABELA E DESENHO COMPARATIVO DOS ACHADOS	81
6	DISCUSSÃO	85
7	CONCLUSÃO	107
	REFERÊNCIAS	109
	ANEXOS	124
	ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA	124
	ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	126
	ANEXO C - TEMPO DE SEGUIMENTO(EM MESES) DOS CASOS COM MÉDIA DE CADA GRUPO	130

ANEXO D - ESCORE DE ACOMETIMENTO DO OSSO SUBCONDAL: GRUPO LCF (N = 9).....	131
ANEXO E - ESCORE ACOMETIMENTO DO OSSO SUBCONDAL: GRUPO OA (N = 11)	132
ANEXO F - MÉDIA DOS ESCORES DE KRENN NOS GRUPOS CONTROLE, LCF E OA.....	133

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Lesões à cartilagem articular compõem um espectro de entidades clínicas abrangendo de lesões condrais focais e únicas (LCF) à OA avançada¹. Esses defeitos condrais focais são implicados no desenvolvimento subsequente da OA²⁻⁵, e podem ter fatores causais como trauma, predisposição genética à degeneração precoce, ou alterações biomecânicas que levam à sobrecarga focal¹. Os defeitos focais da cartilagem articular podem ser assintomáticos ou apresentar sintomas limitantes e perda de função¹. A incidência total de LCF não é bem conhecida, entretanto, estima-se que entre 5% e 10% das hemartroses após lesões esportivas ou de trabalho sejam associadas a lesões condrais⁶. Até 5% das artroscopias de joelho apresentam lesões unipolares e isoladas da cartilagem⁷. A capacidade biológica de regeneração de LCF com formação de cartilagem hialina de qualidade é limitada¹, e sua história natural não é totalmente entendida, mas há tendência de piora e progressão para OA¹.

A OA é uma doença que resulta na degeneração articular após dano à cartilagem. Ela não afeta somente a cartilagem articular, mas toda a articulação, incluindo ligamentos, cápsula, membrana sinovial, osso subcondral e músculos periarticulares. Sua patogênese é multifatorial e envolve lesões condrais, carga excessiva ou intolerância à carga fisiológica e processo inflamatório com alteração nos mecanismos de manutenção da homeostase da cartilagem⁸⁻¹⁰. Dessa forma, há um estado de insuficiência osteocartilaginosa, gerada pela perda da homeostase tecidual (a degradação da matriz extracelular [MEC] supera a sua capacidade regenerativa)¹¹.

Nas fases iniciais da OA, observa-se presença de crescimento clonal e ativação condrocitária, com secreção de mediadores inflamatórios catabólicos para a cartilagem. Com o passar do tempo, esse processo se sobrepõe à capacidade anabólica da cartilagem, ocasionando perda de proteoglicanos, colágeno e remodelação do osso subcondral, resultando na destruição progressiva do tecido cartilaginoso¹¹. Proteoglicanos específicos como decorina e biglycan são regulados positivamente, provavelmente, para compensar a perda geral de proteoglicanos, característica deste estágio da doença¹². A inflamação local parece contribuir para a patogênese da OA e, subsequentemente, para a eventual degeneração dos condrócitos e a desregulação do remodelamento da matriz. Esse processo evolui com o crescimento de fibrocartilagem, que não é capaz de sustentar as necessidades articulares. Ainda, os condrócitos sobreviventes apresentam queda significativa na atividade sintética, mesmo ativados após o trauma.^{9,11,13}

A inflamação não está ligada apenas a processos agudos, mas a lesões degenerativas nas articulações¹¹. A perda de colágeno¹³ e a ativação do sistema complemento¹⁴ está relacionada com a fisiopatologia de doenças inflamatórias articulares e degradação da cartilagem articular em estudos *in vitro*¹⁴.

Recentemente, a importância das alterações do osso subcondral em doenças da cartilagem articular tem sido reconhecida¹⁵. Características mecânicas e biológicas desse tecido altamente especializado são essenciais para a função da unidade osteocartilaginosa, formada pelo osso subcondral e cartilagem articular¹⁵. As modificações do osso subcondral na OA são reconhecidas^{16–18}, e sua importância para as LCF reflete-se no prognóstico das lesões em que há comprometimento prévio do osso subcondral¹⁹, que serve de suporte e anteparo para os processos de reparação condral²⁰.

A presença e influência de sinovite e fibrose sinovial também é fator influente no desfecho clínico e progressão da doença²¹. A presença de sinovite pode ser causa importante de dor articular, sendo que diversos fatores inflamatórios são secretados e regulados por meio deste tecido. Além disso, a presença de fibrose sinovial está associada à rigidez articular^{22,23}. A variabilidade de estados da sinóvia durante o curso da doença e nas variáveis manifestações de lesões da cartilagem articular também é objeto de estudo e diversos tratamentos já foram propostos a fim de mudar a história da doença e ou estabelecer marcadores precoces^{24–28}. O balanço entre sinovite e fibrose sinovial parece estar relacionado ao tempo de exposição a processos inflamatórios articulares no contexto de lesões da cartilagem articular.

Apesar da OA e de LCF serem parte do mesmo espectro de doença e de apresentarem fatores em comum na sua fisiopatologia, os estudos relacionados à diferenciação entre LCF e OA são, principalmente, voltados para graduação do espectro de doença da OA^{29–32} e para a identificação de biomarcadores precoces séricos³³, urinários e de líquido sinovial^{34–37}, fazendo, em sua maior parte, avaliações indiretas entre os dois grupos, sendo que não há estudos de nosso conhecimento que tenham comparado diretamente os achados histológicos lesionais, incluindo características histomorfométricas condrais, do osso subcondral, das alterações sinoviais adjacentes e das alterações de matriz, incluindo proteoglicanos e colágenos.

Para abordar essa lacuna, neste estudo, propusemo-nos a realizar uma comparação histológica e molecular abrangente da cartilagem articular, osso subcondral e sinóvia em pacientes com LCF e OA. Avaliando marcadores específicos dos tecidos — incluindo integridade do colágeno, conteúdo de proteoglicanos e alterações inflamatórias — buscamos identificar características estruturais e moleculares que diferenciam essas condições. Tais marcadores também podem servir como indicadores precoces da progressão da doença ou

como potenciais alvos terapêuticos. Uma compreensão detalhada dessas diferenças é essencial para o avanço de estratégias precisas de diagnóstico, prognóstico e tratamento.

A hipótese do estudo é que existe uma diferença entre LCF e OA com relação ao comportamento celular, processo inflamatório sinovial, componentes de matriz extracelular, e escores histológicos de cartilagem e sinóvia.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterização do perfil histológico celular e tecidual da cartilagem, osso subcondral e do tecido sinovial de joelhos de pacientes com LCF, OA e grupo-controle.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para avaliação da estrutura morfológica e a expressão de proteínas da matriz no tecido cartilaginoso, sinovial e osso subcondral nos grupos LCF e OA grupos-controle, foram utilizados:

1. O escore de OARSI, específico para cartilagem humana, através da coloração de Safranina O/*fast green*.
2. O escore de Aho para avaliação do osso subcondral por meio da coloração de HE.
3. Método histomorfométrico para contagem de células no tecido cartilaginoso por meio da coloração de HE.
4. O método quantitativo de análise de imagem digital, para avaliar a perda de proteoglicanas da matriz cartilaginosa, através da coloração de Safranina/*Fast green*.
5. Imunofluorescência para expressão do colágeno dos tipos I e II no tecido cartilaginoso e avaliação quantitativa usando análise de imagem.
6. O escore de Krenn para avaliar o grau de sinovite por meio da coloração de HE.
7. Imunohistoquímica para avaliação da presença de perlecan e decorina no tecido sinovial e quantificação por escore histológico.
8. Imunofluorescência para identificar a expressão de colágeno dos tipos I, III e V no tecido sinovial nos grupos-controle, LCF e OA.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

Collins e McElligott et al.³⁸, em 1960, dão um passo pioneiro na elaboração de um sistema biológico de classificação da OA ao analisarem a absorção de sulfato marcado por condrócitos. Utilizando patelas obtidas em autópsias, os autores comparam a captação de sulfato com o escore histológico previamente desenvolvido por Collins. Os resultados revelam maior atividade celular nos estágios mais avançados da OA, rompendo com o conceito predominante de que a doença seria apenas consequência de um desgaste mecânico repetitivo, e reforçam uma visão mais reativa e biologicamente ativa do processo osteoartrítico.

Mankin et al.³¹, em 1971, são os primeiros a propor uma classificação histológica do grau de artrose, com foco nas alterações estruturais da cartilagem, na linha da maré (*tidemark*) e no conteúdo de proteoglicanos. Analisam 32 áreas de cabeças femorais provenientes de 13 quadris (9 artrósicos e 4 saudáveis), utilizando um índice histológico e histoquímico para estabelecer um escore de gravidade da OA. A densidade celular é quantificada por timidina tritiada e a síntese de polissacarídeos avaliada por sulfato marcado. O sistema de Mankin atribui até 14 pontos com base em alterações celulares, coloração histoquímica com safranina e características estruturais como erosão e penetração vascular por meio da *tidemark*. Os resultados indicam que a OA é uma doença focal, com grande variabilidade entre áreas e pacientes. Houve correlação positiva entre severidade da lesão e síntese de DNA e polissacarídeos até um ponto-limite, a partir do qual os mecanismos reparativos se esgotam, levando à correlação negativa entre severidade e concentração de polissacarídeos, sem associação com densidade celular. Além disso, a cartilagem que recobre os osteófitos apresenta menor redução de polissacarídeos e maior síntese quando comparada a áreas artríticas fora dos osteófitos.

Mankin et al.³⁹, em 1974, avaliam a literatura existente sobre a resposta da cartilagem articular ao trauma a fim de se relacionar com a OA. Com base nos estudos avaliados; é constatada a ineficácia da cartilagem articular de se regenerar em resposta a danos e lacerações. O estudo relata que lesões parciais que não violam a cartilagem calcificada e placa óssea adjacente carecem de rede capilar que promova resposta inflamatória de reparação. Lesões profundas e que violam o subcondral mostram resposta de reparo por meio de formação de fibroblastos e formação de tecido reparativo granulomatoso, porém, sem evidência de cobertura de cartilagem hialina sobre o tecido fibroso, sendo que áreas de descontinuidade podem ser observadas anos depois da lesão.

Weiss et al.⁴⁰, em 1975, avaliam a presença de colágeno na sinóvia comparando grupos com sinóvia normal, sinovite reumatoide e sinovite não reumatoide. A comparação mostra que quantidades anormais de colágeno III podem ser isoladas da sinóvia reumatoide e não reumatoide, seja após a digestão dos tecidos com pepsina ou como uma forma polimérica anormal (F2PC), mas não pode ser isolada da sinóvia normal. Os autores concluem que a quantidade de colágeno III parece estar relacionada ao grau de inflamação.

Soren et al.⁴¹, em 1978, comparam, por meio de microscopia óptica e eletrônica, a sinovite de paciente com OA com a sinovite de pacientes com sinovite pós-traumática. Os autores concluem que a diferenciação das alterações sinoviais na sinovite pós-traumática daquelas na OA é possível, porém limitada, porque alterações semelhantes com incidência semelhante são observadas em ambas as condições.

Noyes et al.⁶, em 1980, avaliam 85 joelhos com hemartrose pós-traumática e propuseram uma incidência de 5-10% de lesão condral aguda.

Arnoldi et al.⁴², em 1980, avaliam a membrana sinovial na coxartrose humana por meio de estudos com microscopia óptica e eletrônica, e observam dois tipos distintos de sinovite osteoartrítica: uma proliferativa precoce caracterizada por estase venosa com edema, eritrócitos livres e depósitos de hemossiderina no tecido intersticial, que sugeriu aumento da permeabilidade capilar, e outra tardia e fibrosa, em que o quadro microscópico é dominado por tecido fibroso denso. Os autores concluem que o desenvolvimento de sinovite proliferativa para fibrosa é, provavelmente, o resultado de insuficiência venosa crônica de longa data.

Brocklehurst et al.⁴³, em 1984, comparam amostras de 14 pacientes com cartilagem normal e 19 pacientes com OA. Nos espécimes de OA com biópsias retiradas de áreas não intactas, as variações encontradas são diferentes a depender do grau de fibrilação existente. Nos casos de fibrilação superficial, são encontradas maiores quantidades de água, porém sem diferenças no conteúdo e na síntese de glicosaminoglicanos. Nos casos de fibrilação profunda, há um aumento da quantidade de água em toda a profundidade condral, além de uma diminuição na taxa de síntese e concentração de proteoglicanos.

Myers et al.⁴⁴, em 1990, observam que a gravidade das lesões da cartilagem da OA não estava relacionada à gravidade da sinovite e nenhuma relação topográfica é encontrada entre a ulceração da cartilagem e a sinovite.

Haraoui et al.⁴⁵, em 1991, analisam as características histológicas e imunopatológicas da sinóvia de 18 pacientes com artrite reumatoide (AR) e 12 com OA submetidos à artroplastia total do joelho, divididos conforme regime terapêutico. Pacientes com AR tratados com prednisona ou metotrexato apresentam maior índice inflamatório e menor fibrose, sugerindo

que esses fármacos podem inibir a fibrose ao suprimir mediadores inflamatórios que ativam fibroblastos.

Dodge et al.⁴⁶, em 1995, por meio da análise de membrana sinovial e de culturas de células sinoviais humanas, avaliam a expressão do gene perlecan em um tecido sem membrana basal clássica. As culturas apresentam mRNA de 14,5 kb e produziram quantidades substanciais de proteína central de perlecan, confirmadas por imuno-histoquímica, revelando coloração intensa nas camadas íntima e subíntima. Os autores concluem que a presença de perlecan e a modulação de sua biossíntese por TGF- β e FGF indicam que, além de seu papel estrutural, esse proteoglicano de heparan sulfato pode participar da função normal da sinóvia e da patogênese da OA.

Messner e Maletius², em 1996, reconhecem a importância da incidência e repercussão das lesões condrais isoladas. Os autores avaliaram 28 atletas com lesões condrais em área de carga por 14 anos e observaram uma incidência de 42,85% de redução do espaço articular no compartimento afetado pela lesão condral nestes pacientes.

Curl et al.⁷, em 1997, revisam 31.516 artroscopias e encontram lesões condrais em 63% dos casos, porém apenas 5% de defeitos condrais profundos em pacientes abaixo de 40 anos.

Johnson et al.⁴⁷, em 1998, avaliam histologicamente biópsias osteocondrais de 3mm em áreas de edema ósseo em exames de ressonância magnética realizados após lesão do ligamento cruzado anterior e encontram nestas áreas alterações como: fissuras e amolecimento condral, degeneração de condrócitos, perda de proteoglicanos e necrose de osteócitos no osso subcondral, sugerindo dano condral e alteração da homeostase da cartilagem em locais com apenas edema ósseo na ressonância.

Price et al.⁴⁸, em 1999, avaliam a degradação de colágeno e concentração de proteoglicanos na cartilagem em pacientes com ruptura do ligamento cruzado anterior e comparam com pacientes com OA e grupo-controle. A maioria dos casos de lesão do ligamento cruzado anterior (LCA) não mostram sinais radiográficos ou macroscópicos de erosão condral, porém a cartilagem retirada de área de baixa carga mostra degradação de colágeno similar ao grupo com OA. A quantidade de proteoglicanos nos grupos de artrose e lesões de ligamento cruzado anterior não é diferente em relação ao grupo-controle.

Nehrer et al.⁴⁹, em 1999, avaliam 18 pacientes sem melhora clínica após procedimentos regenerativos de cartilagem: 12 submetidos à condroplastia, 4 a enxertos periosteais e 6 a enxertos periosteais associados a transplante autólogo de condrócitos. A análise histológica (histomorfometria e imuno-histoquímica para colágenos I, II e X) mostra que, na condroplastia, o tecido resultante é predominantemente fibroso e esponjiforme, com 22% de colágeno I, 30%

de cartilagem hialina degenerada e 28% de fibrocartilagem com coloração positiva para colágeno II. Nos enxertos periosteais, três casos falharam por formação óssea (19% da área seccional) com colágeno X, indicativo de hipertrofia condrocitária. No transplante autólogo de condrócitos, 3 meses após a cirurgia, observou-se 55% de tecido fibroso, 6% de cartilagem hialina e 12% de fibrocartilagem contendo colágeno II.

Arikawa-Hirasawa et al.⁵⁰, em 1999, por meio da supressão do gene Hspg2 em ratos, observam uma desorganização grave das estruturas colunares de condrócitos e ossificação endocondral defeituosa. A matriz de cartilagem Hspg2-/- contém fibrilas de colágeno e glicosaminoglicanos reduzidos e desorganizados, e sugerem que o perlecan tem um papel importante na estrutura da matriz.

Sandell e Aigner⁵¹, em 2001, resumem os padrões de reação dos condrócitos na OA em cinco categorias: (1) proliferação e morte celular (apoptose); (2) alterações na atividade sintética, (3) degradação; (4) modulação fenotípica dos condrócitos articulares; e (5) formação de osteófitos. Os autores sustentam que as primeiras respostas na OA são a reinicialização da síntese de macromoléculas da cartilagem, o início da síntese de pró-colágenos tipos IIA e III como marcadores de um fenótipo mais primitivo e a síntese de enzimas proteolíticas ativas. A reversão para um fenótipo semelhante ao fibroblasto, conhecida como "desdiferenciação", não parece ser um componente importante. A proliferação desempenha um papel na formação de aglomerados característicos de condrócitos próximos à superfície, enquanto a apoptose, provavelmente, ocorre, principalmente, na cartilagem calcificada.

Bock et al.¹², em 2001, investigam a relação da expressão gênica de mRNA de decorina e biglycan, bem como, sua síntese proteica e localização nos estágios mais tardios da OA em humanos. Os níveis mais altos de mRNA de decorina e biglycan foram produzidos por células tipo 2 secretoras alongadas, já conhecidas por sintetizar colágeno tipo I. Células com altos níveis de mRNA também traduzem as proteínas correspondentes encontradas no compartimento extracelular. A maior taxa de produção de decorina e biglycan é vista na área de tecido adjacente ao defeito principal. Os resultados indicam que, em estágios finais da OA, os níveis de transcrição e tradução de decorina e biglycan são regulados positivamente, provavelmente, para compensar a perda geral de proteoglicanos, característica deste estágio da doença.

Krenn et al.⁵², em 2002, propõem um sistema de classificação para medir o grau de inflamação no tecido sinovial aplicável a qualquer etiologia e não apenas em artrite reumatoide. O Escore avalia, primariamente, a hiperplasia da membrana sinovial, secundariamente, a ativação de células residentes e estroma sinovial e, por fim, a infiltração inflamatória. Todos os

3 parâmetros são graduados de 0-3 (ausente, leve, moderado, severo). Desta forma, o grau de sinovite é dado de 0-9 por meio da soma dos parâmetros e é classificado como ausente se graduado como 0 ou 1, leve se graduado como 2 ou 3, moderado se 4,5 ou 6, e grave se 7,8 ou 9. No trabalho dos autores, são avaliadas 308 amostras de diversas etiologias, tendo a artrite reumatoide escores significativamente maiores do que os de OA.

Oehler et al.⁵³, em 2002, estudam diversas biópsias de membrana sinovial de pacientes com OA em diversos níveis e comparam com sinóvia normal e artrite reumatoide. Em todas as biópsias derivadas de pacientes com OA, foram observadas alterações do tecido sinovial. Um amplo espectro de alterações é encontrado em diferentes estágios da doença articular osteoartrítica e quatro padrões básicos diferentes de reações sinoviais puderam ser identificados: (i) hiperplásica, (ii) inflamatória, (iii) fibrótica e (iv) sinovite rica em detritos. Os autores mostram que, em todos os casos de doença articular osteoartrítica clinicamente evidente, houve patologia sinovial significativa associada, sugerindo um papel patogênico distinto da membrana sinovial também na degeneração da cartilagem osteoartrítica.

Poole et al.⁵⁴, em 2002, revisam o conhecimento sobre a patobiologia da OA e como ela pode ser investigada, com foco no condrócito e nas moléculas de colágeno que ele produz, que formam a espinha dorsal endoesquelética da extensa matriz extracelular.

Roberts et al.⁵⁵, em 2003, reportam bons resultados reparativos nas LCF tratadas com boa integração da cartilagem formada ao tecido nativo, mas com tecido reparador com morfologia variável, variando de predominantemente hialina (22% das amostras de biópsia), passando por mista (48%), até predominantemente fibrocartilagem (30% das amostras).

Squires et al.⁵⁶, em 2003, avaliam 31 joelhos de cadáver sem lesões meniscais ou ligamentares para determinar se lesões focais precoces vistas no envelhecimento exibem alterações moleculares na matriz similar à OA. Os autores quantificam a quantidade de colágeno II e proteoglicanos, bem como, a clivagem desses e observam que a quantidade de colágeno II e proteoglicanos são menores nas áreas mais lesadas e adjacentes se comparadas com áreas mais distantes. Os autores sugerem que essas lesões focais representam o desenvolvimento de artrose precoce e estão envolvidas no dano articular progressivo como parte do desenvolvimento da OA idiopática.

Miosge et al.⁵⁷, em 2004, avaliam a expressão de colágeno em diferentes estágios de OA por meio de biópsias analisadas por hibridização “in situ” e imuno-histoquímica. Os autores encontram aumento da produção de mRNA de colágeno I, concluindo que esse tipo de colágeno é um dos fatores envolvidos na patogênese da OA.

Marlovits et al.⁵⁸, em 2004, comparam as alterações na proporção de colágeno tipo I e

tipo II em culturas de camada única de condrócitos articulares humanos. Como principal descoberta, os autores relatam que a expressão dos genes que codificam o colágeno tipo I e II foi altamente dependente do tempo e a proporção de colágeno tipo II para I (CII/CI), definida como um índice de diferenciação celular, foi significativamente maior (215 a 480 vezes) no início da cultura. No final do tempo de cultura experimental, proporções entre 0,1 e 1 são alcançadas.

Goessler et al.⁵⁹, em 2004, avaliam a expressão de colágeno e proteínas na cartilagem durante desdiferenciação *in vitro* e concluem que, devido à sua regulação positiva em condrócitos cultivados, os tipos de colágeno 1, 3, 4 e 11, bem como, biglican, fibromodulina e lumican podem ser marcadores para desdiferenciação. Os tipos de colágeno 9, 18 e Q, bem como, decorina e condro-aderina revelam regulação negativa e, presumivelmente, representam marcadores para a diferenciação de condrócitos.

Tesche e Miosge⁶⁰, em 2004, investigam a distribuição tecidual de perlecan, sua relação com mRNA e que célula é responsável por sua produção. Os autores concluem que perlecan está envolvido na patogênese dos estágios finais de OA e que seus níveis estão hiperregulados, especialmente por células alongadas secretoras do tipo 2 em uma área adjacente ao defeito condral principal, o que pode ser visto como uma tentativa de estabilizar a matriz extracelular.

Tchetina et al.⁶¹, em 2005, avaliam a relação entre a extensão da degradação de colágeno por collagenase, a degeneração da cartilagem e a expressão gênica relacionada à diferenciação de condrócitos em cartilagens patelofemorais de pacientes com lesões muito iniciais. Os autores descobrem que a degeneração focal muito precoce na cartilagem articular do joelho é acompanhada por regulação positiva da atividade de collagenases, e expressão de genes associados à diferenciação de condrócitos e degradação da matriz. Os autores concluem que a diferenciação dos condrócitos pode estar intimamente relacionada ao desenvolvimento muito precoce da degeneração da cartilagem, como ocorre na OA

Benito et al.⁶², em 2005, comparam as características imuno-histológicas selecionadas de inflamação no tecido sinovial de pacientes com OA precoce e tardia. Aumento da infiltração de células mononucleares e superexpressão de mediadores de inflamação são observados na OA precoce, em comparação com a OA tardia. “Fibroblast Like Synoviocyte” (FLS) isolados são funcionalmente semelhantes em ambos os grupos, consistentes com diferenças microambientais no tecido sinovial durante diferentes fases da OA. Essas observações podem ter implicações terapêuticas importantes para alguns pacientes durante a evolução inicial da OA.

Ding et al.⁶³, em 2005, fizeram um estudo transversal de 372 pacientes com lesão condral e avaliaram a associação com alterações radiográficas, diminuição do volume de cartilagem, espaço articular e quebra de colágeno II. Os autores concluem que defeitos condrais podem estar associados com osteófitos e quebra de cartilagem, o que pode levar à diminuição de volume condral e a menor espaço articular.

Tchetina et al.⁶¹, em 2005, avaliam a extensão de clivagem de colágeno por collagenases, deterioração de cartilagem e diferenças na expressão gênica em pacientes com lesões de cartilagem focal patelofemoral. Os autores concluem que lesões condrais focais são acompanhadas de hiper-regulação de atividade de collagenases e expressão de genes associados com diferenciação terminal de condrócitos e degradação de matriz.

Ayral et al.⁶⁴, em 2005, avaliam 422 pacientes com artrose medial e concluem que a presença de sinovite na sinóvia perimeniscal medial é alteração comum na artrose medial e fator preditivo para progressão da degradação da condropatia medial.

Krenn et al.⁶⁵, em 2006, ampliam a avaliação e descrição do escore com uso de 559 amostras mostrando haver diferença nos escores a depender da etiologia da sinovite dividindo, principalmente, entre patologias com sinovite de alto grau como artrite psoriática e artrite reumatoide e de baixo grau como OA e sinovites pós-traumáticas.

Pritzker et al.³², em 2006, por meio da Sociedade Internacional de Pesquisa em Osteoartrite (OARSI), observam que o escore desenvolvido por Mankin tinha dificuldades utilitárias para graus precoces de OA, bem como, problemas com reprodutibilidade e validação dado o fato de que ambos os sistemas prévios de classificação utilizaram amostras de casos avançados de OA. No estudo, é reconhecido o acometimento multitecidual da artrose e que o osso subcondral possui papel majoritário em alguns casos específicos de artrose e modelos experimentais, mas, por motivos práticos, foi decidido focar o escore apenas na cartilagem articular. Para elaboração do escore, o grupo baseou-se em 5 princípios (simplicidade, utilidade, escalabilidade, extensibilidade e comparabilidade) e definiu a aplicabilidade do escore para os seguintes objetivos: identificação de subgrupos de OA, definição de limites para grupos de pesquisa, avaliação de novas características e novos marcadores de OA, e avaliação de modelos animais em OA. O escore de OARSI gradua o acometimento histológico de 0-6 com base nas principais características e critérios associados (reação de tecido). No grau 0, a superfície condral está intacta, morfologia preservada, matriz condral com arquitetura normal e células preservadas com orientação normal. No grau 1, a superfície está intacta, porém há edema e/ou fibrilação superficial, condensação focal superficial da matriz, presença de morte celular e clusters celulares, e hipertrofia. No grau 2, já ocorre descontinuidade de superfície.

No grau 3, há presença de fissuras verticais, no grau 4, há presença de erosão, no grau 5, denudação e, no grau 6, deformação. Os autores também classificam os estágios de 1-4 a depender do acometimento horizontal, metodologia a qual torna mais sensível os estágios mais precoces. O escore final é dado com o grau multiplicado pelo estágio variando de 0-24.

Nelson et al.⁶⁶, em 2006, avaliam a presença de alterações degenerativas precoces em pacientes com lesão do ligamento cruzado anterior. Os autores analisam e quantificam colágeno de cartilagem de 50 pacientes submetidos à reconstrução do ligamento cruzado anterior e comparam com controles de 21 autópsias. Os autores não observam diferenças na quantidade de colágeno tipo 2 durante o período do estudo.

Moriya et al.⁶⁷, em 2007, avaliam histologicamente e por meio de imuno-histoquímica o tecido reparativo de 6 pacientes com osteocondrite dissecante após 1 ano de tratamento com transplante autólogo de condrocitos. As amostras das biópsias apresentaram uma morfologia mista de fibrocartilagem e cartilagem hialina em 4 espécies, enquanto em 2 foram observadas apenas fibrocartilagem. Na análise imuno-histoquímica, a matriz nas camadas média e profunda foram marcadas positivamente para colágeno tipo 2, embora a camada superficial não tenha corado. A concentração média de glicosaminoglicanos no tecido cartilaginoso reparativo foi de 76,6 microg/mg, enquanto na cartilagem normal foi de 108, microg/mg. Apesar da boa evolução clínica dos pacientes, os autores concluem que o tecido reparativo formado é inferior em relação ao tecido condral normal, tanto histologicamente, quanto por meio de imuno-histoquímica.

Patterson et al.⁶⁸, em 2007, investigam quais proteoglicanos de sulfato de heparan (HSPGs) são expressos na sinóvia da articulação do joelho de pacientes com diferentes formas de artrite e de indivíduos normais. Os autores concluem que Syndecan-1, -2 e -3 e glypican-4 podem desempenhar um papel na fisiopatologia da artrite, como na migração e retenção de leucócitos e na angiogênese na sinóvia cronicamente inflamada. Perlecan é localizado na camada de revestimento, na camada subsinovial e nas paredes dos vasos sanguíneos. Esse padrão de coloração está presente nas amostras de sinóvia de todos os grupos de pacientes.

Walsh et al.⁶⁹, em 2007, avaliam o platô tibial e a sinóvia de 62 pacientes submetidos à prótese total de joelho, e comparam com 31 pacientes do grupo-controle. Por meio da avaliação histológica, os autores encontraram 60% de invasão de vasos sanguíneos na “Zona da maré”, aumento da densidade vascular osteocondral de acordo com a piora da gravidade de lesão de cartilagem. Os autores não encontram relação entre proliferação vascular osteocondral e sinovite, concluindo, desta forma, que o processo de angiogênese sinovial e osteocondral são processos independentes.

Chung et al.⁷⁰, em 2008, criam um conceito para reduzir a formação de depósitos fibróticos por meio da inibição da automontagem de moléculas de colágeno em fibrilas, um componente importante nas lesões fibróticas. Utilizando anticorpos monoclonais que se ligam à região do telopeptídeo de uma molécula de colágeno, descobrem que o bloqueio das interações colágeno/colágeno mediadas por telopeptídeos reduz a quantidade de fibrilas de colágeno acumuladas *in vitro* e em construções organotípicas semelhantes a queloides. Concluem que a inibição das etapas extracelulares do processo fibrótico proporciona uma nova abordagem para limitar a fibrose em diversos tecidos e órgãos.

Melrose et al.⁷¹, em 2008, realizam uma revisão sobre perlecan. Dentre suas interações, o perlecan sequestra uma série de fatores de crescimento pericelulares (FGFs, PDGF, VEGF e CTGF) e, por meio deles, promove a sinalização celular, a proliferação e a diferenciação celular. Perlecan também interage com uma gama diversificada de proteínas da matriz extracelular, estabilizando-a e organizando-a, e promovendo a fibrogênese do colágeno. Perlecan é um componente pericelular proeminente das células mesenquimais desde seus estágios iniciais de desenvolvimento até a maturação, formando interconexões célula-célula e célula-MEC que sugerem um papel em processos mecanossensoriais importantes para a homeostase do tecido.

La Prade et al.⁷², em 2008, avaliam a aparência histológica de 10 pacientes com falha de tratamento condral após osteocondrite dissecante. As amostras foram analisadas por meio de HE e azul de toluidina além de imunoensaios com anticorpos para colágeno I, II e X. Todas as amostras foram constituídas primariamente por tecido fibroso e fibrocartilagem. Nenhuma das amostras foram positivas para colágeno X, e todas foram coradas para colágeno tipo I. As amostras foram coradas para colágeno tipo II em 3 casos de microfraturas, 4 casos de transplante autólogo de condrócitos e 1 caso de transplante periosteal. Os autores concluem que a aparência histológica de todos os reparos condrais foram similares entre si e todas diferentes do tecido condral original.

Fosang & Little⁷³, em 2008, destacam que a degradação da matriz condral, sobretudo da agregan, pode ocorrer de forma dissociada da modulação colagênica, sugerindo que a perda de proteoglicanos pode preceder ou não se associar diretamente à substituição de colágeno tipo II por colágeno tipo I em determinados estágios da doença.

Vasara et al.⁷⁴, em 2009, investigam os níveis de metaloproteinases de matriz (MMP-3) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) no líquido sinovial de pacientes com lesões condrais no joelho submetidos ao transplante autólogo de condrócitos (ACI), comparando os valores antes da cirurgia e um ano após o procedimento. Apesar dos defeitos condrais estarem

visualmente preenchidos com tecido de reparo na artroscopia de controle, os níveis desses biomarcadores permanecem elevados em relação aos controles sem lesões, sugerindo que o ambiente sinovial continua alterado mesmo após aparente regeneração tecidual.

Acebes et al.⁷⁵, em 2009, correlacionam as lesões condrais visualizadas por artroscopia por meio do método de Beguin e Locker com a avaliação por microscopia feita pela escala de Mankin. Os autores encontram uma boa correlação entre os escores artroscópicos e histológicos especialmente nos graus menos avançados e concluem que a avaliação artroscópica é um bom método de avaliação condral.

Furuzawa et al.⁷⁶, em 2009, reconhecem que o colágeno tipo I polimerizado é um regulador negativo da inflamação e um biofármaco regenerador de tecidos, avaliam o efeito de colágeno I polimerizado em co-culturas de cartilagem e tecido sinovial de pacientes com OA de joelho, e concluem que esse induziu a regulação positiva da proliferação de condrócitos e da produção de proteínas da matriz extracelular da cartilagem (COMP, colágeno tipo II e proteoglicanos), bem como, uma citocina anti-inflamatória (Interleucina 10 [IL-10]) e a modulação negativa de citocinas pró-inflamatórias (IL-1beta e Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF alfa)). É possível que esse mecanismo possa contribuir para induzir a regeneração do tecido e a regulação negativa da inflamação na OA.

Madry et al.⁷⁷, em 2010, descrevem as características fisiológicas do osso subcondral e reconheceu a anatomia variável desta estrutura composta por diferentes densidades, espessuras e composição. Os autores descrevem o osso subcondral como a soma da placa óssea subcondral, zona da maré, linha cimentada e canais penetrantes na cartilagem calcificada.

Mainil-Varlet et al.⁷⁸, em 2010, elaboram um novo sistema pela (ICRS) desenvolvendo um escore histológico (ICRS II) contemplando 14 critérios relacionados com fenótipo de condrócitos e estrutura de tecido. Este novo escore demonstrou menor variabilidade inter e intraobservador comparado com o escores de MODS (*Modified O'Driscoll Scale*) e ICRS I. Os autores concluem que o ICRS II representa uma melhora na reprodutibilidade dos sistemas histológicos de gradação de reparo condral, e que a relevância clínica e habilidade de prever durabilidade de reparo serão avaliadas após disponibilidade de resultados clínicos de longo prazo.

Goldring et al.⁷⁹, em 2010, descrevem em seu trabalho que diversas abordagens são descritas para padronizar as mudanças ocorridas nos tecidos periarticulares na OA e os estudos avaliados suportam o conceito de que adaptações esqueléticas ocorrem antes do aparecimento de alterações detectáveis na cartilagem articular. O autor justifica isso, em parte, devido às diferentes capacidades dos tecidos em se adaptar à carga mecânica e ao estresse. O autor pontua

que o osso cortical e trabecular, rapidamente, alteram sua forma em resposta à carga por meio de remodelamento e mediação celular, enquanto os condrócitos possuem capacidade mais limitada de modificar sua matriz circundante.

Sellam e Berenbaum⁸⁰, em 2010, revisam o papel da sinovite na OA e concluem que a presença de inflamação histológica no tecido sinovial da OA e lesões precoces da cartilagem na borda da membrana sinovial inflamada são fortes indicadores de que a sinovite é um fator essencial na patogênese da OA. A visão tradicional da OA como uma doença somente da cartilagem está obsoleta. A OA deve agora ser considerada uma doença de toda a articulação que inclui o tecido sinovial. Osso, cartilagem e membrana sinovial se comunicam por meio de interações célula-célula, por meio da liberação de mediadores solúveis e por meio de sinais mecânicos. A inflamação sinovial, apesar de não ser um pré-requisito para o desenvolvimento da OA, está claramente envolvida na degradação da cartilagem e, portanto, na progressão da doença. O direcionamento da membrana sinovial inflamatória deve atrasar ou prevenir danos à cartilagem articular e à formação de osteófitos, especialmente na OA inicial.

Karsdal et al.⁸¹, em 2010, investigam correlações entre degradação óssea e cartilaginosa em pacientes com OA em função do sexo, escore de Kellgren-Lawrence (KL), Índice de Massa Corporal (IMC), tratamento oral com calcitonina de salmão (sCT) e variação diurna. Juntamente com os achados de outros estudos publicados, parece que a reabsorção óssea e a degradação da cartilagem são influenciadas em diferentes graus por várias situações fisiológicas e patológicas, bem como, pela ingestão alimentar e terapia hormonal. O uso de biomarcadores para avaliar e monitorar a degradação desses tecidos-chave pode auxiliar na identificação precoce de oportunidades de tratamento para a OA.

Madry et al.⁸², em 2011, demonstram em modelos experimentais que, mesmo na presença de fibrose sinovial ou de sinovite, a expressão dos colágenos tipo III e V pode não acompanhar proporcionalmente a gravidade inflamatória.

Widuchowski et al.³, em 2011, avaliam por uma média de 15,3 anos e por meio dos questionários Womac, Lysholm e Tegner a história natural de 4.121 pacientes, sendo que 37 pacientes possuíam LCF grau 4 não tratada. Alterações artríticas foram encontradas em 39% dos pacientes e não foi observada diferença em relação à gravidade da OA em paciente com lesão prévia e nos ausentes de lesão prévia. Os autores concluem que lesões condrais focais severas isoladas não tratadas têm influência limitada no resultado clínico e desenvolvimento de OA.

Song et al.⁸³, em 2011, comparam as características de cartilagem e de osso subcondral entre planalto lateral e medial para determinar o papel da zona calcificada e subcondral na patogênese da OA. Os autores concluíram que o osso subcondral pode ter papel importante na origem e progressão da OA.

Wei et al.⁸⁴, em 2021, avaliam a sinóvia normal, a qual pode ser dividida em íntima e subíntima. A íntima compreende de uma a três camadas de FLS colunares especializados, que são intercalados com macrófagos, enquanto a subíntima consiste em vários tipos de tecidos conjuntivos, como colágeno denso fibroso, tecido adiposo ou colágenos soltos; esta camada é rica em colágeno tipo I e III e suprimento sanguíneo microvascular, acompanhada por vasos linfáticos e fibras nervosas, mas é relativamente acelular.

Scanzello e Goldring⁸⁵, em 2012, revisam o papel da sinovite na patogênese da OA concluindo que há evidências crescentes de que a inflamação sinovial desempenha um papel crítico nos sintomas e na progressão estrutural da OA. Ressaltam, também, que a sinovite demonstrou estar correlacionada com a gravidade dos sintomas, taxa de degeneração de cartilagem e formação de osteófitos.

Madry et al.⁸⁶, em 2012, realizam uma revisão das bases moleculares e das características histopatológicas da OA precoce. Os autores concluem que uma melhor compreensão dos mecanismos da OA precoce pode ser fundamental para o desenvolvimento de terapias reconstrutivas mais direcionadas neste primeiro estágio da doença.

Sekiya et al.⁸⁷, em 2012, identificam que o número de células mesenquimais no líquido sinovial foi correlacionado à degeneração da cartilagem avaliada por artroscopia nos joelhos com lesão do LCA. O número de células mesenquimais aumenta juntamente com a classificação radiológica da osteoartrite.

Wei et al.²⁷, em 2013, avaliam a quantidade de colágeno II no líquido sinovial em pacientes com lesão condral e OA encontrando diferenças na concentração de HELIX-2 entre os casos mais iniciais e mais graves de lesão condral de acordo com a classificação de Outerbridge.

Kaneko et al.⁸⁸, em 2013, estudam, por meio de modelo animal, o papel do Perlecan sinovial na formação de osteófitos. O estudo não observou diferença em degradação condral e sinovite entre os ratos que não expressavam Perlecan e o grupo-controle, porém notou menor formação de osteófitos nos animais que não expressavam perlecan, concluindo que o perlecan sinovial tem fator contribuinte na formação de osteófitos na OA, bem como, modula a proliferação celular.

Felson et al.⁸⁹, em 2013, defendem em seu artigo que a OA é quase sempre causada pelo aumento de forças físicas e por lesão induzida mecanicamente aos tecidos articulares. O autor conclui que tratamentos que corrigem a biomecânica têm efeitos favoráveis duradouros sobre a dor e a função articular, em comparação com tratamentos que suprimem a inflamação, que têm apenas efeitos temporários.

Kerna et al.⁹⁰, em 2014, investigam a possível associação entre a expressão de ADAM12 (desintegrina A e metaloproteinase 12) na membrana sinovial e a sinovite histológica de pacientes com OA radiográfica do joelho. Os autores sugerem que ADAM12 pode estar relacionada ao desenvolvimento de sinovite associada à OA, especialmente na ocorrência de fibrose pós-inflamatória.

Xia et al.⁹¹, em 2014, expõem em sua publicação que, na evolução da OA, ocorrem mudanças na composição da cartilagem articular com estimulação à produção de fatores catabólicos pelos condrócitos, ruptura da rede de colágenos e proteoglicanos com a presença de apoptose celular de condrócitos e perda de integridade da cartilagem.

Rotterud et al.³⁷, em 2014, por meio de estudo exploratório, demonstram que pacientes com lesão focal da cartilagem do joelho apresentaram concentrações mais altas de CTX-II urinário do que indivíduos saudáveis.

Ene et al.⁹², em 2015, analisam amostras de sinóvia de pacientes com osteoartrite em fases iniciais e avançadas, destacando que, mesmo nos estágios iniciais, houve sinovite significativa com infiltrado mononuclear, fibrose difusa, espessamento da camada sinovial e neoangiogênese.

Remst et al.⁹³, em 2015, discutem fatores que foram relatados como envolvidos na fibrose sinovial na OA. O objetivo do estudo é obter ideias sobre como esses fatores contribuem para o processo fibrótico e determinar os melhores alvos para terapia na fibrose sinovial.

Petersen et al.³³, em 2016, hipotetizam que marcadores de turnover de colágeno tipo I ou III podem refletir a gravidade da sinovite e fibrose sinovial, que é altamente correlacionada com a sensibilidade à dor da OA. Fragmentos de colágenos tipo I, II e III foram, então, investigados no sangue de pacientes com OA em comparação com o sangue de indivíduos-controle, revelando aumento da degeneração do colágeno tipo I e II, e diminuição da degeneração do colágeno tipo III, que foi altamente correlacionada com hiperalgesia localizada em resposta à estimulação por pressão.

Waldstein et al.⁹⁴, em 2016, analisam as propriedades biomecânicas da cartilagem articular em diferentes graus de degeneração, utilizando o escore histológico da OARSI em amostras humanas obtidas *in vivo*. Um dos achados centrais são como as alterações biomecânicas — como a redução dos módulos de agregação e de rigidez dinâmica da cartilagem — progridem de forma mais acentuada entre os estágios iniciais (OARSI 0 a 2), mas tendem a se estabilizar ou apresentar menor diferença estatística entre os estágios mais avançados (graus 3 e 4).

Dell’Isola et al.⁹⁵, em 2016, identificam seis grupos distintos que devem ser explorados na tentativa de melhor definir fenótipos clínicos na população com OA.. Por meio de síntese qualitativa de evidências, seis fenótipos foram identificados: 1) dor crônica na qual mecanismos centrais (por exemplo, sensibilização central) são proeminentes; 2) inflamatório (altos níveis de biomarcadores inflamatórios); 3) síndrome metabólica (alta prevalência de obesidade, diabetes e outros distúrbios metabólicos); 4) metabolismo ósseo e cartilaginoso (alteração no metabolismo do tecido local); 5) sobrecarga mecânica caracterizada, principalmente, por desalinhamento em varo e doença do compartimento medial; e 6) doença articular mínima caracterizada como sintomas clínicos menores com progressão lenta ao longo do tempo.

DiBartola et al.⁹⁶, em 2016, investigam diferentes técnicas de reparo de cartilagem e demonstraram que os tecidos reparadores oriundos de transplante osteocondral autólogo apresentaram maior proporção de cartilagem hialina em comparação com as demais técnicas analisadas.

Mèthot et al.⁹⁷, em 2016, comparam a eficácia e a segurança do BST-CarGel com a microfratura isolada após 1 ano. O estudo demonstra que o tratamento com BST-CarGel resulta em melhores características estruturais e celulares do tecido de reparo após 1 ano em comparação com a microfratura isolada, corroborando os resultados previamente relatados por meio de ressonância magnética quantitativa.

Guermazi et al.⁴, em 2017, avaliam por meio de ressonância 359 joelhos e comparam a presença de novas lesões condrais em um compartimento com LCF prévia e com grupo-controle com compartimentos sem lesão condral. Após 30 meses de intervalo entre a avaliação inicial e final, os autores concluíram que a presença de defeito condral focal superficial ou profundo em uma sub-região única de um compartimento aumenta o risco de ocorrer nova lesão condral em outras sub-regiões do mesmo compartimento.

Aho et al.⁹⁸, em 2017, reconhecem a importância do osso subcondral e, com base em estudos prévios^{99–102} de acometimento do osso subcondral, elaboram um escore específico para análise de osso subcondral na artrose. Eles propuseram um sistema de classificação em 4

estágios variando de 0-3. O grau 0 representa o menor grau de inviolabilidade do osso subcondral em que não há esclerose subcondral e a placa subcondral é fina. O grau 1 apresenta leve esclerose subcondral e há aumento de volume ósseo, ainda há fenestras de osso subcondral conectando medula óssea com cartilagem articular, espessamento de óssea subcondral pode ser visto bem como alterações estruturais da placa subcondral. O grau 2 é caracterizado por um aumento substancial de volume e esclerose do osso subcondral. Fibrilação da placa óssea subcondral pode ser vista e não há conexões abertas entre osso esponjoso e cartilagem articular. O grau 3 representa o estágio final da OA com esclerose subcondral severa e aumento massivo de volume ósseo subcondral.

Mobasheri et al.¹⁰³, em 2017, resumem as implicações de artigos relacionados a marcadores bioquímicos publicados. Houve um progresso constante na pesquisa de biomarcadores para osteoartrite, sendo novos biomarcadores identificados e novas tecnologias desenvolvidas para medir os biomarcadores existentes. No entanto, não houve um "salto quântico" e a identificação de novos biomarcadores precoces para a OA continua desafiadora. No último ano, a OARSI publicou um conjunto de recomendações para o uso de biomarcadores solúveis em ensaios clínicos, o que representa um grande avanço no uso clínico de biomarcadores para OA e um bom presságio para o desenvolvimento futuro de biomarcadores para OA.

Atayde et al.¹⁰⁴, em 2018, avaliam a hipótese de que a administração oral de colágeno V modula a inflamação e a remodelação da sinovite experimental, evitando a destruição articular. Os autores concluíram que a suplementação de Col V diminui a inflamação sinovial e a resposta fibrótica, possivelmente pelo aumento da apoptose de células inflamatórias.

Houck et al.⁵, em 2018, realizam uma revisão de literatura para determinar se a presença de lesões condrais focais aumentam o risco de progressão para OA. Foram avaliados 8 estudos contendo 1.425 joelhos, todos com nível 3 de evidência. Foi observada uma piora da lesão condral ou presença de lesões condrais adicionais em 4 estudos. A progressão de lesão foi mais comumente vista na articulação patelofemoral ou no compartimento femorotibial medial, mas não foi associada ao desenvolvimento de OA na avaliação radiográfica de Kellgren e Lawrence. A avaliação por ressonância mostrou aumento no conteúdo de água, deterioração condral e perda de proteoglicanos no compartimento medial e lateral. Os autores concluem que pacientes com LCF estão mais susceptíveis a ter progressão da lesão condral, embora alguns estudos não demonstrem a presença de OA após 2 anos de seguimento.

Alguns estudos^{22,23}, em 2019, mostram que a fibrose sinovial é uma das causas mais importantes de rigidez articular, hiperplasia sinovial e diminuição de função, que são sintomas

comuns em OA moderada e grave, e, também, confirmam que uma pontuação de fibrose sinovial mais alta está correlacionada com pontuações mais baixas para o grau Kellgren Lawrence, o que indica que a fibrose sinovial pode estar negativamente associada aos sintomas clínicos da OA.

Garcia et al.¹⁰⁵, em 2020, examinam as células do líquido sinovial, determinando sua capacidade condrogênica após expansão da cultura e estabelecendo os fenótipos dos subconjuntos de macrófagos em células não cultivadas. Os autores concluem que o conteúdo celular do líquido sinovial de pacientes com lesões focais da cartilagem é composto por uma população heterogênea de células reparadoras e inflamatórias, e pontuam que investigações adicionais são necessárias para compreender o papel desempenhado por essas células na tentativa de reparo e no processo inflamatório em articulações doentes.

Li et al.¹⁰⁶, em 2020, por meio de estudo em modelo animal de artrose, identificam que a decorina retarda a perda de agregan e a fibrilação da superfície da cartilagem, desempenhando um papel protetor na atenuação da degeneração cartilaginosa.

Han et al.¹⁰⁷, em 2021, avaliam a atividade de decorina e biglycan em ratos na progressão de um modelo animal de artrose pós-traumática. Após compararem o fenótipo de OA de ratos com a supressão gênica da expressão de cada proteoglicano, os autores concluem que a decorina apresenta um papel mais importante na regulação da degradação da cartilagem, enquanto o biglycan é mais importante para a regulação da estrutura do osso subcondral.

Ozler et al.¹⁰⁸, em 2021, avaliam os níveis séricos e no líquido sinovial de decorina em pacientes com OA do joelho e grupo-controle a fim de investigar se esses níveis estavam associados à OA e à pontuação da Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis (WOMAC). Os autores observam uma correlação positiva entre o nível de decorina sérica e a pontuação WOMAC, concluindo que o aumento nos níveis de decorina sérica pode ser indicativo de alterações na estrutura da matriz extracelular é considerado fator de risco associado à OA. O nível de decorina no líquido sinovial, no entanto, não foi associado à OA.

Alcaide-Ruggieto et al.¹⁰⁹, em 2021, revisam os papéis dos diferentes tipos de colágeno na cartilagem normal e no contexto de reparação condral. Os autores concluem que existem muitos tipos de colágenos presentes na cartilagem articular, tanto colágenos principais quanto secundários, todos cruciais para manter a saúde da cartilagem. Para determinar com precisão a qualidade do tecido de reparo após uma lesão condral, a estrutura completa do tecido de cartilagem reparado, incluindo células e seu ambiente e tipos de colágeno principais e secundários na MEC, deve ser incluída nos métodos de avaliação histopatológica.

Garcia et al.¹¹⁰, em 2021, investigam a imunolocalização de perlecan e colágeno em biópsias de defeitos na cartilagem articular humana, que foram reparados naturalmente ou por meio de terapia celular autóloga, comparando-as com cartilagem normal de indivíduos da mesma faixa etária. Em tecidos reparados, tanto naturais quanto com terapia celular, em que havia presença de cartilagem hialina, o perlecan localiza-se, predominantemente, nas regiões pericelulares, mas de maneira mais intensa do que na cartilagem normal.

Zhang et al.²⁸, em 2021, resumem o consenso de trabalhos clínicos, patológicos e os possíveis alvos terapêuticos para fibrose sinovial na OA. Em relação à interdependência de sinovite e fibrose sinovial, concluem que os estudos atuais não podem concluir se a presença de fibrose sinovial pode causar sinovite de forma independente ou que a presença de fibrose sinovial possa ocorrer de forma independente à sinovite. O fato de não se saber quem vem primeiro, continua a estimular pesquisas. Em relação ao envolvimento de fibrose sinovial na OA, concluem que a fibrose sinovial associada à OA deve ser identificada como o acúmulo de colágeno sob condições patológicas, dominado pela remodelação anormal dos tipos de colágeno I e III na subíntima, juntamente com angiogênese e invasão nervosa. Portanto, no estudo de fibrose sinovial, angiogênese e invasão nervosa também devem ser consideradas. Concluem, também, que a secreção anormal de células sinoviais forma a base patológica da fibrose sinovial devido aos efeitos inerentes da matriz extracelular como um fator patogênico e estímulos biomecânicos envolvidos na OA. O ambiente de colágeno subsequente apresenta um estado fibrótico com alterações na permeabilidade sinovial e propriedades mecânicas, o que pode causar dor e rigidez nas articulações da OA. Em relação à origem da fibrose sinovial, os autores pontuam que a fibrose normalmente se origina a partir de um reparo anormal do tecido em resposta à cicatrização de feridas. Os fibroblastos ativados por múltiplos sinais desempenham um papel central neste processo, diferenciam-se em miofibroblastos e secretam moléculas de matriz para reconstruir a estrutura da matriz extracelular. Qualquer fator de risco para a OA primária, como envelhecimento, hipóxia, alterações no ambiente da MEC e estresse mecânico, pode desempenhar um papel semelhante na fibrose sinovial.

Evidências de pesquisa direta sobre fibrose sinovial (FS) em OA e estudos relacionados sugerem o seguinte: (I) A fibrose é o resultado da inflamação. Não está claro se o processo contínuo de FS tem um efeito patogênico na OA, especialmente em relação à dor. Se for assim, uma intervenção eficaz para retardar a progressão da fibrose é necessária, mesmo que a fibrose seja irreversível, pois a maior vantagem é a melhora da função articular e o alívio dos sintomas da OA. (II) Embora tenhamos algum entendimento das mudanças ambientais da MEC e do mecanismo pelo qual elas estão envolvidas no processo patológico de FS associado à OA, nosso

conhecimento desse mecanismo patológico ainda é insuficiente. A angiogênese e a invasão nervosa, provavelmente, têm uma forte correlação com o processo patológico de FS e podem estar envolvidas no desenvolvimento de FS, o que merece maior exploração. (III) A pesquisa existente sobre os alvos farmacodinâmicos e os efeitos de intervenção da FS não é suficiente, e mais exploração ainda é necessária no futuro. Notavelmente, o uso combinado de medicamentos antifibróticos tem alto potencial durante a terapia anti-inflamatória para OA.

Acevedo et al.¹¹¹, em 2021, investigaram as diferenças celulares e moleculares entre áreas centrais e periféricas de lesões cartilaginosas traumáticas em humanos, correlacionando essas características com o estado inflamatório sinovial. Em 42 pacientes com lesões condrais focais, os autores demonstraram que, mesmo em articulações altamente inflamadas, os condrócitos da periferia da lesão exibem expressões marcadamente maiores de colágeno tipo II/I e agrecan/versican, além de níveis significativamente inferiores de MMP-13 e ADAMTS-5, em comparação com os condrócitos centrais da área lesada.

Tschaikowsky et al.¹¹², em 2022, avaliaram a mudança de espessura e composição de colágeno na OA por meio de microscopia, imunofluorescência e microscopia eletrônica. Os autores encontraram redução da espessura das fibras colágenas tipo II provavelmente devido à formação de colágeno tipo I rico em fibrocartilagem nos casos de artrose leve e sugerem que a determinação da espessura de fibras colágenas seja um novo marcador para detecção de artrose precoce e um novo caminho para o tratamento da artrose.

Moretti et al.¹¹³, em 2022, revisaram os biomarcadores mais relevantes no estudo da OA. Proteoglicanos como agrecan e decorina foram encontrados significativamente reduzidos na OA e alguns biomarcadores demonstraram ser úteis para estadiar a temporalidade da OA: a periostina apresentou-se aumentada na OA inicial, enquanto CRTA1 e metaloproteinases (MMPs) mostraram-se aumentadas em estágios avançados da OA. No contexto da regeneração tecidual natural, o colágeno tipo III foi encontrado aumentado na OA precoce, mas reduzido na OA tardia.

Ali et al.¹¹⁴, em 2022, investigaram o proteoma e a interação pareada entre proteínas no líquido sinovial de pacientes com OA avançada de joelho (submetidos à artroplastia), OA inicial de joelho (submetidos à artroscopia por lesão meniscal degenerativa) e controles falecidos sem OA de joelho. As amostras de líquido sinovial foram analisadas utilizando espectrometria de massa de última geração. Foi observado que mais proteínas estavam aumentadas na OA inicial em comparação aos controles do que na OA avançada em comparação aos controles. Para a maioria dessas proteínas, as variações de expressão entre OA avançada e controles e entre OA inicial e controles foram notavelmente semelhantes, sugerindo possível envolvimento no

processo patológico da OA. Além disso, este estudo demonstrou, pela primeira vez, padrões distintos de coexpressão proteica, indicando que a interação entre os componentes proteicos é aumentada na OA inicial e perdida na OA avançada. Esses achados reforçam que futuros esforços devem concentrar-se nas fases mais precoces da doença, em vez de nos estágios mais avançados tradicionalmente estudados.

Wei et al.²¹, em 2023, analisaram a situação atual da pesquisa sobre a biologia da matriz extracelular sinovial, e discutiram o papel e o mecanismo dessa no estado fisiológico e na OA, resumindo as estratégias atuais para diagnóstico e tratamento da OA.

Kasaeian et al.¹¹⁵, em 2023, realizaram uma revisão das técnicas de imagem disponíveis e emergentes usadas para avaliar as alterações ósseas subcondrais relacionadas à OA do joelho. Os autores concluíram que, apesar da carência de tratamento farmacológico modificador de doença para OA, a familiaridade com as diversas modalidades de imagem disponíveis e avançadas, certamente, ajudará na otimização dos protocolos de imagem para avaliação de potenciais tratamento modificadores de doença e seu efeito protetor na OA do joelho em futuras investigações clínicas.

Falkenlove et al.²⁶, em 2023, realizaram um estudo com o objetivo de investigar o perfil de biomarcadores da MEC em sinoviócitos semelhantes a fibroblastos (FLS) de pacientes com OA em resposta ao fator de crescimento articular TGF- β 1 e investigar o efeito de um tratamento antifibrótico ou anti-inflamatório em biomarcadores de fibrose. O TGF- β 1 induziu uma resposta fibrótica em sinoviócitos semelhantes a fibroblastos de pacientes com OA, caracterizada por níveis aumentados de colágeno tipo I, III e VI. Essa resposta fibrótica foi reduzida pelo antifibrótico Nintedanibe e pelo inibidor de JAK Tofacitinibe. Esses achados indicam que os inibidores de JAK podem possuir propriedades antifibróticas e podem ser explorados como tratamentos antifibróticos na fibrose sinovial.

Sandhu et al.¹¹⁶, em 2023, revisaram e forneceram uma visão geral concisa de estudos recentes sobre OA usando quatro classes de biomarcadores potenciais para medir a incidência da doença, estadiamento, prognóstico e eficácia da intervenção terapêutica. Os autores incentivaram estudos que investigam a convergência de biomarcadores de diferentes fluidos para que haja interseção de biomarcadores locais, sistêmicos e excretados para o manejo da OA. Os autores concluem que investigar populações de OA para gerar modelos utilizando múltiplas entidades moleculares, seria útil para definir e refinar ainda mais quais biomarcadores de OA estão mais associados com cada subtipo diferente de OA.

Sampath et al.¹¹⁷, em 2023, revisaram o conhecimento atual sobre a contribuição da síndrome metabólica e seus vários componentes para a patogênese e progressão da OA. Os

autores constatarem que houve uma mudança de paradigma na forma como a patogênese da OA é percebida e ressaltam a necessidade de abordar a síndrome metabólica e seus fatores de risco modificáveis no tratamento da OA metabólica. A inflamação crônica de baixo grau orquestrada por várias adipocinas e citocinas pró-inflamatórias associadas à obesidade, e a homeostase desregulada de lipídios e glicose estão entre os principais fatores que impulsionam a patogênese da OA associada à síndrome metabólica. Concluem que a identificação de papéis-chave para vários reguladores metabólicos na patogênese da OA abriu novos caminhos no reconhecimento de alvos terapêuticos e no desenvolvimento de novos tratamentos para o tratamento da OA metabólica.

Taheri et al.¹¹⁸, em 2023, identificaram uma rede tridimensional de microcanais subcondrais que conecta a zona profunda da cartilagem à medula óssea. Seus dados apontaram para um alargamento da rede de microcanais do osso subcondral e uma deterioração estrutural coletiva do osso subcondral na OA idiopática inicial.

Alcaide-Ruggiero¹¹⁹, em 2023, revisaram diversos artigos^{120–128} e estabeleceram uma visão geral dos proteoglicanos como moléculas primárias da cartilagem articular. Os autores descrevem os diferentes tipos de proteoglicanos presentes tanto na cartilagem saudável quanto na cartilagem lesionada, destacando seus respectivos papéis. Além disso, a revisão enfatiza a importância da avaliação dos proteoglicanos para determinar a qualidade do tecido articular reparado e conclui com uma descrição visual e narrativa da distribuição e presença do agregan na cartilagem saudável.

Davidson et al.¹²⁹, em 2024, avaliaram sessenta e cinco pacientes com lesões agudas unilaterais do LCA submetidos a exames de ressonância magnética bilateral do joelho em até 1 mês após a lesão. Os autores observaram após a lesão do LCA dano condral inicial e sustentado afetando, predominantemente, o compartimento tibiofemoral lateral, mas a degeneração condral longitudinal também ocorreu em outros compartimentos do joelho lesionado e contralateral.

Oláh et al.¹³⁰, em 2024, categorizaram a progressão temporal das alterações ósseas subcondrais induzidas pelo comprometimento da integridade do menisco em modelos murinos e ratos de osteoartrite (OA) de joelho. Os autores observaram uma perda precoce de elementos trabeculares subarticulares mais finos, seguidos por uma esclerose subsequente de todo o osso subcondral ocorrendo paralelamente à degeneração progressiva da cartilagem articular.

Takahashi et al.¹³¹, em 2024, em um modelo experimental de osteoartrite induzida por desestabilização do menisco medial em ratos, demonstraram que alterações moleculares significativas — como aumento da expressão de MMP-13, ADAMTS-5, Gremlin-1 e HYBID

(*hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization*) — ocorrem já nas primeiras 24 horas após a lesão, antecedendo alterações morfológicas visíveis na cartilagem.

Trengove et al.¹³², em 2024, estabeleceram um modelo “ex vivo” de reparo da cartilagem, dinamicamente carregado, utilizando explantes de cartilagem humana. Esse modelo foi utilizado para avaliar a eficácia de uma terapia com células-tronco, administrada por meio de um hidrogel bioadesivo composto por gelatina metacrilato (GelMA) e transglutaminase microbiana para reparar o defeito-modelo. Esse modelo ex vivo tem o potencial de postergar a necessidade de estudos pré-clínicos dispendiosos e oferecer uma avaliação mais detalhada das estratégias de reparo da cartilagem do que seria possível “in vivo”.

Gottreich et al.¹³³, em 2024, em sua revisão sistemática, destacaram que alterações moleculares no microambiente sinovial de pacientes submetidos à artroscopia e reconstrução do LCA – incluindo níveis de citocinas inflamatórias, metaloproteinases e mediadores anabólicos e catabólicos – podem refletir o estado biológico da articulação e impactar na resposta à cirurgia. Biomarcadores como IL-6, MMP-3, TNF- α e outros mostraram correlação com dor persistente, degeneração condral acelerada ou resultados funcionais inferiores.

Zhang et al.²⁴, em 2025, avaliaram o efeito do plasma rico em plaquetas (PRP) na fibrose sinovial e na degeneração de cartilagem na OA. Os autores concluíram que o uso do PRP pode agravar a fibrose sinovial, mas possuiu um efeito inibitório da degradação de cartilagem.

Ge et al.¹³⁴, em 2025, investigaram as alterações nas vias metabólicas de pacientes com OA por meio de análises metabolômicas e proteômicas, e exploraram os potenciais mecanismos subjacentes à osteogênese sinovial durante a progressão da OA. Os autores encontraram aumento da expressão de colágeno tipo I na membrana sinovial e a elevação da atividade da fosfatase alcalina, confirmando a ocorrência de osteogênese, potencialmente impulsionada pela diferenciação de fibroblastos sinoviais, células-tronco mesenquimais e condrócitos hipertróficos.

Liao et al.²⁵, em 2025, investigaram o papel da via de sinalização PI3K/AKT na fibrose sinovial e no tratamento LIPUS (*low-intensity pulsed ultrasound*) na fibrose sinovial. Os resultados revelaram que o LIPUS retardou a progressão da OA. A coloração de Masson revelou que o LIPUS reduziu a deposição de colágeno no tecido sinovial em ratos com OA. Da mesma forma, a imunofluorescência demonstrou que o LIPUS diminuiu significativamente a expressão de α -SMA, Col1a1 e Col3a1 em ratos com OA.

Lawrence et al.¹³⁵, em 2025, realizaram uma revisão destacando vários biomarcadores na OA, enfatizando seus potenciais papéis no diagnóstico precoce e no desenvolvimento terapêutico. Ao identificar e analisar esses biomarcadores, os autores acreditam estar compreendendo a patogênese da OA, abrindo caminho para um manejo mais eficaz dessa condição debilitante. Os autores concluem que estudos adicionais são necessários para validar em populações maiores e mais diversas, e estabelecer a relação temporal entre os níveis de biomarcadores e a progressão da doença.

4 MÉTODOS

4 MÉTODOS

4.1 DESENHO, LOCAL E FORMATO DO ESTUDO

Este estudo de corte transversal comparativo foi realizado no Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IOT HC FMUSP), e as análises morfológicas, histoquímicas e de imunofluorescência foram realizadas no Laboratório de Matriz Extracelular da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da USP com a colaboração do Laboratório de Técnicas Histológicas do Departamento de Patologia da FMUSP. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa número 2.725.612 (Anexo A). Foi obtido também consentimento informado dos pacientes incluídos (Anexo B).

4.2 CÁLCULO AMOSTRAL E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

As amostras e os grupos foram definidos com base nas informações a seguir:

4.2.1 Cálculo amostral

O desfecho primário utilizado foi a diferença entre grupos (LCF vs OA) na expressão sinovial de colágeno. Conforme recomendado por Moore, em 2022, a utilização de 10 amostras por grupo é adequada, com base nas diferenças previamente descritas na sinóvia humana⁶⁵. O tamanho amostral foi estimado para teste t bicaudal, considerando um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$) e poder estatístico de 80% ($\beta = 0,20$). Cabe ressaltar que a obtenção de amostras teciduais humanas é um fator limitante, e diversos estudos prévios de caráter histológico em osteoartrite empregaram séries com 8 a 15 casos por grupo, reconhecendo a dificuldade prática de alcançar grandes números de pacientes^{12,60,62,72,98,136–139}. Assim, a amostra final adotada neste estudo (LCF, $n = 9$; OA, $n = 11$; controle, $n = 4$) encontra-se em consonância com a literatura internacional e foi considerada adequada para atender aos objetivos analíticos propostos, garantindo poder suficiente para detectar diferenças relevantes nos principais desfechos.

4.2.2 Critérios de inclusão

Os pacientes foram classificados nos grupos conforme os critérios de inclusão a seguir:

❖ Grupo OA:

- OA de joelho com classificação radiográfica de Kellgren/Lawrence(KL)¹⁴⁰ superior a 3;
- Idade maior do que 60 anos;
- Em programação para cirurgia de artroplastia total de joelho no IOT HC FMUSP por falha no tratamento conservador;
- Ausência de doença inflamatória articular, infecção articular prévia e cirurgia prévia na articulação.

❖ Grupo LCF:

- LCF grau III ou IV pelo escore de Outerbridgel^{141,142}, unipolar, única no compartimento afetado, conforme avaliação por ressonância magnética;
- Idade menor do que 60 anos;
- Ausência de OA de joelho e de defeito ósseo focal avaliadas por radiografias e ressonância magnética;
- Em programação de tratamento cirúrgico de lesões ligamentares, meniscais e condrais no IOT HC FMUSP;
- Ausência de doença inflamatória articular, infecção articular prévia e cirurgia prévia na articulação;
- Menos de 6 anos de evolução da lesão.

❖ Grupo-controle:

- Em programação para cirurgia de joelho no IOT HC FMUSP;
- Idade entre 20-40 anos;
- Ausência de comorbidades clínicas;
- Ausência de doença inflamatória articular, infecção articular prévia, cirurgia prévia na articulação;
- Ausência de artrose no joelho;
- Ausência de lesão condral no joelho.

4.2.3 Critérios de exclusão

Foram critérios de exclusão para os grupos:

- Ausência de consentimento para biópsia de material biológico para análise;
- Não realização de cirurgia programada por qualquer motivo.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO

4.3.1 Grupo LCF

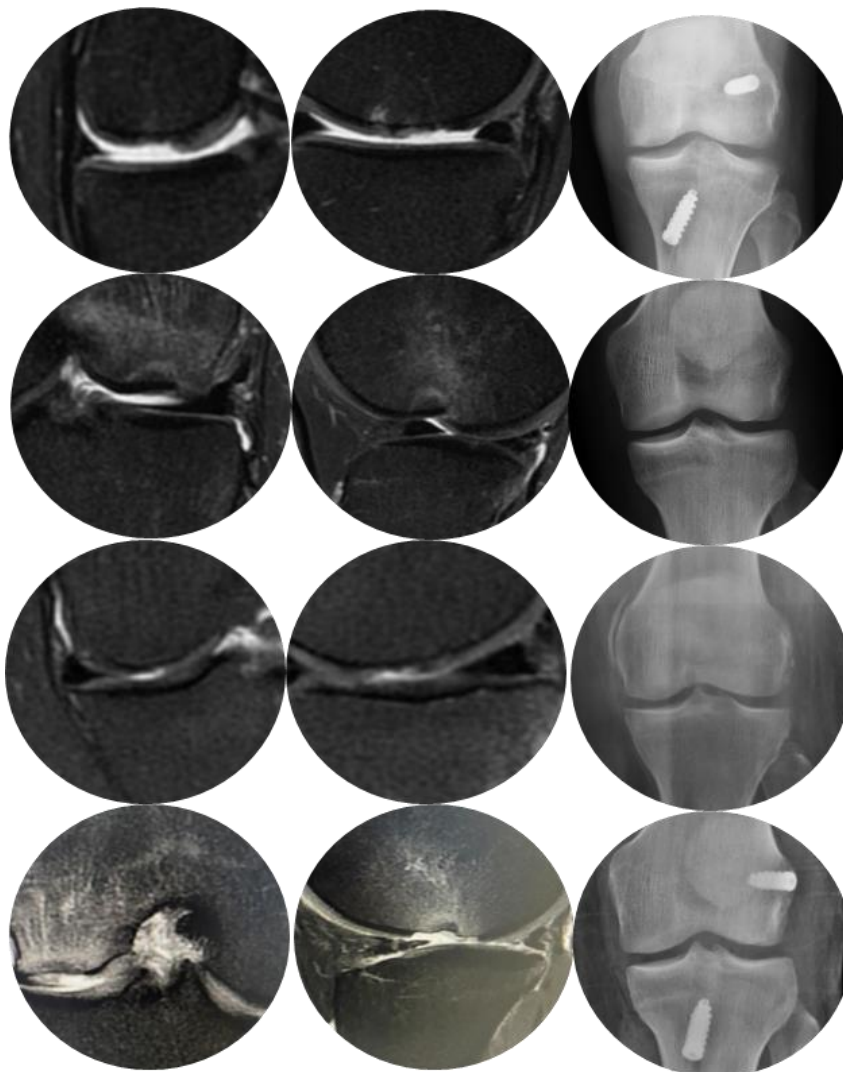
A idade dos pacientes pertencentes ao grupo LCF variou entre 19 e 56 anos, com média de 33,1 anos.

No grupo LCF, 6 pacientes eram hígidos, 1 paciente apresentou hipotireoidismo, 1 paciente era tabagista e 1 paciente era hipertenso, obeso e diabético tipo II (DM).

Foram incluídos no grupo LCF 4 joelhos esquerdos e 5 joelhos direitos.

Abaixo, observam-se exemplos de exames de imagem para seleção dos casos de lesão condral com subsequente imagem radiográfica mostrando ausência de artrose (Figura 1).

Figura 1 - Imagem ilustrativa de exames radiológicos nos casos selecionados para o grupo LCF. Observam-se variedades de lesões condrais observadas pela descontinuidade do tecido condral (grau III ou grau IV), em alguns casos, já com edema ósseo associado. Nota-se ausência de artrose radiográfica na terceira coluna.



Fonte: Produção do próprio autor.

4.3.2 Grupo OA

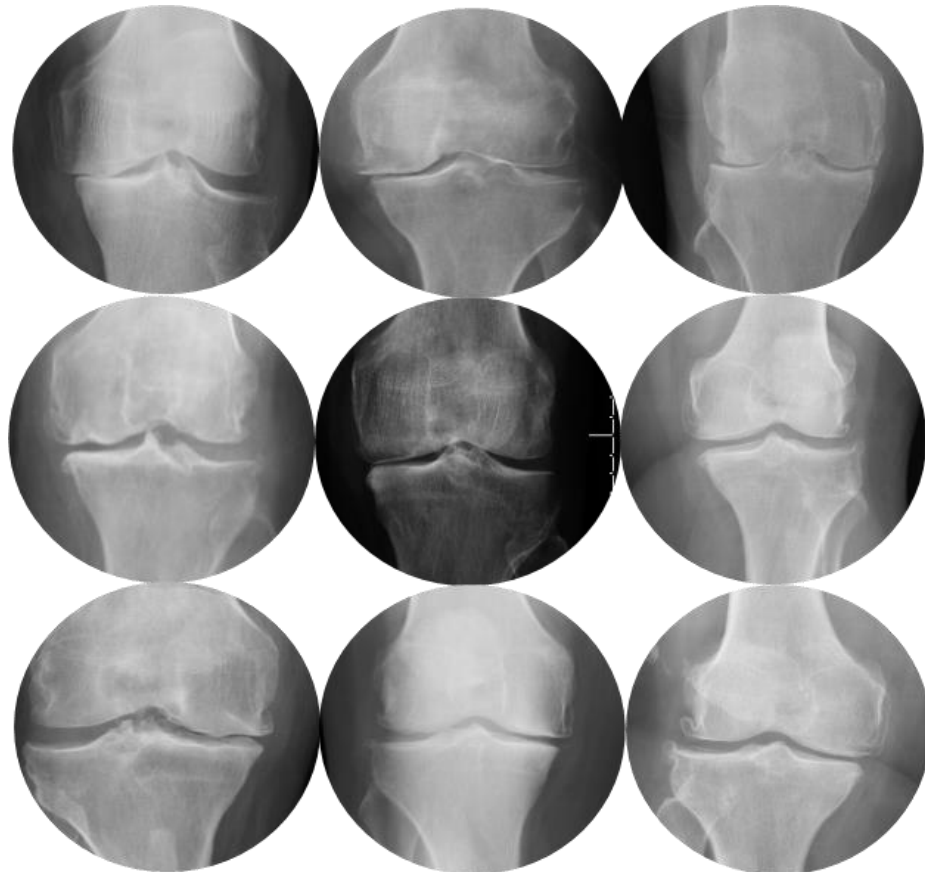
A idade dos pacientes variou de 63 a 91 anos, com média de 70,72 anos.

No grupo OA, 8 pacientes apresentaram hipertensão arterial sistêmica (HAS) elevada, 1 paciente era etilista, 2 pacientes apresentaram hiperplasia prostática benigna (HPB), 2 pacientes apresentavam DM, 3 pacientes apresentaram dislipidemia (DLP), 2 pacientes eram obesos e 1 apresentava enfisema pulmonar. Foram incluídos no grupo OA 5 joelhos esquerdos e 6 joelhos direitos.

Todos os pacientes do grupo OA foram classificados como Kellgren e Lawrence 4.

Abaixo, observam-se exames de imagem de paciente do grupo OA com artrose grave (KL>3) de joelhos (Figura 2).

Figura 2 - Imagens radiográficas demonstrativas dos pacientes selecionados para o grupo OA. Nota-se diminuição de espaço articular, osteófitos, esclerose subcondral e deformidades ósseas.



Fonte: Produção do próprio autor.

4.3.3 Grupo controle

A idade dos pacientes incluídos no estudo variou no grupo-controle de 22 a 37 anos com média de 31,5 anos. Em relação às comorbidades, todos os pacientes do grupo-controle negaram patologias de saúde. Foram incluídos no grupo-controle 3 joelhos esquerdos e 1 joelho direito.

O perfil clínico dos pacientes pode ser observado de forma resumida abaixo (Tabela 1).

Tabela 1 - Perfil clínico e epidemiológico dos pacientes por grupo

Grupo	Controle	LCF	OA
Lateralidade esquerda	75%	44%	45%
Lateralidade direita	25%	56%	55%
Média de idade	31,5	33,1	70,7
Variação de idade	22–37	19–56	63–91
% HAS	0%	11%	72%
% DM	0%	11%	18%
% DLP	0%	0%	36%
% Obesidade	0%	11%	18%
% Enfisema	0%	0%	9%
% HPB	0%	0%	18%
% Apendicectomia	0%	0%	9%
% Etilismo	0%	0%	9%
% Tabagismo	0%	11%	9%
% Hipotireoidismo	0%	11%	0%

Fonte: Dados do estudo.

O tempo médio de evolução das lesões iniciais até o tratamento cirúrgico do grupo-controle foi de 32 meses, no grupo LCF, 24, 8 meses (1 a 72 meses) e, no grupo OA, mais de 120 meses. O tempo de evolução clínica até biópsia de cada caso pode ser avaliado abaixo (Tabela no Anexo C)

4.4 PROCEDIMENTOS, COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

No momento da cirurgia para o tratamento habitual da sua lesão, os pacientes de todos os grupos foram submetidos adicionalmente à biópsia osteocondral e de sinóvia.

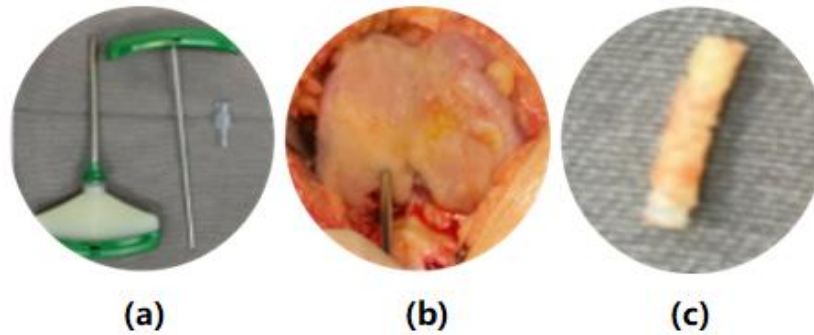
Todas as cirurgias foram realizadas com anestesia geral e ou raquianestesia e, antes da coleta de material, foi realizado um inventário articular para confirmar se foram preenchidos os critérios de inclusão, divisão de grupos e para avaliar possível presença de critérios de exclusão.

4.4.1 Biópsias de unidade osteocondral

A biópsia de cartilagem e osso subcondral¹⁴³ foi realizada com agulha de biópsia JAMSHID 8G, de forma a obter dois espécimes cilíndricos com cartilagem, cartilagem calcificada e osso subcondral, sendo fixados em formalina 10% por 24 horas logo após a extração.

A imagem abaixo apresenta a biópsia osteocondral utilizada (Figura 3).

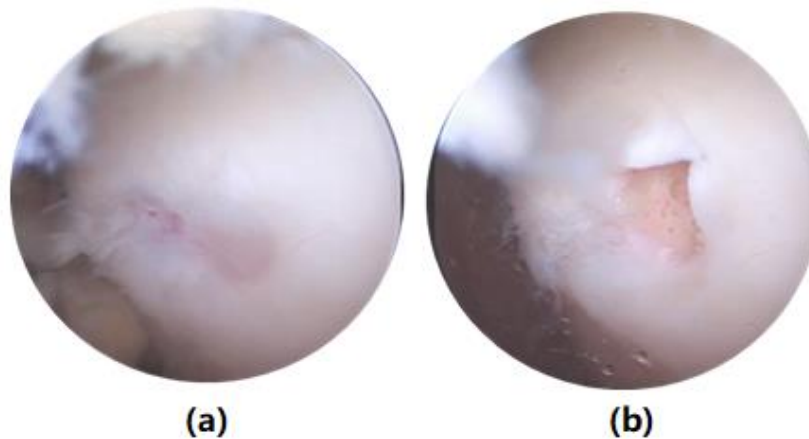
Figura 3 - Identificação do método para extração de material osteocondral. Observa-se agulha de biópsia utilizada (a), posicionamento para retirada de biópsia perpendicular à superfície (b) e material extraído para análise (c).



Fonte: Produção do próprio autor.

A imagem abaixo mostra o aspecto artroscópico pré e pós-biópsia osteocondral (Figura 4):

Figura 4 - Imagem comparativa entre lesão pré e pós-biópsia de lesão osteocondral. Lesão condral pré-biópsia (a) e aspecto intralesional de sítio de biópsia (b).

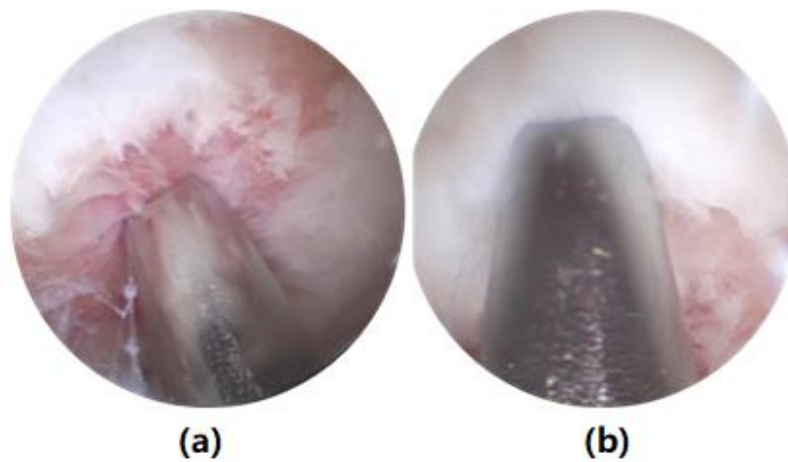


Fonte: Produção do próprio autor.

- LCF

Para os pacientes com LCF, foram obtidas duas biópsias em locais diferentes, no centro e na periferia/borda da LCF. A imagem abaixo mostra os locais de biópsias em visualização artroscópica (Figura 5).

Figura 5 - Imagem demonstrativa dos locais de biópsia nos casos de lesão condral focal no centro(a) e borda/periferia da lesão(b).

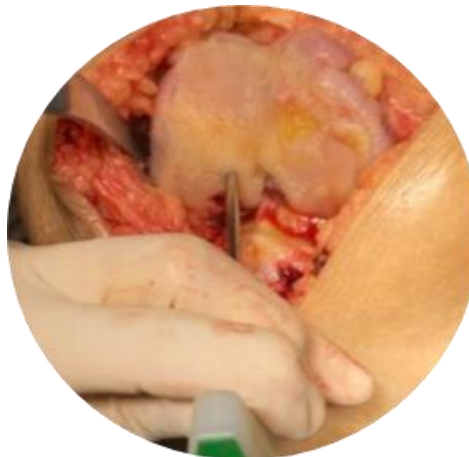


Fonte: Produção do próprio autor.

- OA

Para pacientes com OA, foram biopsiadas duas amostras. Uma amostra foi realizada em área menos afetada e outra mais acometida pela perda condral (Figura 6).

Figura 6 - Imagem demonstrativa nos casos do grupo OA. Observa-se na imagem o processo de retirada de amostra osteocondral.



Fonte: Produção do próprio autor.

Nota: Observa-se na imagem o processo de retirada de amostra osteocondral.

- Controle

As biópsias realizadas no grupo-controle foram feitas na região fora da área de carga da crista troclear medial a fim de evitar morbidade da biópsia conforme literatura sugere para transplante osteocondral autólogo¹⁴⁴.

4.4.2 Utilização de amostras para análise separada de escore de osso e cartilagem

Para melhor comparação entre os grupos em relação a cada parâmetro, as análises estatísticas comparativas foram realizadas da seguinte forma:

- Cartilagem:

A comparação dos parâmetros de cartilagem entre os grupos foi feita por meio da comparação entre a biópsia representativa da área menos afetada na OA com a área da periferia/borda da LCF. Não foram utilizados os dados das biópsias de cartilagem do fundo do defeito (centro da LCF e área mais afetada da OA) dos dois grupos dado o grande acometimento esperado da cartilagem no centro da lesão dos dois grupos, o que impossibilita uma comparação adequada.

- Osso subcondral:

Para melhor caracterizar o acometimento do osso subcondral nas diversas regiões biopsiadas, a comparação entre as análises das biópsias do osso subcondral foram feitas da seguinte maneira:

- 1) Comparação dos escores de osso subcondral no fundo do defeito (centro) da LCF x biópsia da área mais acometida da OA x controle – Comparação intergrupos;
- 2) Comparação dos escores de osso subcondral na periferia (borda) da LCF x área menos afetada na OA x controle – Comparação intergrupos;
- 3) Comparação dos escores de osso subcondral na periferia (borda) da LCF x fundo defeito (centro) da LCF – Comparação intragrupo;
- 4) Comparação dos escores de osso subcondral na área mais afetada da OA x biópsia da área menos afetada da OA – Comparação intragrupo.

4.4.3 Biópsia sinovial

Pequena amostra de tecido sinovial foi coletada após o acesso habitual à articulação, sendo fixados em formalina 10% por 24 horas¹⁴⁵.

Para a coleta de sinóvia, todas as biópsias de ambos os grupos foram realizadas na região supra patelar por artroscopia e instrumental artroscópico padrão, sendo coletado tecido na região central mais próxima ao início condral troclear.

4.4.4 Cuidados pós-operatórios

As biópsias realizadas não interferiram na reabilitação pós-operatória dos pacientes. Os cuidados pós-operatórios não foram modificados e seguiram os protocolos de reabilitação indicados para os tratamentos realizados.

4.5 LOCAIS DE COLETA, GERENCIAMENTO E ANÁLISE DE AMOSTRAS

Todos os casos foram coletados no Instituto de Ortopedia e Traumatologia, levados para preparação e corte das lâminas no laboratório Histocell – Soluções em Anatomia Patológica e analisados no laboratório de investigação médica (LIM) 17 do Departamento de Reumatologia da FMUSP e no Laboratório de Histomorfometria de Pulmão, do Departamento de Patologia da FMUSP.

4.6 METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS ESTUDADOS

Os dados foram obtidos conforme cada parâmetro e tecido estudado. Os métodos de obtenção de análise de cada método estão discriminados abaixo:

4.6.1 Microscopia óptica e análise qualitativa da estrutura e da matriz da cartilagem

O tecido sinovial e a cartilagem foram coletados para análise histológica. Depois de fixados em formol a 10% por 24 horas, as amostras de tecido foram envoltas em papel tecido para garantir uma melhor distribuição espacial, sendo, então, submetidas às técnicas histológicas de rotina para fixação em parafina. Foram realizados 10 cortes com uma espessura de 4-5 μm a intervalos de 50 μm . As secções foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) para avaliar a estrutura do tecido e caracterizar as células por meio de microscopia óptica. Para análise dos proteoglicanos, as lâminas foram coradas pela coloração Safranin-O/Fast-green e, para análise do perfil celular do tecido sinovial, foi utilizado a HE e o tricrômico de Masson para análise da quantidade de tecido fibrótico e colágeno total.

4.6.2 Avaliação do grau de artrose - Escore OARSI

Três observadores, sem o conhecimento prévio dos casos, analisaram o tecido cartilaginoso das lâminas preparadas. A avaliação do grau de acometimento osteocondral foi feita por meio da graduação do escore da Sociedade Internacional de Pesquisa em Osteoartrite (OARSI), (Pritzker et al. 2006) que avalia a progressão dos achados com base na tabela abaixo (Tabela 2):

Tabela 2 - Escore histopatológico de cartilagem da OARSI

Grau (característica principal)	Critérios associados (reação tecidual)
Grau 0: superfície intacta, morfologia da cartilagem preservada	Matriz: arquitetura normal Células: íntegras, orientação apropriada
Grau 1: superfície intacta	Matriz: zona superficial intacta, edema e/ou fibrilação superficial (abrasão), condensação focal da matriz superficial Células: morte, proliferação (aglomerados), hipertrofia na zona superficial Reação deve ser mais do que fibrilação superficial isolada
Grau 2: descontinuidade da superfície	Como no grau anterior + Descontinuidade da matriz na zona superficial (fibrilação profunda) ± Depleção de corante catiônico (Safranina O ou Azul de Toluidina) no terço superior da cartilagem ± Aumento focal da coloração pericondral (zona média) ± Desorganização das colunas de condrócitos Células: morte, proliferação (aglomerados), hipertrofia
Grau 3: fissuras verticais (fendas)	Como no grau anterior Fissuras verticais na matriz até a zona média, fissuras ramificadas ± Depleção de corante catiônico até os 2/3 inferiores da cartilagem ± Nova formação de colágeno (microscopia com luz polarizada, coloração Picro Sirius Red) Células: morte, regeneração (aglomerados), hipertrofia, domínios cartilagosos adjacentes às fissuras
Grau 4: erosão	Perda da matriz da cartilagem: delaminação da camada superficial, formação de cistos na camada média Escavação: perda da matriz na camada superficial e zona média
Grau 5: denudação	Superfície: osso esclerótico ou tecido reparativo, incluindo fibrocartilagem na superfície desnuda Microfraturas com reparo limitado à superfície óssea
Grau 6: deformação	Remodelamento ósseo (além da formação de osteófitos) Inclui: microfraturas com reparo fibrocartilaginoso e ósseo ultrapassando a superfície original

Fonte: Adaptado de *Osteoarthritis and cartilage, OARSI histopathology initiative* (doi: 10.1016/j.joca.2005.07.017).

4.6.3 Avaliação do grau de acometimento subcondral

Três observadores, sem o conhecimento prévio dos casos, analisaram o tecido ósseo por meio das lâminas preparadas. A avaliação do osso subcondral dos casos foi realizada com base na classificação descrita por Aho et al.⁹⁸ com a seguinte graduação:

Grau 0: Estágio inicial da artrose. Não há esclerose subcondral. Trabeculado ósseo e placa subcondral finos. Cartilagem calcificada tem contato direto com medular óssea por meio de fenestrações no osso subcondral.

Grau 1: Pouca esclerose subcondral e pouco aumento de volume ósseo. Espessamento do trabeculado ósseo pode ser visto. Ainda há contato da cartilagem com a medular.

Grau 2: Aumento evidente da esclerose óssea e volume ósseo. Fibrilações podem ser vistas na placa óssea subcondral. Não há contato da cartilagem calcificada com a medular óssea.

Grau 3: Estágio tardio. Esclerose subcondral severa e aumento maciço de volume ósseo. Aumento da distância entre cartilagem calcificada e medular óssea. Achatamento da placa subcondral.

4.6.4 Quantificação da celularidade por análise de imagem digital

Com intuito de quantificar a celularidade presente nas amostras de tecido de cartilagem dos pacientes dos diferentes grupos avaliados neste estudo, as lâminas foram escaneadas digitalmente utilizando o scanner Pannoramic 250 (3DHistech, Budapeste, Hungria), sob ampliação de 40x.

Após isso, as imagens digitais geradas para cada uma das lâminas foram, então, analisadas no software usando QuPath de (versão 0.4.4; Centro de Pesquisa do Câncer e Biologia Celular, Universidade de Edimburgo, Edimburgo, Escócia)¹⁴⁶. Durante todo processo de quantificação, todos os núcleos foram avaliados para exclusão manual de quaisquer amostras inválidas (artefatos de imagem ou outros tipos de interferências).

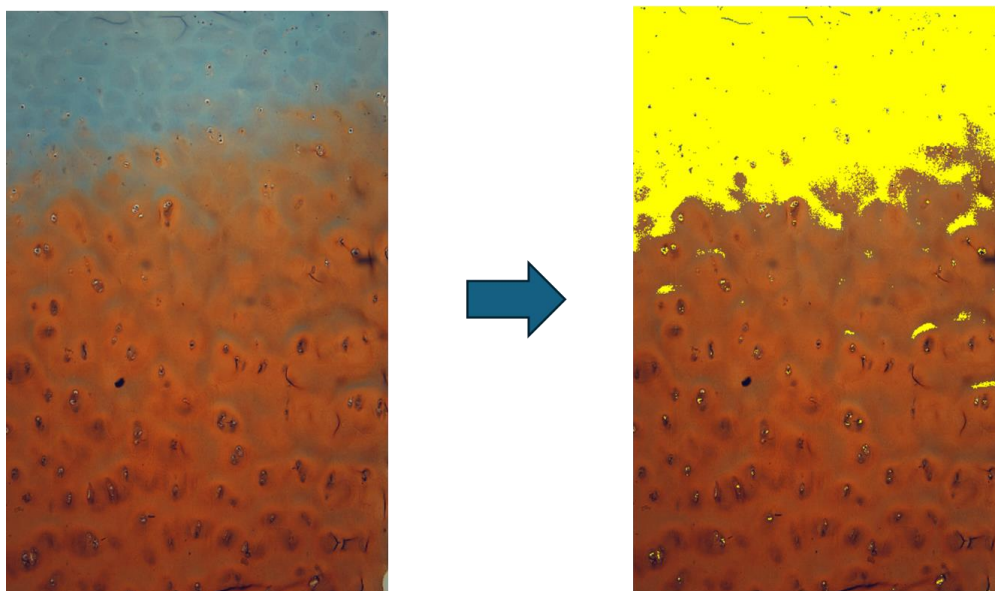
O processo de quantificação utilizando o software QuPath trata-se de um método simples, automatizado e semiassistido. Para tal, inicialmente para cada lâmina digitalizada, é selecionada a área a ser avaliada e, em etapa posterior, são estabelecidos padrões como tamanho da célula/núcleo para detecção celular. Por fim, o software fornece como resultado da análise o número de células detectadas por mm^2 para cada área analisada.

4.6.5 Avaliação dos proteoglicanos

A coloração com Safranina-O foi realizada para avaliar o conteúdo de proteoglicanos na cartilagem¹⁴⁷. As imagens foram capturadas e analisadas utilizando o software Image-Pro Plus 6.0. Para cada caso, dez campos foram selecionados aleatoriamente e adquiridos com ampliação de 400×. A área correspondente à superfície da cartilagem, estendendo-se até a linha de crescimento em cada imagem obtida, foi medida em μm^2 . A perda de proteoglicanos, indicada por áreas com menor intensidade de coloração por Safranina-O (aparecendo com tonalidade azulada), foi quantificada utilizando os recursos de seleção de cor do software Image-Pro Plus 6.0. A média das áreas com coloração reduzida foi calculada e expressa como porcentagem da área total de cartilagem analisada.

As imagens abaixo demonstram exemplos de quantificação de perda de proteoglicanos (Figura 7):

Figura 7 - Demonstrativo de quantificação de perda de proteoglicanos/coloração azul em (a) por meio de densidade de impregnação. Observa-se a quantificação de área corada de perda representada pela marcação em amarelo (b).



Fonte: Produção do próprio autor.

4.6.6 Imunofluorescência para colágeno

Secções de cartilagem montadas em lâminas foram desparafinadas e reidratadas em uma sequência decrescente de álcoois, seguida por reidratação em água corrente, água destilada e solução salina tamponada com fosfato (PBS). A digestão enzimática foi realizada com condroitinase ABC 2UN (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) em tampão contendo 50 mM de Tris (base Trisma pH 8,0), 60 mM de acetato de sódio e 0,02% de albumina de soro bovino (BSA, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) a 37°C por 3h para exposição dos sítios antigênicos. A recuperação antigênica foi, então, realizada utilizando pepsina suína (10 mg/mL; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) diluída em ácido acético 5 N por 30 min a 37°C.

Para bloquear ligações inespecíficas, as secções foram incubadas com 5% de BSA em PBS por 30 min. Um anticorpo monoclonal de camundongo contra colágeno tipo II (1:30; Novus Biologicals, CO, EUA) foi aplicado, e as secções foram incubadas durante a noite a 4°C. Após lavagens com PBS contendo 0,05% de Tween-20, foi aplicado um anticorpo secundário Alexa Fluor 488 conjugado com IgG anti-camundongo (1:200; Invitrogen, Eugene, OR, EUA), juntamente com 0,006% de azul de Evans, e as secções foram incubadas a, aproximadamente, 25°C por 60 min. Por fim, as secções foram lavadas, montadas em mistura de glicerina-PBS e analisadas em microscópio de fluorescência Olympus BX51 (Olympus Corporation, Tóquio, Japão).

Para a imunomarcagem do colágeno tipo I na sinóvia, a recuperação antigênica foi realizada com tampão citrato (pH 6,0; Diagnostic BioSystems, Pleasanton, CA, EUA), aquecido a 95°C por 10 min em vaporizador. Os sítios de ligação inespecíficos foram bloqueados com 5% de BSA em PBS por 30 minutos. As secções foram incubadas durante a noite a 4°C com anticorpos primários policlonais de coelho contra colágeno tipo I (1:100; Rockland Inc., Limerick, PA, EUA), tipo III (1:200; Rockland Inc.) e tipo V (1:600; Rockland Inc.), todos diluídos em PBS. Após lavagens, as secções foram incubadas por 1h a, aproximadamente, 25°C com anticorpos secundários Alexa Fluor 488 conjugados (anticabra e anticoelho IgG, 1:200; Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Canadá, EUA) diluídos em solução contendo 0,006% de azul de Evans. As lâminas foram montadas com glicerina tamponada e analisadas em microscópio de fluorescência Olympus BX51 com o software Image-Pro Plus 6.0. Pele humana foi utilizada como controle positivo, e dez imagens por amostra foram analisadas para quantificação dos parâmetros histológicos, de imunoperoxidase e de imunofluorescência. Dez imagens por amostra foram analisadas para quantificação dos parâmetros histológicos, de imunoperoxidase e de imunofluorescência¹⁴⁸.

4.6.7 Análise do escore de KRENN para sinovite

Três observadores, sem o conhecimento prévio dos casos, analisaram o tecido sinovial para avaliar o grau de sinovite, utilizando o escore de Krenn⁶⁵, que consiste em pontuar as seguintes características: camada de revestimento sinovial (Tabela 3), densidade das células residentes (Tabela 4) e infiltrado inflamatório (Tabela 5). A soma dos valores dá o grau total de sinovite (Tabela 6).

Tabela 3 - Escore de Krenn para camada de revestimento sinovial

Pontos	Camada de células de revestimento sinovial
0	As células de revestimento formam uma camada.
1	As células de revestimento formam 2–3 camadas.
2	As células de revestimento formam 4–5 camadas, poucas células multinucleadas podem ocorrer.
3	As células de revestimento formam mais de 5 camadas, o revestimento pode estar ulcerado e podem ocorrer células multinucleadas.

Fonte: Adaptado de Krenn et al., 2006 (*Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis*).

Tabela 4 - Escore de Krenn para densidade de células

Pontos	Densidade das células residentes
0	O estroma sinovial mostra celularidade normal.
1	A celularidade é ligeiramente aumentada.
2	A celularidade está moderadamente aumentada, podendo ocorrer células multinucleadas.
3	A celularidade é muito aumentada, células gigantes multinucleadas, formação de pannus e granulomas reumatoides podem ocorrer.

Fonte: Adaptado de Krenn et al., 2006 (*Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis*).

Tabela 5 - Escore de Krenn para infiltrado inflamatório

Pontos	Infiltrado inflamatório
0	Ausente.
1	Poucos linfócitos ou células plasmáticas perivasculares.
2	Numerosos linfócitos ou células plasmáticas perivasculares formando ocasionais agregados foliculares.
3	Infiltrado inflamatório denso e em banda ou numerosos e largos agregados foliculares.

Fonte: Adaptado de Krenn et al., 2006 (*Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis*).

Tabela 6 - Escore de Krenn para graus de sinovite

Soma dos pontos	Classificação
0–1	Sem sinovite
2–4	Sinovite de grau baixo
5–9	Sinovite de grau alto

Fonte: Adaptado de Krenn et al., 2006 (*Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis*).

4.6.8 Imuno-histoquímica para Perlecan e Decorina

Seções de sinóvia humana foram montadas em lâminas silanizadas (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). A desparafinação foi realizada incubando as lâminas em xilol aquecido (60-65°C) por 15 minutos, seguida por três banhos em xilol frio. A reidratação foi conduzida em uma sequência decrescente de álcoois e água corrente. Para a recuperação antigênica, as seções foram digeridas com pepsina suína (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. As lâminas foram, então, lavadas três vezes com solução salina tamponada com Tris-fosfato (TBS; pH 7,4).

A atividade da peroxidase endógena foi bloqueada utilizando peróxido de hidrogênio a 3% em quatro ciclos de 5 minutos cada, seguido por lavagens em água corrente, água destilada e TBS.

As lâminas foram incubadas durante a noite a 4°C em câmara úmida com anticorpos primários policlonais de coelho contra decorina (#bs 22748R; 1:100; Bioss Inc., Woburn, MA, EUA) e perlecan (#25848; 1:100; Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, EUA). Após lavagem com TBS, as seções foram incubadas com anticorpo secundário Easylink One (código EP-12-20502; EasyPath) por 30 minutos a 37°C em câmara úmida.

A revelação do cromógeno foi realizada com diaminobenzidina (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Alemanha). Por fim, as lâminas foram contrastadas com hematoxilina de Harris (Merck, Darmstadt, Alemanha) e preparadas para análise microscópica¹⁴⁹.

4.6.9 Análise semiquantitativa para expressão de glicosaminoglicanos na sinóvia (atribuição de escores)

A análise semiquantitativa avaliou a presença e expressão dos glicosaminoglicanos perlecan e decorina na matriz sinovial das amostras dos pacientes incluídos no estudo. Para isso, as lâminas coradas por imuno-histoquímica foram analisadas em microscópio por dois

patologistas e a elas foi atribuído um escore de 0 a 4. A atribuição de escore foi feita de modo cego, de forma que as notas foram atribuídas sem saber a qual grupo cada amostra correspondia.

Por meio do escore atribuído a cada paciente, foi possível quantificar a intensidade da expressão para cada um desses glicosaminoglicanos utilizando uma classificação relativa de acordo com a intensidade da coloração. Os escores são atribuídos de acordo com os critérios abaixo:

0: Ausência de expressão, sem coloração visível/detectável.

1: Coloração leve ou focal, representando uma expressão baixa ou focal em pequenas áreas do tecido.

2: Coloração moderada, com expressão detectável em algumas áreas do tecido, mas sem ser difusa.

3: Coloração intensa, com expressão difusa e significativa nas áreas afetadas.

4: Coloração muito intensa, com forte presença, e expressão ampla e homogênea ao longo de toda a amostra, indicando alta expressão da proteína.

4.7 ESTATÍSTICA E METODOLOGIA DE ANÁLISE DE DADOS

4.7.1 Análise de dados

Considerando o tamanho da casuística ($n < 30$) e a distribuição não normal dos dados (avaliado por meio do teste de Shapiro-Wilk), foram empregados métodos não paramétricos para avaliação dos resultados. As estatísticas descritivas foram relatadas por meio de medianas e intervalos interquartis (IIQ). Para as comparações entre grupos, foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis, seguidos por testes U de Mann-Whitney pareados com correção de Bonferroni para testes múltiplos; sendo também empregados Teste Qui-Quadrado de Person, com avaliação de Teste-Z para comparar proporções de categorias. As comparações intergrupos foram feitas utilizando teste de Wilcoxon. Quando aplicável, intervalos de confiança de 95% foram calculados para transmitir a incerteza das estimativas. Todas as análises foram realizadas usando o IBM SPSS Statistics (v.22; Armonk, NY, EUA). Embora a significância estatística tenha sido definida como $p < 0,05$, os achados foram interpretados em conjunto com intervalos de confiança e IIQ, associado à sua potencial relevância biológica ou clínica.

Embora em análises histológicas de biópsias com fragmentos pequenos e delicados de tecido são esperadas perdas pela dificuldade em preparar adequadamente as lâminas, todas as lâminas que não foram possíveis realizar análise adequada foram descartadas, e, em todas as análises dos resultados, foram apontadas as perdas e o “n” total de cada análise.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS, CASOS E COMPLICAÇÕES

As biópsias foram realizadas sem complicações intraoperatórias conforme planejamento inicial metodológico. O aumento de tempo cirúrgico relacionado à coleta de amostras foi pequeno, da ordem de 5-10 minutos.

Devido à pequena área do defeito da biópsia, não houve interferência clinicamente importante com o procedimento habitual a ser realizado para tratamento do paciente.

Não houve perda de casos ou danificação macroscópica dos tecidos coletados em decorrência de dificuldades e/ou acidentes com a obtenção de amostras osteocondrais ou sinoviais. Após intervenção, não foram identificadas complicações relacionadas aos procedimentos de biópsia osteocondral e sinovial. Dois pacientes (18%) do grupo OA sofreram complicações inerentes ao procedimento cirúrgico principal, um deles apresentou deiscência de ferida operatória durante o pós-operatório inicial, sendo tratado com lavagem e desbridamento de ferida; e o outro paciente apresentou soltura séptica de prótese de joelho que foi tratada com revisão em dois tempos.

As amostras, coletadas de novembro de 2020 a agosto 2023, somaram um total de 24 casos, distribuídos em 3 grupos, sendo: 4 casos de controle, 9 casos de LCF e 11 casos de OA.

5.1.1 Grupo LCF

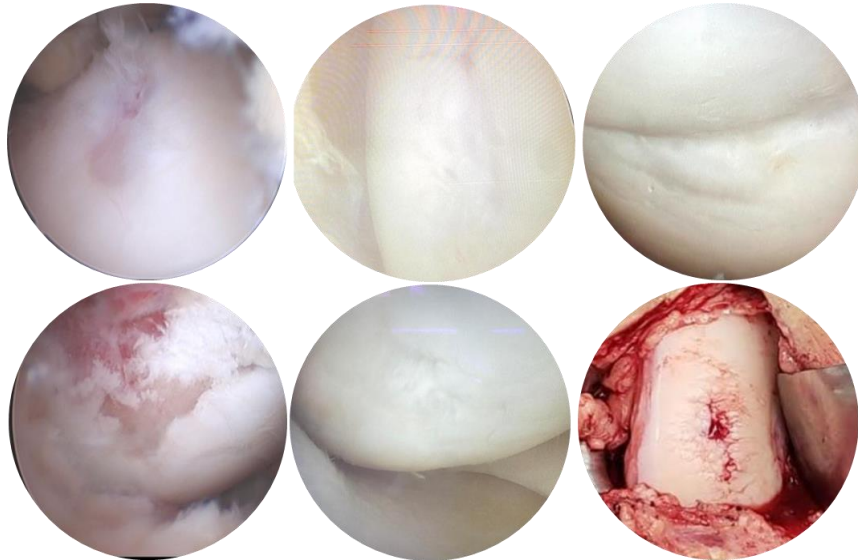
As biópsias do grupo LCF foram realizadas em 1 paciente na região troclear central, 3 no côndilo femoral lateral e 5 no côndilo femoral medial.

As lesões do grupo LCF foram graduadas como grau 3 de Outerbridge em 5 pacientes, e grau 4 em 4 pacientes.

Em relação aos procedimentos realizados nos pacientes do grupo LCF, 2 casos foram submetidos à menisectomia, 1 paciente foi submetido à reconstrução de LCA isolada, 2 pacientes foram submetidos à reconstrução do LCA associado à menisectomia do compartimento afetado, 2 pacientes foram submetidos à reconstrução do LCA e concomitante tratamento de lesão condral (1 microfratura e 1 membrana em gel), 1 paciente foi submetido à reconstrução de LCA com sutura de menisco e 1 paciente foi submetido à reconstrução multiligamentar.

A imagem abaixo mostra exemplos dos casos de LCF (Figura 8):

Figura 8 - Imagens representativas de alguns casos de LCF por artroscopia e sob visualização direta (última foto). Notam-se casos com acometimento grau III ou IV.



Fonte: Produção do próprio autor.

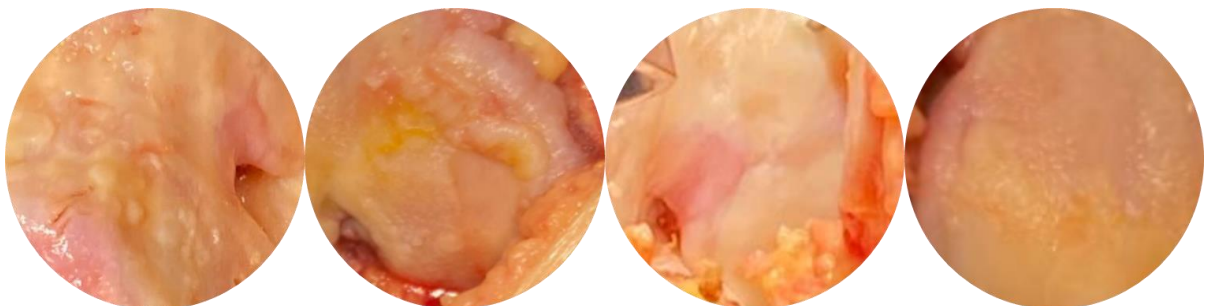
5.1.2 Grupo OA

Foram biopsiados no local mais acometido no grupo OA: 9 pacientes no côndilo femoral medial e 2 pacientes no côndilo femoral lateral.

Todos os pacientes do grupo OA foram submetidos à artroplastia total de joelho (ATJ).

As imagens abaixo mostram o aspecto intraoperatório dos casos incluídos de OA (Figura 9).

Figura 9 - Imagens intraoperatórias de alguns casos representativos do grupo OA. Nota-se intensa degeneração, osteófitos, perda condral difusa e extensa, e formação de tecido cicatricial macroscópico.



Fonte: Produção do próprio autor.

5.1.3 Grupo controle

Nos casos do grupo-controle, não foi visualizada alteração cartilaginosa macroscópica e, portanto, todos os casos foram classificados como Outerbridge 0. Todos os pacientes do grupo-controle foram submetidos à cirurgia de reconstrução do LCA, sendo que em um caso foi realizada meniscorerafia associada.

A Tabela abaixo discrimina as cirurgias realizadas nos casos incluídos no estudo, bem como, os locais e as graduações das lesões discriminadas por grupos (Tabela 7).

Tabela 7 - Localização das biópsias, classificação de lesões e tratamento realizado

Grupo	Controle	LCF	OA
Crista troclear/tróclea	100%	11%	0%
Côndilo lateral	0%	44%	9%
Côndilo medial	0%	56%	81%
Grau 0 (Outerbridge)	100%	0%	0%
Grau 3 (Outerbridge)	0%	56%	0%
Grau 4 (Outerbridge)	0%	44%	100%
LCA	100%	77%	0%
Menisco	25%	77%	0%
Multiligamentar	0%	11%	0%
Membrana	0%	11%	0%
Artroplastia total de joelho	0%	0%	100%

Fonte: Dados do estudo.

5.2 AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA QUALITATIVA DA CARTILAGEM

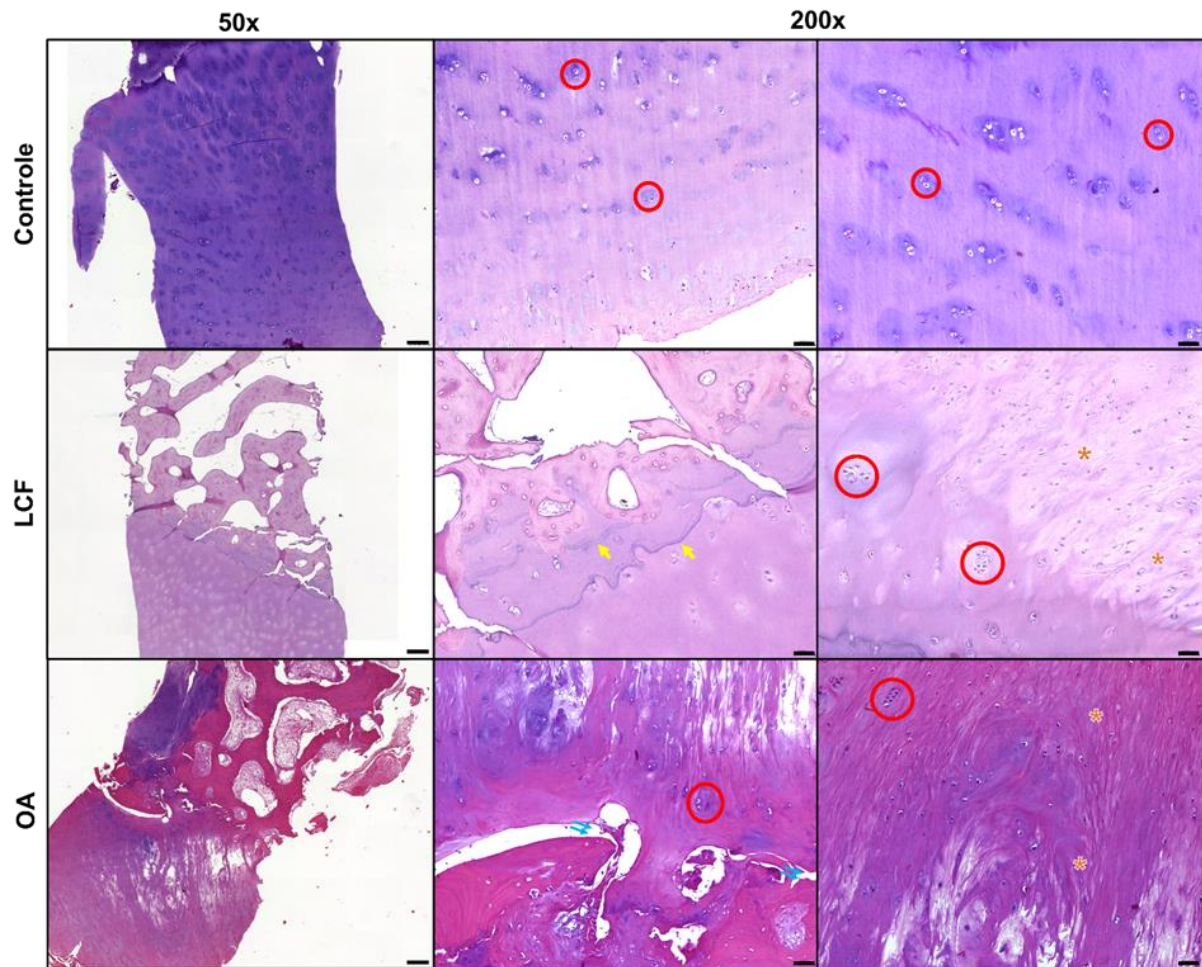
A avaliação morfológica do tecido cartilaginoso mostrou diferenças notáveis do grupo-controle em relação aos demais grupos, porém, nos casos biopsiados de LCF e OA, notou-se uma semelhança morfológica entre esses. As alterações de estrutura, organização, diferenciação celular e desestruturação da matriz foram encontradas tanto nos casos de LCF quanto nos casos de OA, com piores avaliações no grupo de OA (descritivo), apresentando, muitas vezes, completa perda do tecido condral ou com presença isolada de tecido reparativo fibrocartilaginoso.

Na LCF, observou-se uma degeneração condrocítica, caracterizada por apoptose discreta e redução na organização das células dentro da matriz extracelular, sendo possível observar a presença de condrócitos em aglomerados nas lacunas (Figura 10).

Além disso, na LCF, há perda focal da cartilagem hialina, especialmente na camada superficial, acompanhada de fibrilação e desorganização estrutural da matriz, ocorrendo a presença de linhas azuis de aposição óssea (Figura 10). Ocorre um aumento da atividade condrocítica, evidenciado pela hipertrofia celular, refletindo um esforço reparativo inadequado.

Na OA avançada, a cartilagem articular mostra erosão profunda, levando à exposição do osso subcondral. Observa-se uma condropenia severa, decorrente da apoptose extensa dos condrócitos, comprometendo ainda mais a capacidade de regeneração tecidual, grande quantidade de condrócitos aglomerados, assim como, proeminência das fissuras de superfície (Figura 10). O osso subcondral sofre esclerose, caracterizada pelo aumento da densidade óssea e redução da vascularização, alterações que impactam negativamente a biomecânica articular. Além disso, ocorre a formação de osteófitos e cistos subcondrais, como tentativa de reparação, porém de maneira ineficaz e desorganizada.

Na matriz extracelular cartilaginosa da OA, as alterações estruturais se tornam muito mais evidentes, com complexa alteração arquitetural e remodelamento das fibras colágenas (Figura 10).

Figura 10 - Organização estrutural da matriz extracelular da cartilagem

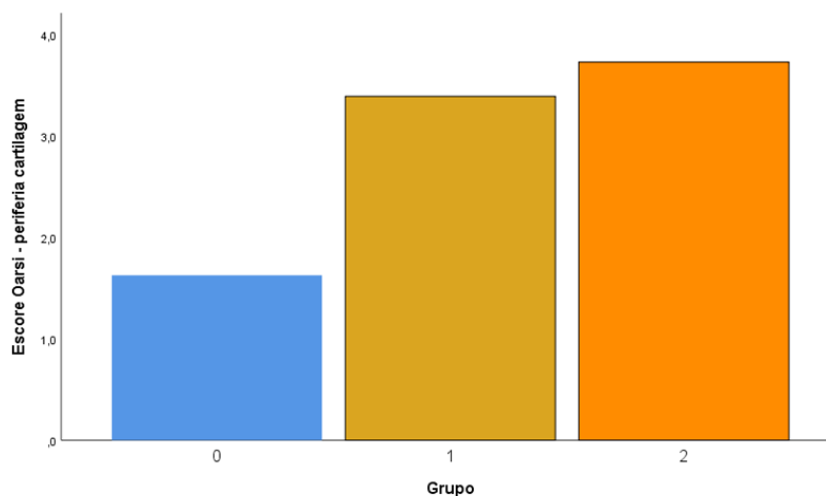
Fonte: Produção do próprio autor.

Legenda: Na coloração de hematoxilina e eosina (HE) do grupo controle observa-se a cartilagem hialina com superfície regular, apresentando uma matriz composta pelos condrócitos dispostos em número de 2 a 3 nas lacunas (destacado pelo círculo em vermelho), não se observando sinais de degeneração articular. O grupo LCF já pode ser caracterizado pela presença de linhas azuis de aposição óssea (setas em amarelo) e matriz levemente desorganizada pela alteração da estrutura fibrilar (destacadas pelo asterisco laranja), contendo condrócitos em aglomerados (destacados pelo círculo em vermelho). No grupo artrose, as alterações da matriz tornam-se mais evidentes (destacadas pelo asterisco), com complexa alteração arquitetural e alterações degenerativas dos condrócitos, bem como a proeminência das fissuras de superfície. Magnitude: 50x e 200x; Escala: 200 mm e 60µm, respectivamente.

5.3 ESCORES DE OARSI NA CARTILAGEM

Observamos, embora o grupo-controle ter mostrado escores mais baixos, que não há diferença estatística significativa entre o escore de OARSI para cartilagem atribuído aos grupos-controle, LCF (periferia) e OA (área menos afetada) para a avaliação na cartilagem ($p=0,104$ ([Teste Qui-Quadrado de Pearson]; Figura 11).

Figura 11 - Atribuição dos escores de OARSI na cartilagem para os diferentes grupos avaliados



Fonte: Produção do próprio autor.

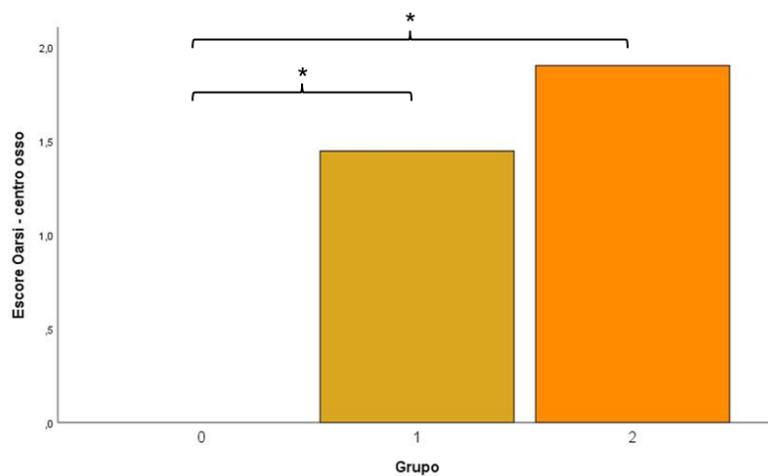
5.4 ESCORES DE OSSO SUBCONDRAI

As análises de osso subcondral foram feitas de maneira separada a depender do local e grupo de biópsia conforme discriminado abaixo:

5.4.1 Escore osso subcondral, biópsia do centro/local mais acometido – Intergrupos

Observamos que não há diferença estatística significativa entre o escore de ossos subcondral atribuído aos grupos LCF(n=9) e OA (n=11) para a avaliação, respectivamente, das biópsias no centro da lesão e no local mais acometido. Há diferença, contudo, entre o grupo-controle e os demais grupos ($p < 0,001$ ([Teste Qui-Quadrado de Pearson]; Figura 12).

Figura 12 - Atribuição dos escores de osso subcondral na região mais acometida para os diferentes grupos avaliados



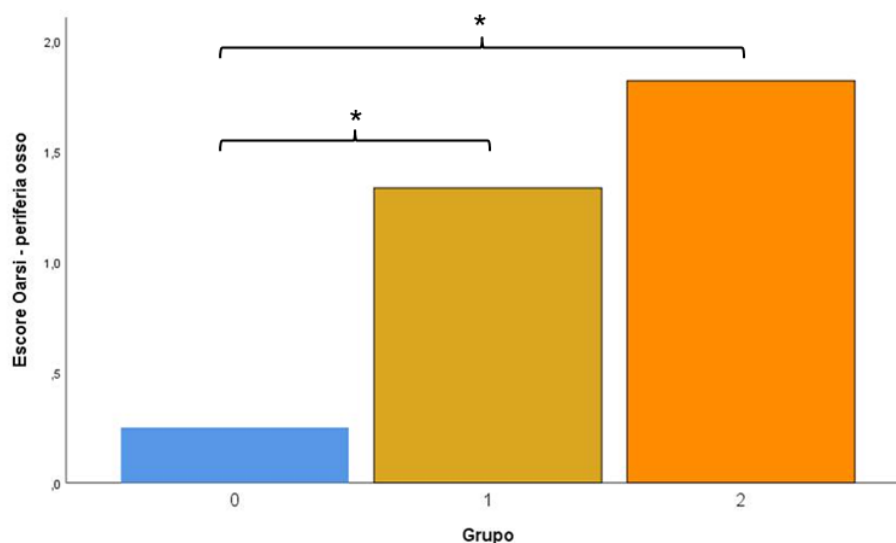
Fonte: Produção do próprio autor.

* $p < 0,05$.

5.4.2 Escore de osso subcondral, biópsia da periferia – Intergrupos

Observamos que não há diferença estatística significativa entre o escore de ossos subcondral atribuído aos grupos LCF($n=9$) e OA($n=11$) para a avaliação, respectivamente, das biópsias na periferia da lesão e local menos acometido. Há diferença, contudo, entre o grupo-controle e os demais grupos ($p=0,002$ [Teste Qui-Quadrado de Pearson]; Figura 13).

Figura 13 - Atribuição dos escores de osso subcondral na região menos acometida para os diferentes grupos avaliados



Fonte: Produção do próprio autor.

5.4.3 Escore osso subcondral comparação intragrupo LCF

O testes dos pontos sinalizados de Wilcoxon de amostras relacionadas foi realizado. Não houve diferença estatística ($p=0,655$) entre os escore de osso subcondral das amostras do centro da lesão em comparação com as amostras da periferia/borda da LCF.

No grupo com lesão condral focal (LCF, $n = 9$), a avaliação morfológica do osso subcondral com base no escore de osso subcondral evidenciou predominância de alterações leves em ambas as regiões avaliadas. No centro da lesão, 5 pacientes (55,6%) receberam escore 1 e 4 pacientes (44,4%), escore 2. Na periferia da lesão, 6 pacientes (66,7%) foram classificados com escore 1, enquanto os 3 restantes (33,3%) receberam escore 2 (Tabela no Anexo D).

A análise estatística não identificou diferença significativa entre as regiões central e periférica ($p = 0,65$). No entanto, de forma descritiva, observa-se uma tendência de menor comprometimento estrutural na periferia da lesão, o que corrobora a hipótese de que a degeneração óssea se concentra, inicialmente, na zona central da LCF, local com maior impacto biomecânico e mais próximo da área condral lesada. Esse achado reforça a noção de que, na LCF, as alterações do osso subcondral são localizadas e restritas ao entorno imediato da lesão condral.

5.4.4 Escore osso subcondral comparação intragrupo OA

O teste dos pontos sinalizados de Wilcoxon de amostras relacionadas foi realizado. Não houve diferença estatística ($p=0,855$) entre os escore de osso subcondral das amostras da região mais afetada pela osteoartrite em comparação com as amostras menos afetadas das biópsias do grupo OA.

No grupo com osteoartrite (OA, $n = 11$), os dados revelaram maior heterogeneidade nos escores atribuídos. No centro da lesão, 4 pacientes (36,4%) receberam escore 1; 3 pacientes (27,3%), escore 2; e outros 3 pacientes (27,3%), escore 3. Em um caso, a amostra não foi viável para análise. Já na periferia da lesão, 5 pacientes (45,5%) foram classificados com escore 1, 3 (27,3%) com escore 2 e 3 (27,3%) com escore 3 (Tabela no Anexo E).

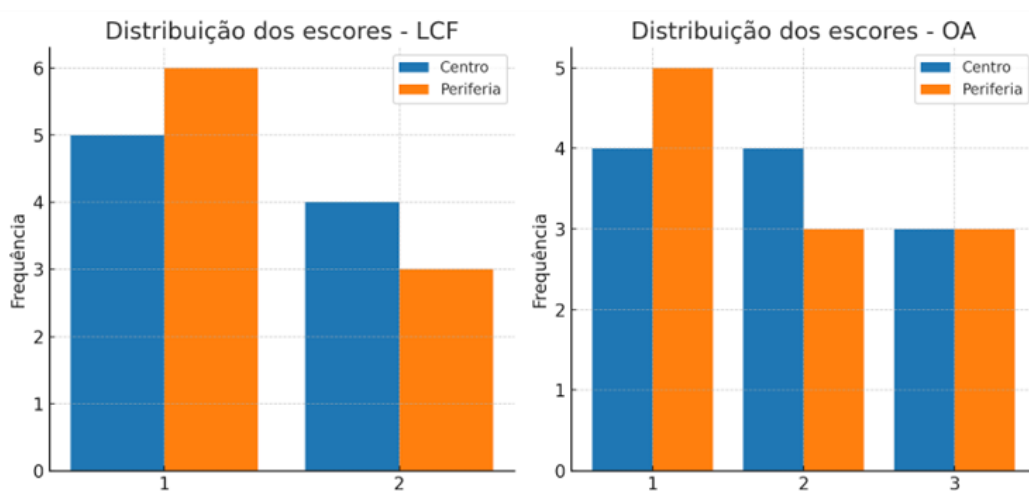
Semelhante à LCF, não houve diferença estatisticamente significativa entre as regiões ($p = 0,85$). Contudo, diferentemente da LCF, não se observou aspecto claro de menor comprometimento periférico. A distribuição dos escores foi semelhante entre centro e periferia. Apenas um paciente apresentou o mesmo escore no centro e na periferia.

5.4.5 Comparação dos padrões intraindividuais

A discrepância no padrão de escore entre centro e periferia foi mais acentuada na OA do que na LCF. Enquanto a LCF apresentou maior consistência intraindividual (com 5 pacientes mantendo escore 1 no centro e/ou periferia), a OA demonstrou variação mais marcada, o que pode refletir um estágio mais avançado e multifocal da doença.

A figura abaixo exemplifica a distribuição dos escores em cada grupo (Figura 14).

Figura 14 - Distribuição dos escores de osso subcondral intragrupo

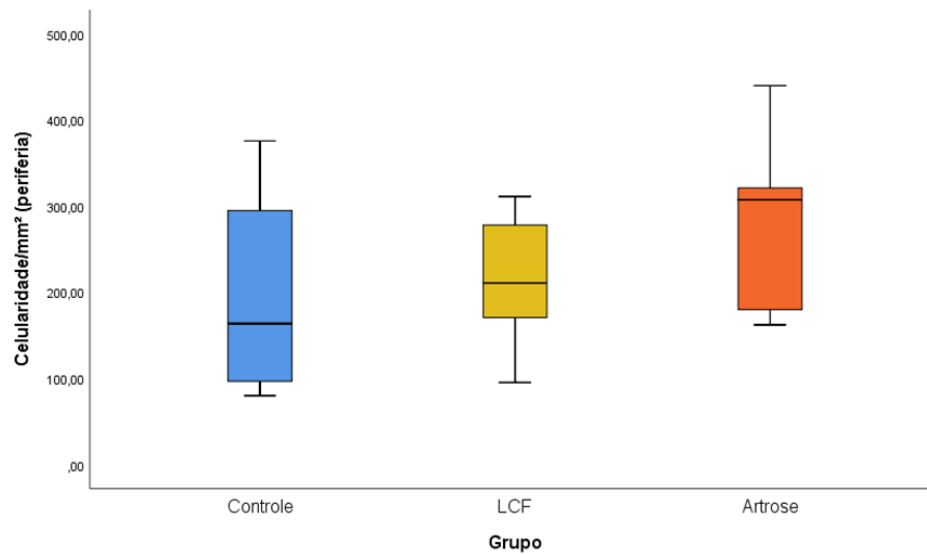


Fonte: Produção do próprio autor.

5.5 CELULARIDADE DA CARTILAGEM

A alteração quantitativa celular mostrou-se menos capaz de diferenciar os grupos do que a avaliação qualitativa. A avaliação qualitativa mostrou uma diminuição da população de contrócitos e aumento de fibroblastos nos casos de LCF e OA em comparação com o grupo-controle. Quando avaliada a celularidade total presente na cartilagem no grupo LCF, verificou-se aumento na proporção de células/mm², com maior deposição de fibroblastos, quando comparado ao grupo-controle, mas sem diferença estatística significativa (Figura 15; Tabela 9).

Assim como na LCF (n = 9), no grupo OA (n= 11), também se observou aumento na proporção de células/mm², contudo, não houve diferença estatística significativa entre os grupos (Figura 15; Tabela 9).

Figura 15 - Quantificação da celularidade total na cartilagem

Fonte: Produção do próprio autor.

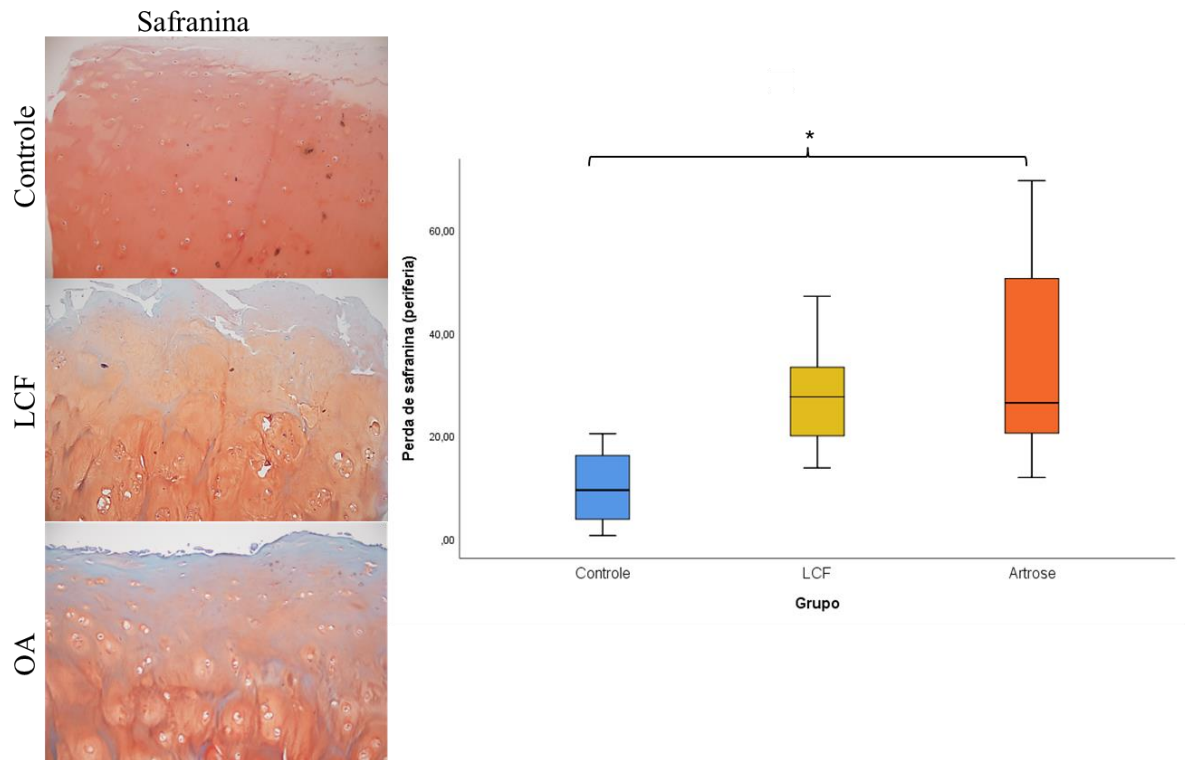
5.6 AVALIAÇÃO DE PERDA DE PROTEOGLICANOS NA CARTILAGEM

Houve uma diminuição na quantidade de proteoglicanos no grupo LCF, detectada por colorações como Safranina sem diferença estatística em relação ao grupo-controle ($P_{aj} > 0,05$). Essa perda ocorre, principalmente, nas camadas superficiais da cartilagem, tornando-a mais suscetível à degradação.

A redução dos proteoglicanos também foi observada no grupo OA, com perda da coloração de Safranina estendendo-se para as camadas profundas da cartilagem, havendo diferença estatística quando comparada ao grupo-controle ($p = 0,03$; $p_{ajs} = 0,03$; Figura 16; Tabela 9). A cartilagem torna-se mais frágil e menos elástica, favorecendo fissuras e erosão. A incapacidade dos condrócitos de repor adequadamente os proteoglicanos contribui para a progressão da destruição tecidual.

Ao comparar a perda total de proteoglicanos entre os grupo LCF ($n = 9$) e OA ($n = 11$) não houve diferenças entre os grupos.

Figura 16 - Perda de proteoglicanos na matriz extracelular da cartilagem. Nota-se maior proporção de tons azulados nos grupos LC e OA. O grupo OA apresenta diferença em relação ao grupo-controle conforme indicado no gráfico.



Fonte: Produção do próprio autor.

Magnitude: Xx; Escala: 200µm. * $p < 0,05$

5.7 AVALIAÇÃO DA IMUNOFLUORESCÊNCIA DE COLÁGENO I E II NA CARTILAGEM

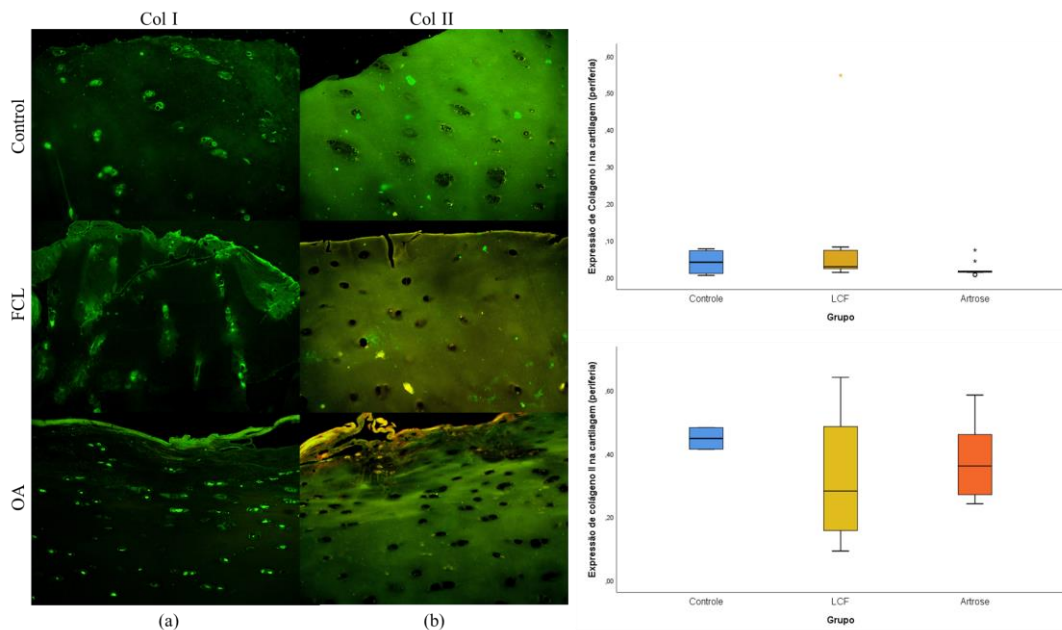
Não há diferença estatística da expressão de colágeno I entre os grupos (Tabela 9).

Quando avaliada a matriz extracelular cartilaginosa na LCF, é possível identificar o início do processo de remodelamento das fibras colágenas (Figura 10), com redução da expressão do colágeno tipo II, porém, sem diferença estatística (Figura 17; Tabela 9).

Assim como visto na LCF, há, no grupo OA, redução da expressão do colágeno tipo II, sem diferença estatística quando comparada ao grupo-controle (Figura 17; Tabela 9). Essa alteração estrutural das fibras colágenas confere maior rigidez e menor elasticidade ao tecido cartilaginoso.

Não foi observada diferença da expressão de colágeno I e II na cartilagem entre os grupos LCF (n = 9) e OA (n = 11).

Figura 17 - Expressão de colágenos do tipo I(a) e II(b) na matriz extracelular da cartilagem. Observa-se entre os grupos marcação similar de colágeno I entre os grupos na imunofluorescência, confirmado pelo gráfico de valores. Observa-se para o colágeno II maior marcação de colágeno II no grupo-controle conforme gráfico, sem diferença estatística.



Fonte: Produção do próprio autor.

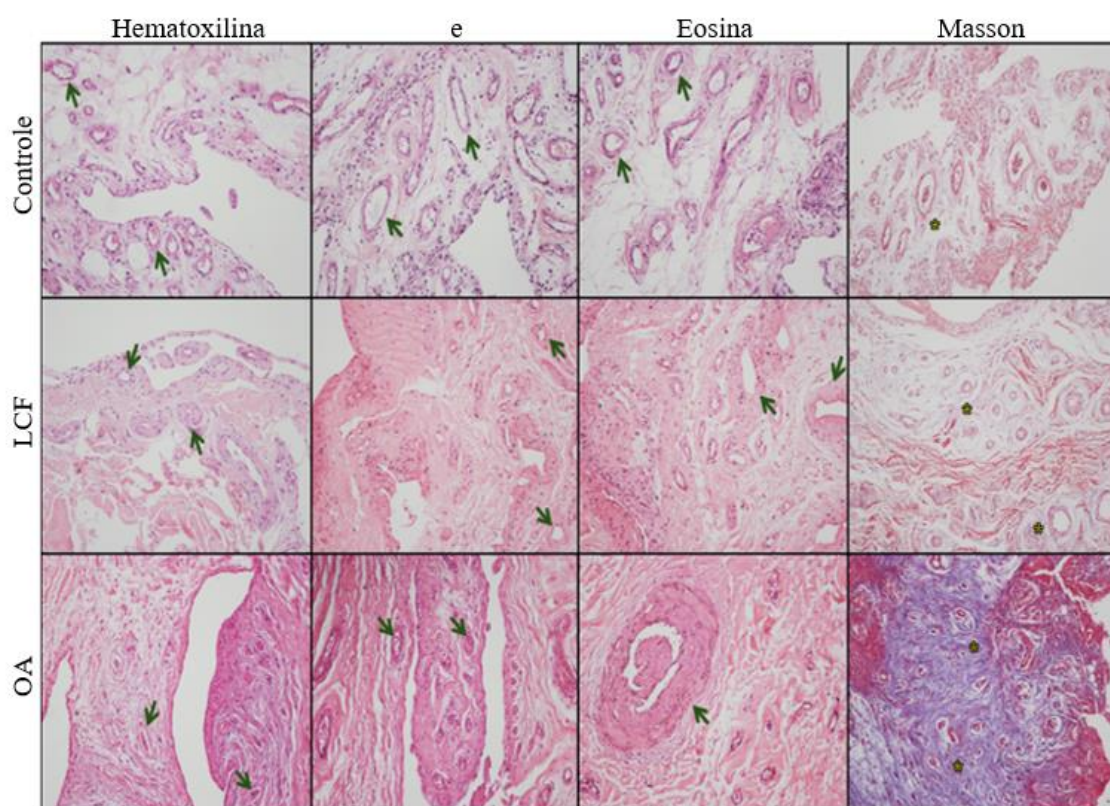
5.8 HISTOLOGIA SINOVIAL E AVALIAÇÃO DO ESCORE DE KRENN NA SINÓVIA

A matriz extracelular da sinóvia do grupo LCF ($n = 9$) apresenta deposição irregular de colágenos tipo I, III e V, e proteoglicanos, resultando na perda progressiva da elasticidade e resistência do tecido cartilaginoso (Figura 18). A membrana sinovial sofre espessamento, com infiltração mínima de células inflamatórias e hiperplasia sinovial leve, indicando um processo inflamatório incipiente (Figura 18).

Na OA ($n = 11$), a sinovite crônica está presente, manifestando-se pelo infiltrado inflamatório linfomonocitário e pela proliferação fibroblástica da membrana sinovial, perpetuando o processo inflamatório e contribuindo para a progressão da doença (Figura 18). A proliferação de fibroblastos e a remodelação do tecido conjuntivo levam a uma modificação na deposição das fibras colágenas, o que contribui para a rigidez articular e a limitação funcional.

Na avaliação do escore de Krenn, observou-se uma média de 3,5 no grupo-controle, 3,6 no grupo LCF e 4,82 no grupo OA. Não foi observada diferença entre os grupos pela análise estatística (Figura 19) ou no corte de avaliação com o escore de Krenn tendo as médias dos casos como referência menores do que 5. Contudo, notamos uma maior variabilidade dos escore com apenas 1 caso sendo classificado como sinovite de alto grau no grupo-controle, 3 casos de sinovite de alto grau no grupo LCF e 8 casos de sinovite de alto grau no grupo OA (Tabela no Anexo F).

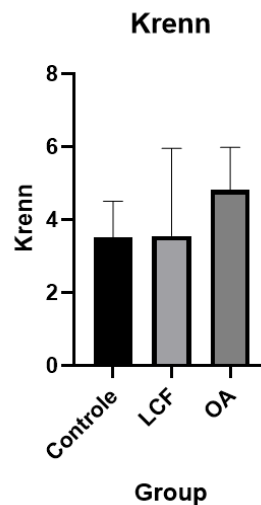
Figura 18 - Organização estrutural da matriz extracelular sinovial



Fonte: Produção do próprio autor.

Legenda: Na coloração de HE, observa-se que a matriz extracelular sinovial do grupo-controle se caracteriza por tênue tecido conjuntivo, ricamente infiltrado por vasos de paredes finas (setas verde-escuras). Comparativamente, a sinóvia do grupo LCF apresenta expansão menos proeminente da matriz extracelular do que o grupo artrose, embora seja possível observar o início do espessamento da parede dos vasos nutrientes, causado pelas alterações arquiteturais da matriz. Por fim, o grupo de pacientes com artrose apresentam a sinóvia com rica expansão da matriz extracelular, evidenciada pela deposição irregular de fibras em meio aos vasos nutrientes, com presença de suboclusão por espessamento de sua parede. O processo de alteração na matriz extracelular, em que é observado o aumento da fibrose de maneira evolutiva entre os grupos-controle, LCF e artrose, fica bastante evidente quando se observa a coloração de Masson, em que é possível observar o aumento da coloração em azul, denotando a deposição de fibras colagênicas (o processo de evolução está destacado pelo asterisco em amarelo nas imagens). Magnitude: 200x; Escala: 50µm.

A distribuição dos valores dos escores de Krenn podem ser avaliadas no gráfico (Figura 19) e tabela no Anexo F:

Figura 19 - Gráfico de distribuição dos escores de Krenn

Fonte: Produção do próprio autor.

5.9 AVALIAÇÃO DOS ESCORES DE PROTEOGLICANOS NA SINÓVIA (IMUNO-HISTOQUÍMICA PERLECAN E DECORINA)

O perlecan é um proteoglicano da matriz basal que desempenha papel fundamental na organização da cartilagem, na retenção de fatores de crescimento (como FGF-2) e na interação com colágeno. Na sinóvia da LCF (n = 9), sua expressão está discretamente aumentada em relação ao grupo-controle, sendo possível observar um aumento localizado de perlecan em áreas de tentativa de reparo, já que ele ajuda na retenção de fatores anabólicos para a cartilagem, assim como, na parede vascular e associado aos sinoviócitos (Figura 20).

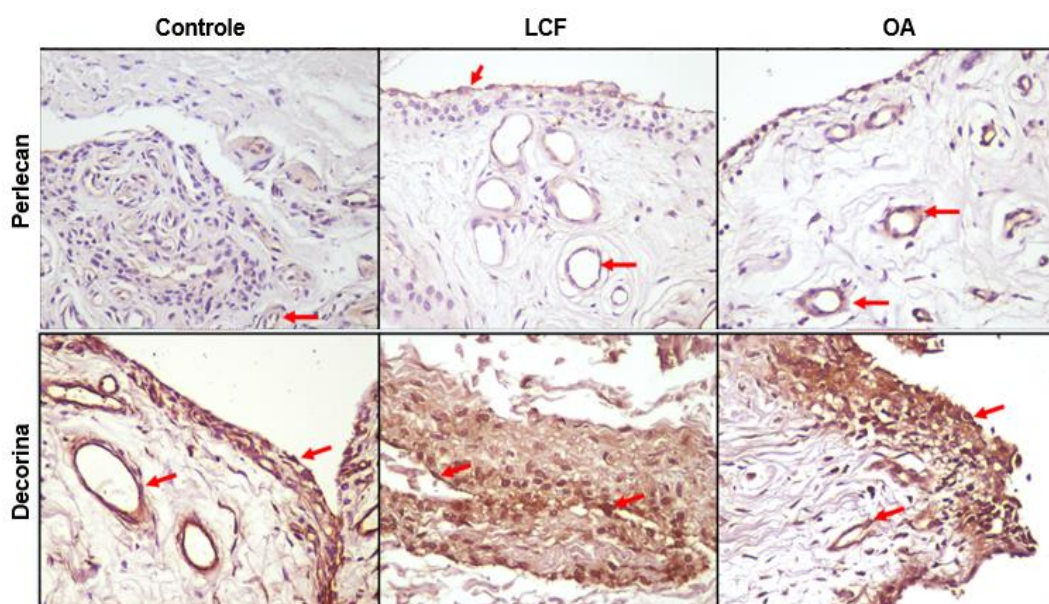
A expressão de perlecan na OA (n = 11) aumentou acentuadamente, associada às modificações da estrutura da matriz extracelular (Figura 20). Assim como na LCF, esse aumento da imunoexpressão foi observada associada à parede dos vasos, que sofrem aumento de espessura com a progressão da lesão, e aos sinoviócitos. E, embora não tenha sido possível detectar diferença estatística significativa para a expressão de perlecan entre os grupos (p = 0,07), na OA, ocorreu atribuição de escores mais altos (escore 3) para os casos avaliados em relação aos demais grupos (número de casos: 7 vs. 1 vs. 0; artrose, LCF, controle).

A decorina é um proteoglicano pequeno da família dos proteoglicanos de leucina, responsável por regular a fibrilogênese do colágeno, interagir com fatores de crescimento e modular a homeostase da cartilagem. Na sinóvia da LCF, observamos um leve aumento de decorina (Figura 20), pois ele participa da resposta inicial ao estresse mecânico e pode modular

a degradação da matriz. No entanto, sua função ainda é suficiente para manter a organização do colágeno e a integridade da cartilagem.

Assim como na LCF, na OA, há um leve aumento da imunoexpressão de decorin comparado ao grupo-controle, provavelmente associada à regulação da fibrilogênese do colágeno. Essas alterações favorecem a desorganização da rede colagênica e acelera a degradação da matriz. Modificações na quantidade de decorin também dificulta a resposta regenerativa, pois ele interage com TGF- β e outras citocinas, influenciando a remodelação tecidual.

Figura 20 - Imunofenotipagem dos proteoglicanos perlecan e decorina na matriz extracelular sinovial



Fonte: Produção do próprio autor.

Legenda: Na imunoexpressão de perlecan, também associado à parede vascular e aos sinoviócitos, observa-se uma progressão na intensidade da imunocoloração com a evolução da doença, sendo possível notar maior intensidade no grupo artrose. A imunocoloração por decorina pode ser detectada na parede dos vasos e nos sinoviócitos em todos os grupos avaliados, havendo um leve aumento da intensidade da coloração nos grupos LCF e artrose, quando comparados ao grupo-controle. As setas em vermelho destacam regiões positivas para as colorações. Magnitude: 200x; Escala: 50 μ m.

5.10 IMUNOFLUORESCÊNCIA PARA COLÁGENO I, III E V NA SINÓVIA

Na sinóvia do grupo LCF (n = 9), o colágeno tipo I está presente na matriz extracelular, mas sua expressão, geralmente, não é alterada substancialmente quando comparada ao grupo-controle (0,26 vs. 0,20, respectivamente; Figura 21; Tabela 8).

As sinóvias do grupo OA (n = 11) apresentaram expressão reduzida de colágeno tipo I, com diferença estatística quando comparado a LCF ($p = 0,03$; $p_{\text{ajs}} = 0,05$; Figura 21; Tabela 8).

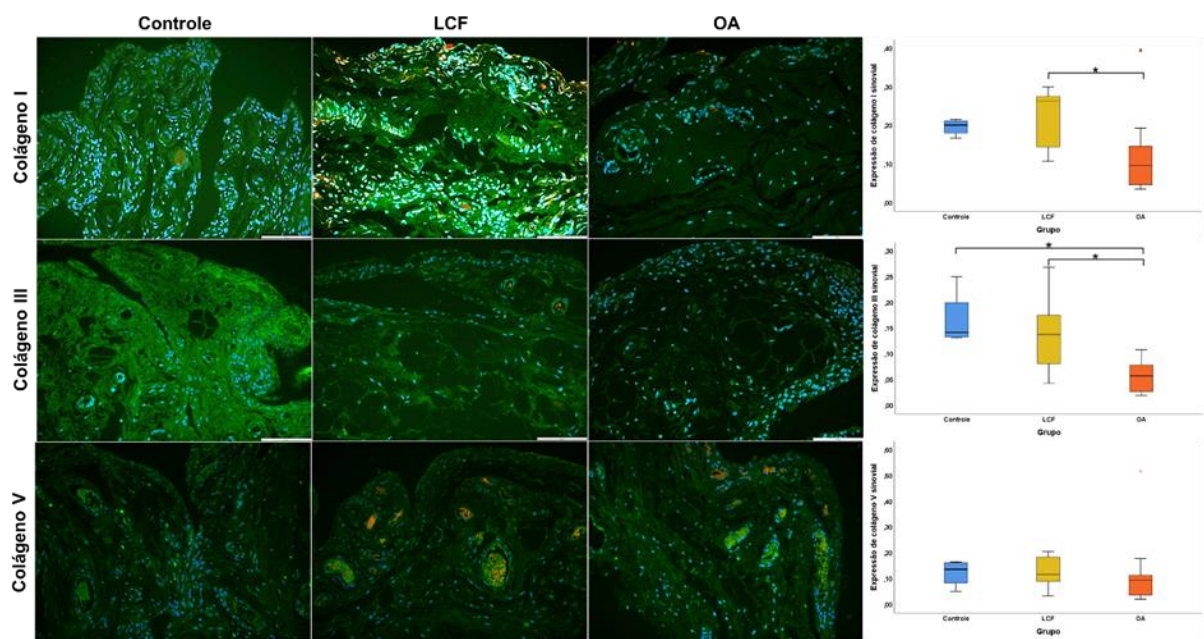
Quanto ao colágeno tipo III na LCF, mesmo havendo hiperplasia sinovial inicial e aumento da vascularização, não há diferença na expressão, quando comparado ao grupo-controle.

Já a expressão de colágeno tipo III no grupo OA sofre expressiva redução comparado aos demais grupos, também apresentando diferença estatística significativa ($p = 0,003$; $p_{\text{ajs}} = 0,01$; Figura 21; Tabela 8).

A expressão do colágeno tipo V na LCF apresentou uma discreta redução em função da hiperplasia sinovial leve, não havendo diferença estatística entre os grupos.

Na sinóvia da OA, a expressão do colágeno tipo V reduziu devido à sinovite crônica, ao espessamento da membrana sinovial e à proliferação de fibroblastos, contudo, não houve diferença estatística significativa entre os grupos (Figura 21; Tabela 8).

Figura 21 - Expressão de colágenos do tipo I, III e V na matriz extracelular da sinóvia



Fonte: Produção do próprio autor.

Legenda: 200x; Escala: 200 μ m.

5.11 TABELA E DESENHO COMPARATIVO DOS ACHADOS

Os achados desta tese foram sumarizados nas tabelas (Tabelas 12 e 13) e figura representativa (Figura 22), a seguir:

Tabela 8 - Avaliação da expressão (em %) da mediana de marcadores de colágeno sinovial entre os grupos Controle, LCF e Artrose

Marcador / Local	Controle Mediana (IIQ)	LCF Mediana (IIQ)	Artrose Mediana (IIQ)	P	Paj
Colágeno I	0,20 (0,17–0,21)	0,26 (0,13–0,28)	0,09 (0,04–0,16)	0,03*	0,05
Colágeno III	0,14 (0,13–0,22)	0,14 (0,08–0,18)	0,06 (0,03–0,08)	0,003*	0,01
Colágeno V	0,14 (0,07–0,16)	0,11 (0,09–0,19)	0,09 (0,03–0,12)	0,43	—

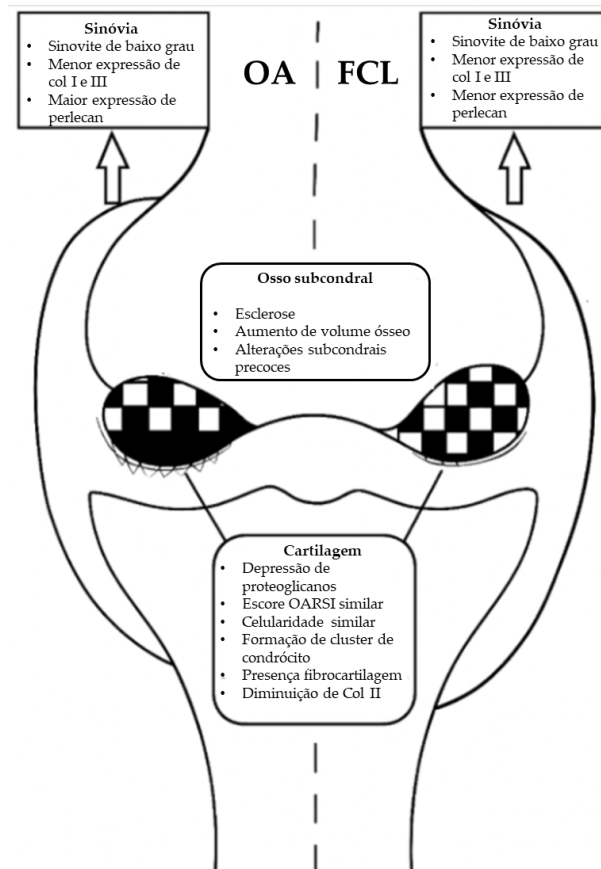
Tabela 9 - Comparação da expressão mediana da perda de matriz e celularidade de cartilagem entre os grupos Controle, LCF e Artrose

Marcador	Controle Mediana	Controle IIQ	LCF Mediana	LCF IIQ	Artrose Mediana	Artrose IIQ	P	Paj
Col I centro	0.03	0.00-0.06	0.03	0.02-0.25	0.08	0.01-0.16	0.54	
Col I periferia	0.04	0.01-0.07	0.03	0.02-0.07	0.02	0.01-0.03	0.17	
Col II centro	0.53	0.50-0.59	0.35	0.17-0.43	0.32	0.27-0.51	0.09	
Col II periferia	0.45	0.41-*	0.28	0.13-0.52	0.36	0.26-0.49	0.57	
Safranina (centro)	8.21	6.2-11.7	48.88	24.9-62.9	33.76	27.1-48.1	0.01*	0.01 (0 vs 1)
Safranina (periferia)	9.39	2.1-18.3	27.56	19.7-34.0	26.39	20.0-53.0	0.03*	0.03 (0 vs 2)
Celularidade / mm ² (centro)	197.22	148.2-239.9	317.38	201.7-462.6	210.58	166.1-314.6	0.17	
Celularidade / mm ² (periferia)	163.68	88.3-335.2	210.89	170.5-288.2	307.43	174.5-341.0	0.49	

Fonte: Dados do estudo.

Abreviaturas: LCF, lesão condral focal; OA, osteoartrite; IIQ, intervalo interquartil; Paj, valor de p ajustado.

A figura a seguir ilustra o resumo comparativo entre os grupos (Figura 22).

Figura 22 - Desenho comparativo das alterações encontradas nos grupos OA e LCF

Fonte: Produção do próprio autor.

Nota: Notam-se diferenças na sinóvia entre os grupos com o grupo OA apresentando menores concentrações de colágeno I e III ($p < 0,05$) e maiores expressão de perlecan ($p > 0,05$). As alterações de osso subcondral no grupo OA, apesar de apresentarem maior esclerose e escores maiores, são comparáveis ao grupo LCF ($p > 0,05$). As alterações encontradas na cartilagem são similares entre os grupos LCF e OA.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O presente estudo foi motivado por múltiplos fatores inter-relacionados. Primeiramente, destaca-se a elevada relevância clínica e social das lesões de cartilagem, cujo impacto funcional e econômico é significativo. Além disso, a dificuldade no diagnóstico precoce — especialmente em estágios pré-artríticos — limita intervenções oportunas que poderiam modificar o curso da doença. Outro aspecto fundamental é a raridade de amostras humanas provenientes de pacientes sem alterações artríticas ou em fases iniciais/pré-osteoartríticas, o que explica a escassez de estudos com esse perfil amostral. Adicionalmente, o cenário atual é marcado por uma crescente demanda por terapias regenerativas e pela ampla variedade de abordagens disponíveis para o tratamento de lesões condrais focais, o que impõe a necessidade de critérios mais objetivos de seleção e avaliação. Por fim, a tendência contemporânea de caracterizar a osteoartrite a partir de parâmetros moleculares amplia as possibilidades de compreensão da patogênese e de desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais precisas.

Atualmente, não há protocolos consolidados de identificação de biomarcadores capazes de alterar a história natural da OA, tampouco de permitir seu diagnóstico precoce ou modificar significativamente sua abordagem terapêutica¹¹⁶. Os esforços na detecção precoce da OA têm se concentrado na análise de metabólitos, RNAs não codificantes, marcadores inflamatórios, bem como, produtos da degradação da cartilagem e do colágeno. Apesar da ausência de uma metodologia diagnóstica claramente estabelecida, reconhece-se que os componentes moleculares da OA refletem estágios silenciosos e ultraprecoces da doença. Nesse contexto, a identificação de similaridades e distinções moleculares entre a OA e as LCF pode representar uma área promissora para avanços no diagnóstico, manejo e tratamento dessas condições^{103,135}. Assim, o presente estudo não apenas contribui para a diferenciação entre essas duas entidades como também aprimora a compreensão do espectro das lesões cartilaginosas e de suas possíveis inter-relações patológicas.

Como resultado geral deste estudo comparativo, observou-se que a unidade osteocondral nos casos de LCF apresentou características muito semelhantes às observadas na OA em estágio avançado. Embora o grupo OA tenha exibido escores histológicos mais elevados na cartilagem, bem como, maior comprometimento do osso subcondral, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos LCF e OA. As principais distinções entre os grupos foram observadas no tecido sinovial adjacente, que demonstrou variações significativas na expressão de colágenos tipo I e III.

Os achados de alterações osteocondrais precoces e comparáveis às observadas na OA

em casos de LCF reforçam a hipótese de que a LCF pode representar um estágio inicial dentro do espectro patológico da OA. Alguns parâmetros avaliados nesta tese demonstraram semelhanças diretas com alterações típicas da OA em estágio avançado, enquanto outros, embora estatisticamente distintos entre os grupos LCF e OA, apresentam características compatíveis com os achados descritos em casos de OA precoce na literatura. Esses resultados sugerem que a LCF pode compartilhar mecanismos fisiopatológicos comuns com diferentes estágios da OA, contribuindo para a compreensão da progressão dessa doença degenerativa.

A presença de alterações precoces no osso subcondral e sua progressão ao longo da osteoartrite (OA) estão em consonância com teorias que atribuem papel central ao osso subcondral na patogênese da doença. Tais achados também corroboram hipóteses que apontam essas alterações como eventos iniciais nas lesões condrais^{118,130,150}. No entanto, apesar dessas alterações subcondrais poderem ser detectadas precocemente, não é possível afirmar com segurança que antecedem o comprometimento da cartilagem articular. De fato, os escores de cartilagem obtidos a partir da análise OARSI do grupo-controle — no qual não se esperavam alterações — sugerem o contrário: alterações condrais ultraprecoces podem ocorrer de forma subclínica, invisíveis macroscopicamente, e estariam associadas a lesões ligamentares e meniscais do joelho, como já descrito por Johnson⁴⁷.

Tais alterações ocultas foram observadas com menor frequência no osso subcondral, o que reforça a hipótese de que o comprometimento inicial da cartilagem precede as alterações ósseas nas doenças osteocondrais^{48,129}. Nesse contexto, o estudo de tecidos alternativos ao cartilaginoso pode oferecer maior sensibilidade para diferenciar LCF da OA em estágios iniciais. Ademais, o uso de métodos mais sensíveis para a avaliação do osso subcondral, como microtomografia computadorizada, tomografia por emissão de pósitrons (PET) combinada com ressonância magnética, bem como abordagens baseadas em inteligência artificial, tem sido explorado como estratégias promissoras para a identificação precoce de alterações estruturais no espectro da OA¹¹⁵.

Ressalta-se, também, que os escores intragrupos de LCF de alteração subcondral foram similares tanto nas áreas de maior acometimento condral (centro) quanto nas de menor acometimento (periferia/borda da lesão), e evidenciaram predominância de alterações leves em ambas as regiões avaliadas. Apesar disso, de forma descritiva, observa-se uma tendência de menor comprometimento estrutural na periferia da lesão, o que corrobora a hipótese de que a degeneração óssea se concentra inicialmente na zona central da LCF, local com maior impacto biomecânico e mais próximo da área condral lesada. O comprometimento periférico, porém, sugere que ocorra um remodelamento ósseo – relacionado ao dano condral – mais amplo e com

alterações encontradas não apenas no epicentro lesional, mas sim ampliadas em um halo maior. Já os dados dos escores de osso subcondral intragrupo de OA revelaram maior heterogeneidade nos escores atribuídos. Diferentemente da LCF, não se observou uma tendência clara de menor comprometimento periférico. A distribuição dos escores foi semelhante entre centro e periferia, refletindo uma degeneração óssea mais difusa na OA, o que é compatível com o caráter global e progressivo da doença. Um aspecto particularmente relevante na OA é que apenas um paciente apresentou o mesmo escore no centro e na periferia, o que indica grande variabilidade intraindividual no grau de comprometimento da unidade osteocondral. Esse padrão sugere que, mesmo em regiões anatomicamente próximas, a OA pode afetar de forma desigual o osso subcondral, possivelmente em decorrência de microambientes inflamatórios locais, alterações biomecânicas heterogêneas ou vascularização comprometida.

Além das alterações observadas no osso subcondral⁸³, a junção osteocondral também se destaca como um potencial fator distintivo entre os grupos com LCF e OA. Em contribuição inovadora, Li et al.¹⁵¹ utilizaram modelagem computacional para demonstrar que o aumento da permeabilidade na junção osteocondral influencia negativamente a lubrificação da cartilagem e altera a distribuição de fluidos, potencialmente acelerando a degradação articular. Essa abordagem sugere que a ruptura da barreira osteocondral constitui um evento crítico na progressão da LCF para a OA. O estudo mostrou que o extravasamento de fluido subcondral desregula a lubrificação sinovial e intensifica o estresse mecânico na interface cartilagem-osso, reforçando a hipótese de que a perda da integridade da unidade osteocondral favorece tanto a invasão vascular e nociceptiva — conforme discutido por Suri e Walsh¹⁸, que apontam a dissolução dessa barreira como um gatilho inflamatório e doloroso — quanto a falência dos mecanismos de amortecimento articular, culminando na degradação progressiva da cartilagem.

A relevância funcional da junção osteocondral também é refletida nas estratégias terapêuticas para LCF. Na tentativa de prevenir sua evolução para artrose, técnicas com “scaffolds” bifásicos têm sido desenvolvidas com o objetivo de mimetizar a complexa biologia dessa interface¹⁵². Essa região é composta por diferentes tipos celulares e por uma matriz extracelular heterogênea, o que justifica o uso de construções bifásicas capazes de fornecer suporte mecânico, fatores de crescimento e populações celulares específicas, promovendo a regeneração integrada da cartilagem e do osso subcondral de maneira mais eficaz.

Em nosso estudo, todas as amostras de LCF analisadas correspondiam a lesões de grau 3 ou 4, caracterizando estágios moderados e avançados de degeneração cartilaginosa. Essa delimitação da amostragem pode, em parte, justificar a ausência de correlações significativas entre os marcadores histológicos, celulares e da matriz extracelular observados na cartilagem.

Segundo Waldstein et al.⁹⁴, parâmetros biomecânicos e estruturais parecem atingir um " piso funcional " ou patológico a partir de certo grau de comprometimento tecidual, o que limita a sensibilidade de escores histológicos e biomarcadores para discriminar tecidos com níveis semelhantes de degeneração. Assim, a inclusão apenas de lesões em estágios avançados pode ter reduzido a variabilidade dos achados histológicos, dificultando a identificação de correlações estatisticamente significativas.

Esses resultados reforçam a relevância de se incluir, em estudos futuros, amostras de LCF em estágios mais iniciais ou biópsias mais afastadas do centro da lesão, que tendem a apresentar maior heterogeneidade funcional e estrutural. Essa variabilidade pode ser crucial para a identificação de biomarcadores precoces de degeneração osteocondral, contribuindo para o diagnóstico e intervenção em fases mais favoráveis da doença.

A análise de outros parâmetros da cartilagem, como a densidade celular, a deposição de proteoglicanos e a expressão de colágenos, também não revelou diferenças significativas entre os grupos com LCF e OA. Ambos os grupos apresentaram perda de proteoglicanos e redução da proporção de colágeno tipo II — achados consistentes com o padrão degenerativo descrito na literatura^{54,63}. Essa similaridade nos perfis histológicos reforça a hipótese de que, mesmo em lesões focais, o grau de dano condral e de remodelação da matriz extracelular pode atingir níveis comparáveis aos observados em casos crônicos de OA, com desorganização estrutural e celular substancial⁸⁶.

A perda de proteoglicanos é um marcador amplamente utilizado para quantificar a degeneração da matriz cartilaginosa⁴³. No entanto, a ausência de diferenças significativas na coloração por safranina entre os grupos não esgota as possibilidades de avaliação desse processo degenerativo, tampouco reflete, de forma abrangente, a atividade enzimática relacionada à degradação da cartilagem, como a ação das agrecanases. Existem métodos alternativos que podem fornecer informações mais detalhadas e sensíveis, capazes de discriminar melhor entre LCF e OA.

Entre esses métodos, destacam-se o uso de colorações complementares para a quantificação da perda de proteoglicanos¹⁵³ e a análise de biomarcadores específicos de clivagem do agrecan, como os epítomos ARGS (alanina-arginina-glicina-serina), associados à atividade de agrecanases¹⁵⁴. Além disso, a quantificação direta das enzimas degradativas ADAMTS-4 e ADAMTS-5 (*ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif*) bem como a análise do marcador CS846, relacionado ao turnover do agrecan^{155,156}, representam estratégias promissoras para distinguir, em nível molecular, os diferentes padrões degenerativos entre LCF e OA.

A ausência de diferenças significativas na celularidade entre os grupos foi um achado inesperado, especialmente diante da expectativa de maior perda condrocitária no grupo OA, associada à degradação tecidual e à indução de apoptose. No entanto, esse resultado pode ser parcialmente explicado pela presença aumentada de fibroblastos observada qualitativamente nas lâminas histológicas, os quais podem compensar a perda de condrócitos. A infiltração fibroblástica, comumente associada a estímulos reparativos, ocorre tanto na LCF quanto na OA, de forma difusa e com ampla variabilidade interindividual, o que dificulta sua quantificação estatística.

A análise do perfil celular com base apenas na contagem celular e nos parâmetros histológicos convencionais mostrou-se insuficiente para uma distinção categórica entre LCF e OA. É importante destacar que alterações fenotípicas dos condrócitos, como variações na capacidade proliferativa, no perfil secretório, na taxa de apoptose, além de processos de desdiferenciação e hipertrofia, podem ocorrer durante a degeneração cartilaginosa⁵¹. A análise quantitativa desses parâmetros fenotípicos poderia ter oferecido maior poder discriminativo entre os grupos, revelando diferenças funcionais mesmo na ausência de variações significativas na densidade celular.

Nesse contexto, o estudo de Acevedo et al.¹¹¹ oferece uma contribuição relevante para a compreensão da heterogeneidade celular em lesões condrais focais (LCF). Os autores realizaram biópsias tanto da região central quanto da periferia das lesões e compararam os parâmetros celulares entre essas áreas. Foi observada uma ampla variabilidade na celularidade entre os doadores, com valores variando de menos de 0,5 até mais de 10 milhões de células por grama de tecido. Essa heterogeneidade impediu a identificação de diferenças estatisticamente significativas nesse parâmetro, tanto na análise global quanto entre diferentes grupos clínicos. Apesar disso, o estudo demonstrou que a cartilagem da região central das lesões condrais apresenta qualidade histológica inferior, menor viabilidade celular e capacidade reduzida de formação de nova cartilagem, quando comparada à cartilagem periférica adjacente. Mesmo em articulações com sinais inflamatórios acentuados, o tecido periférico mostrou características superiores, como maior teor de glicosaminoglicanos e maior expressão de colágeno tipo II e agrecan. Os condrócitos provenientes da região periférica mantiveram um fenótipo mais funcional e condrogênico, enquanto os condrócitos centrais apresentaram sinais de desdiferenciação e expressão aumentada de enzimas degradativas, como MMP-13 e ADAMTS-5, especialmente quando extraídos de cartilagens de pior qualidade. Esses achados sugerem que, embora macroscopicamente preservados, os tecidos periféricos já exibem alterações moleculares compatíveis com um fenótipo osteoartrítico incipiente (pré-OA). Além disso,

mesmo condrócitos isolados de cartilagem periférica considerada de "boa qualidade" expressaram níveis dessas enzimas superiores aos observados em cartilagem saudável, indicando que o processo degenerativo pode estar presente de forma subclínica. Essa constatação de doença osteocondral na periferia da lesão é semelhante aos nossos achados intragrupos de acometimento ósseo subcondral. Embora mais estudos e mais amostras possam contribuir com a relevância estatística, não foram observadas diferenças ósseas entre os dois locais de biópsias (centro vs. periferia) em nenhum grupo.

Os estudos também levantam uma questão clínica relevante: até que ponto o tecido periférico deve ser preservado ou removido em abordagens regenerativas. Os resultados reforçam a ideia de que lesões condrais focais possuem potencial degenerativo sistematizado e progressivo, o que também é confirmado pelo estudo de Squires⁵⁶, que corrobora e sustenta a hipótese desta tese de que a LCF compartilha mecanismos histológicos e moleculares com a osteoartrite em estágio inicial.

A mudança no perfil celular pode ser indiretamente avaliada por meio da quantificação dos produtos secretados e expressos pelas células. Em nosso estudo, não se observou um aumento na deposição de colágeno tipo I na cartilagem dos grupos com LCF e OA, o qual seria o padrão esperado em resposta a processos reparativos secundários ao dano condral, caracterizados pela formação de fibrocartilagem^{57,58,112}.

No grupo-controle, observou-se, como esperado, predomínio da expressão de colágeno tipo II (embora não estatisticamente significativo), compatível com a composição da cartilagem hialina e com o perfil secretório característico do condrócito diferenciado. Esse achado reforça que a diminuição na expressão de colágeno tipo II observada no grupo LCF representa uma resposta direta ao dano osteocondral, e não um efeito secundário decorrente de lesões associadas, como meniscompatias ou instabilidades ligamentares, também presentes em alguns casos do grupo-controle.

Os resultados do estudo em modelo animal de Lorenz et al.¹⁵⁷ demonstram que a expressão de colágeno tipo II e colágeno tipo I na cartilagem é precocemente aumentada e se mantém de forma estável durante o desenvolvimento da osteoartrite, independentemente da localização anatômica da amostra ou do grau histológico da lesão. Esse padrão molecular mostrou-se mais sensível e persistente que as alterações morfológicas detectáveis, enquanto genes como MMP-13, aggrecan e tenascina-C permaneceram inalterados até fases mais tardias. No estudo desta tese, verificou-se que, tanto nas lesões condrais focais (LCF) quanto na osteoartrite (OA), houve redução da expressão de colágeno tipo II em relação ao grupo-controle — marcador característico da cartilagem hialina — (embora sem significância estatística).

Apesar das diferenças no perfil colagênico, ambos os trabalhos convergem ao indicar que alterações moleculares podem ocorrer de forma precoce. Esse conjunto de evidências reforça que o desequilíbrio entre colágeno tipo I e II pode atuar como marcador sensível de degeneração osteocondral, tanto na OA experimental descrita por Lorenz et al. quanto nas amostras humanas analisadas nesta tese, complementando os critérios morfológicos tradicionais e apontando para biomarcadores com potencial valor no diagnóstico e na intervenção precoce.

A ausência de diferenças significativas no escore de Krenn entre os grupos analisados sugere que todas as condições estudadas compartilham características de sinovite de baixo grau, compatíveis com o espectro das doenças articulares não inflamatórias. Esse achado está de acordo com a literatura, que classifica a osteoartrite (OA) e a artrite pós-traumática como entidades associadas à sinovite leve, em contraste com o padrão de sinovite de alto grau observado na artrite reumatoide^{41,52}.

Entretanto, vale destacar que as médias do escore de Krenn observadas nos grupos com LCF (3,5) e OA (4,8) foram superiores às médias tradicionalmente reportadas na literatura para OA (em torno de 2), o que pode indicar um componente sinovial inflamatório maior nos casos avaliados neste estudo. Tal discrepância pode estar relacionada a fatores como a gravidade das lesões, o perfil dos pacientes ou o momento da coleta das amostras.

O funcionamento adequado da articulação depende, em grande medida, da integridade estrutural e da composição da matriz extracelular (MEC), na qual os proteoglicanos (PGs) exercem um papel essencial. Dentre eles, o agrecan é o principal responsável pelas propriedades viscoelásticas da cartilagem, além de desempenhar funções cruciais nas interações entre os condrócitos e a MEC. Os proteoglicanos biglycan e decorina contribuem para a estabilização da matriz ao regularem sua organização e manutenção estrutural. Já o versican é um proteoglicano transitório, predominantemente expresso durante os estágios iniciais da diferenciação condrogênica, sendo, posteriormente, substituído pelo agrecan à medida que os condrócitos amadurecem e a cartilagem adquire suas propriedades funcionais.

O perlecan é um proteoglicano da matriz basal que desempenha funções fundamentais na organização estrutural da cartilagem, na estabilização da matriz extracelular (MEC) e na retenção de fatores de crescimento, como o FGF-2, além de interagir diretamente com o colágeno⁷¹. Sua presença também está relacionada às propriedades mecanossensoriais da cartilagem e à regulação funcional da sinóvia.

No presente estudo, observou-se um aumento da expressão de perlecan na sinóvia do grupo com osteoartrite (OA), especialmente em regiões associadas à parede vascular espessada e à camada de revestimento sinovial. Embora essa diferença não tenha alcançado significância

estatística, o valor de *p* próximo ao limiar sugere que, com um aumento da amostra, o perlecan poderia se consolidar como um marcador sinovial relevante na diferenciação entre OA e lesões condrais focais (LCF).

Esse achado é consistente com estudos anteriores que demonstram a atuação do perlecan não apenas como componente estrutural da membrana sinovial, mas, também, como modulador funcional, potencialmente envolvido na patogênese da OA⁶⁰. Além disso, a literatura associa o aumento de sua expressão à formação de osteófitos e aos estágios mais avançados da OA — características presentes no grupo OA e ausentes no grupo LCF⁸⁸. A localização preferencial do perlecan junto às paredes vasculares e aos sinoviócitos observada neste estudo também está em consonância com achados descritos por Dodge et al.⁴⁶ e Patterson et al.⁶⁸, reforçando o papel desse proteoglicano na remodelação sinovial e vascular associada à progressão da doença.

A decorina tem sido implicada na resposta inicial ao estresse mecânico e na modulação da degradação da matriz extracelular, o que pode justificar o aumento de sua expressão observado na sinóvia do grupo LCF¹⁰⁷. Esse achado pode refletir uma regulação positiva local, uma vez que estudos prévios demonstraram que a decorina atua de forma protetora, retardando a perda de agrecan e a fibrilação da superfície cartilaginosa, contribuindo para a atenuação da degeneração condra¹⁰⁶.

Entretanto, a ausência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos corrobora estudos que não identificaram associação entre os níveis de decorina no líquido sinovial e o diagnóstico de OA¹⁰⁸. Além disso, essa ausência de diferença pode ser explicada pelo envolvimento da decorina em processos de desdiferenciação condrocitária, fenômeno descrito tanto na OA quanto na LCF⁵⁹.

Por outro lado, esse achado contrasta com evidências que demonstram aumento da expressão gênica e proteica de decorina em estágios avançados da OA, possivelmente como um mecanismo compensatório diante da perda global de proteoglicanos¹². De forma similar, Little, em estudo experimental em ovinos¹⁵⁸, avaliou a cartilagem articular de diferentes regiões submetidas a variados níveis de estresse mecânico quanto à síntese de proteoglicanos — agrecan, biglycan e decorina — em condições normais e após meniscectomia lateral, intervenção que induz osteoartrite precoce. Após a meniscectomia, observou-se uma elevação na biossíntese de biglycan e decorina nas cartilagens tibial e femoral laterais, acompanhada por aumento da degradação do agrecan. Esses dados indicam que a modulação da expressão de decorina (e biglycan) representa uma resposta inicial e adaptativa dos condrócitos a alterações mecânicas, sugerindo que essas alterações ocorrem precocemente na osteoartrite experimental.

De forma complementar, o estudo de Ali et al.¹¹⁴ encontrou níveis reduzidos de decorina e agrecan no líquido sinovial em diferentes estágios da OA, o que pode refletir tanto o aumento da atividade catabólica quanto um processo ativo de remodelação sinovial.

A associação entre esses achados da literatura e os resultados desta tese, particularmente a ausência de diferenças significativas na expressão sinovial de decorina entre LCF e OA, reforça a semelhança entre essas duas entidades. Esses dados contribuem para a hipótese central do presente trabalho, de que a LCF compartilha características moleculares e estruturais com estágios precoces da osteoartrite.

Na revisão conduzida por Moretti et al.¹¹³, diversos biomarcadores foram analisados em relação à progressão da OA, com destaque para os proteoglicanos agrecan e decorina, cujos níveis foram significativamente reduzidos em amostras de pacientes com OA. Além disso, o estudo identificou marcadores com potencial utilidade na definição da cronologia da doença. Entre esses, a periostina apresentou níveis elevados nos estágios iniciais da OA, enquanto o CRTA1 e as metaloproteinases da matriz (MMPs) — como MMP-13 — mostraram-se aumentados nos estágios mais avançados, refletindo o avanço do processo degenerativo. No contexto da regeneração tecidual natural, o colágeno tipo III foi observado em maior quantidade nas fases iniciais da OA, mas com redução progressiva à medida que a doença evolui para estágios tardios.

Esses achados reforçam o potencial uso de biomarcadores como ferramentas para estratificação temporal da OA e para diferenciação de estágios da doença, podendo também auxiliar na distinção entre lesões condrais focais e quadros degenerativos mais avançados.

No presente estudo, observou-se hiperplasia sinovial inicial e aumento da vascularização na sinóvia dos pacientes com lesão condral focal. No entanto, os níveis de colágeno tipo I e tipo III na sinóvia desses pacientes foram semelhantes aos observados no grupo-controle, sem diferenças estatisticamente significativas. Estudos anteriores indicam que o colágeno tipo I atua como regulador negativo da inflamação e pode exercer efeito biofarmacológico na modulação tecidual⁷⁶.

Esse achado reforça a hipótese de que, em estágios iniciais de lesão osteocondral, ainda não há desregulação significativa da homeostase articular capaz de impactar de forma marcante a expressão de colágenos na sinóvia. Tal constatação também sugere que intervenções locais precoces podem evitar a progressão do dano articular e impedir a ativação de uma cascata degenerativa multitecidual, característica da osteoartrite (OA).

Além disso, a presença de colágenos depositados na matriz extracelular tanto nos grupos-controle quanto LCF pode representar um novo alvo terapêutico. Conforme descrito na literatura, o bloqueio das interações mediadas pelos telopeptídeos das moléculas de colágeno poderia limitar o processo de fibrose e a progressão da desorganização sinovial⁷⁰.

Os níveis de colágeno tipo I e III na sinóvia do grupo com osteoartrite (OA) foram significativamente mais baixos em comparação aos grupos-controle e LCF. Essa redução pode ser atribuída à maior degradação tecidual associada à OA, mediada por citocinas inflamatórias e metaloproteinases, ou, ainda, à natureza crônica da lesão, marcada por um padrão inflamatório menos agudo. Esse achado reforça a visão atual da OA como uma doença articular de caráter multitecidual, na qual alterações estruturais da sinóvia, induzidas pela degradação da matriz extracelular e pela ação de collagenases, desempenham papel relevante na patogênese⁶¹.

O achado de menor expressão de colágeno tipo I no tecido sinovial do grupo OA contrasta com os resultados do estudo metabolômico e proteômico conduzido por Ge et al.¹³⁴, que identificaram níveis elevados de colágeno tipo I na sinóvia de pacientes com OA, associados ao aumento da atividade de fosfatase alcalina. Os autores interpretaram esses dados como evidência de um processo osteogênico ativo, potencialmente impulsionado pela diferenciação de fibroblastos sinoviais, células-tronco mesenquimais e condrócitos hipertrofiados. Esse processo, segundo os autores, poderia culminar em condromatose sinovial por meio da remodelação da matriz extracelular e da ativação das vias de sinalização COL1A1 e COL3A1.

A análise comparativa entre os achados desta tese e os de Ge et al. sugere que, embora os níveis de colágeno tipo III estejam reduzidos no grupo OA em relação ao grupo LCF, sua expressão ainda se encontra aumentada quando comparada a tecidos sinoviais normais, não acometidos por processos degenerativos. Esse padrão pode refletir um estado intermediário de remodelação tecidual, característico da OA em progressão.

A revisão sobre fibrose sinovial conduzida por Zhang et al.²⁸ também descreve a sinóvia osteoartrítica como um tecido com expressão aumentada de colágenos tipo I e III, corroborando a linha argumentativa adotada nesta tese. Os autores caracterizam a fibrose sinovial na osteoartrite (OA) como resultado da deposição anormal de colágenos sob condições patológicas, principalmente na subíntima, associada a processos de remodelação tecidual, angiogênese e invasão de fibras nervosas.

Adicionalmente, o colágeno tipo III tem sido descrito na literatura como um marcador associado à inflamação⁴⁰, com expressão mais acentuada em fases agudas, como na artrite pós-traumática e nas lesões condrais focais (LCF)⁶², sendo a sinovite considerada em alguns estudos

como fator preditivo de progressão da condropatia⁶⁴. Já nos casos de OA, espera-se um padrão mais fibrótico e crônico, com remodelação da matriz predominando sobre o componente inflamatório agudo.

A maior presença de fibrose sinovial observada na análise histológica do grupo com osteoartrite (OA), associada à menor concentração de colágeno tipo III na sinóvia, está em concordância com estudos⁴² que relatam uma relação inversa entre o grau de fibrose e a intensidade da inflamação e do infiltrado celular na sinóvia de pacientes com OA. Esses estudos sugerem que a fibrose é predominantemente, embora não exclusivamente, encontrada nos estágios mais avançados da doença. Além disso, apontam para uma possível transição de um fenótipo sinovial inflamatório para um fenótipo fibrótico ao longo da progressão da OA, indicando que os fatores envolvidos na indução da fibrose podem ser regulados positivamente durante a fase inflamatória inicial^{45,53,90}.

Os achados desta tese contribuem para o entendimento da dinâmica entre sinovite e fibrose ao longo do curso da OA — um processo reconhecido, porém ainda não completamente elucidado na literatura⁹³. Dentre os aspectos que permanecem indefinidos nesse processo, destacam-se: (1) a possibilidade de que outros tipos de colágeno, além do tipo I e III, estejam mais diretamente associados à inflamação ou à fibrose nos estágios avançados da OA; (2) a hipótese de que a distribuição dos colágenos varie regionalmente na sinóvia, sendo potencialmente mais expressiva em áreas distintas da região suprapatelar; (3) o fato de que nem todos os subtipos de sinovite cursam com fibrose e que essa manifestação pode não estar presente em todos os casos de OA; (4) a influência de variações individuais, como estágio da doença, características do paciente e localização anatômica da amostra, na modulação do perfil de colágeno; e (5) a possibilidade de que inflamação e fibrose coexistam de forma independente em diferentes regiões da sinóvia⁹³.

A ausência de diferença significativa na expressão de colágeno tipo V entre os grupos analisados, aliada ao seu baixo valor absoluto em comparação com os colágenos tipo I e III, sugere que o colágeno V exerce papel secundário na estrutura da sinóvia e tem participação limitada nos processos patológicos associados à osteoartrite. Esses dados indicam que, ao contrário dos colágenos mais abundantes, o colágeno tipo V pode não ser um marcador relevante de remodelação ou inflamação sinovial em estágios iniciais ou avançados da doença, o que é contrastante com os achados de Atayde et al. em seu modelo experimental em ratos, com o qual concluíram que a suplementação de colágeno V diminui a inflamação sinovial e a resposta fibrótica, possivelmente pelo aumento da apoptose de células inflamatórias.

O estudo clínico-patológico conduzido por Ene et al.⁹² analisou amostras de sinóvia de pacientes com osteoartrite em diferentes estágios evolutivos, evidenciando sinovite significativa com infiltrado mononuclear, fibrose difusa, espessamento da camada sinovial e neoangiogênese, mesmo nos casos classificados como artrose inicial. Em estágios avançados, a sinovite mostrou-se mais difusa, extrapolando os limites dos defeitos condrais, indicando um acometimento sinovial mais global e refletindo a degradação articular na OA⁸⁰.

No presente estudo, embora todas as biópsias sinoviais tenham sido obtidas exclusivamente da região suprapatelar, a maior expressão de colágenos tipo I e III observada no grupo LCF sugere a presença de um processo inflamatório difuso, e não apenas localizado nas adjacências do defeito condral. Esse achado reforça a hipótese de que alterações sinoviais podem ocorrer a distância da lesão principal, afetando compartimentos articulares não diretamente envolvidos.

Por outro lado, a ausência de diferenças entre os grupos quanto ao escore de Krenn e à expressão de colágeno tipo V na sinóvia sugere que nem todos os marcadores sinoviais avaliados refletem alterações globais de forma uniforme. A análise exclusiva da região suprapatelar, embora metodologicamente padronizada, pode não capturar toda a heterogeneidade inflamatória da articulação. Assim, a ausência de correlações estatísticas mais abrangentes não invalida a relevância biológica dos achados locais, mas destaca a limitação intrínseca da amostragem restrita.

Esses resultados ressaltam a importância de futuras investigações que incluam múltiplos sítios anatômicos e diferentes fases da doença, a fim de permitir uma caracterização mais precisa da distribuição espacial da sinovite e de seu papel na fisiopatologia da OA.

Dentre os possíveis fatores de confusão na distinção entre LCF e osteoartrite (OA), destaca-se a influência de características clínicas dos pacientes, como obesidade, tabagismo e doenças metabólicas, que podem interferir diretamente na progressão da doença^{37,117}. Estudos futuros que comparem LCF e OA em populações mais homogêneas — especialmente pacientes jovens — podem contribuir para minimizar esses vieses ao permitir melhor distribuição dessas variáveis clínicas entre os grupos. Além disso, os processos metabólicos e moleculares envolvidos na cicatrização e degeneração articular variam conforme o tempo de evolução da doença. No presente estudo, todos os parâmetros clínicos foram devidamente tabulados e, em cenários futuros de maior casuística, tais correlações podem ser avaliadas a fim de agregar mais informações sobre o comportamento e a evolução das LCF e OA ao longo do tempo.

Esses achados reforçam a importância de estudos com amostras maiores, que possibilitem análises mais robustas e estratificadas de acordo com o tempo de evolução da

doença, permitindo identificar potenciais modificadores clínicos ou moleculares da resposta tecidual.

As diferenças observadas neste estudo, especialmente a maior expressão de colágeno tipo I e III na sinóvia de pacientes com lesão condral focal, podem ter implicações terapêuticas relevantes na OA. Esses achados sugerem que estratégias voltadas à prevenção da fibrose sinovial devem ser consideradas precocemente, mesmo em estágios iniciais da doença, como nas LCF, antes que o processo degenerativo multitecidual esteja plenamente estabelecido.

O tecido sinovial, particularmente a fibrose sinovial, tem sido amplamente investigado como potencial alvo terapêutico na OA, seja por sua contribuição para a patogênese articular, seja pela possibilidade de identificação de marcadores precoces da doença. Entre as abordagens experimentais, destaca-se o uso do ultrassom de baixa intensidade com pulso (LIPUS), que demonstrou reduzir a deposição de colágeno na sinóvia e retardar a progressão da OA em modelos animais²⁵.

Além disso, terapias antifibróticas mais recentes, como o uso de Nintedanibe (inibidor da tirosina-quinase) ou de Tofacitinibe (inibidor da JAK), têm sido estudadas por suas propriedades moduladoras da fibrose sinovial. Até mesmo terapias amplamente utilizadas na prática clínica, como a aplicação de plasma rico em plaquetas (PRP), foram associadas a alterações no perfil de fibrose sinovial²⁴, ressaltando a complexidade da resposta sinovial frente a diferentes intervenções.

Esses dados reforçam a relevância de incluir o tecido sinovial nas estratégias de investigação e intervenção terapêutica, ampliando o foco além da cartilagem e do osso subcondral para o tratamento integral da OA.

Acrescenta-se que os achados teciduais identificados neste estudo podem ser correlacionados, em investigações futuras, com escores compostos de atividade enzimática, dosagem de biomarcadores séricos ou sinoviais⁸¹, parâmetros avançados de imagem obtidos por técnicas tridimensionais, como microtomografia computadorizada ou ressonância magnética quantitativa (T2 mapping, dGEMRIC, T1ρ)¹¹⁵, bem como com perfis de expressão gênica e mapeamento de vias de sinalização associadas à patogênese articular^{159,160}. Tais correlações podem contribuir para uma caracterização mais precisa das entidades clínicas envolvidas no espectro degenerativo articular.

Além disso, a resposta regenerativa pode variar de acordo com a gravidade da lesão condral, o estágio de progressão da doença e a presença de um microambiente inflamatório hostil à regeneração. Estudos demonstram que células-tronco mesenquimais podem estar presentes na sinóvia de pacientes com LCF, ainda que de forma heterogênea¹⁰⁵, o que levanta

a possibilidade de que intervenções terapêuticas precoces favoreçam a mobilização e o recrutamento dessas células, potencialmente prevenindo a progressão degenerativa. No entanto, também já se documentou a presença de células mesenquimais em sinovites associadas a estágios avançados de osteoartrite, como observado por Sekiya et al.⁸⁷, o que evidencia a complexidade do papel dessas células nos diferentes contextos patológicos.

A comparação entre LCF e OA também deve considerar a atual compreensão de que a OA representa um espectro clínico e molecular composto por múltiplas apresentações fenotípicas. Segundo revisão de Dell'Isola et al.⁹⁵, a OA pode ser classificada em, pelo menos, seis subtipos distintos: inflamatório, mecânico, metabólico, osteoporótico, senescente e neuropático. Cada fenótipo apresenta características moleculares e histológicas próprias, o que pode influenciar significativamente a forma como a doença se manifesta e, consequentemente, a validade das comparações com LCF.

Por exemplo, no fenótipo inflamatório, observa-se aumento de citocinas inflamatórias e presença acentuada de sinovite, enquanto o fenótipo metabólico é frequentemente associado à expressão de adipocinas. O fenótipo senescente é caracterizado pela redução da sinalização de TGF- β e da expressão do fator de transcrição SOX9, essencial para a manutenção do fenótipo condrogênico. Já o fenótipo osteoporótico apresenta fragilidade do osso subcondral e maior propensão a microfraturas. Por fim, o fenótipo neuropático se associa ao aumento de mediadores neurogênicos, como a substância P e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP).

Nesse contexto, é plausível que os parâmetros avaliados nos casos de LCF apresentem diferentes níveis de correlação com os achados histológicos e moleculares da osteoartrite (OA), a depender do fenótipo específico da OA com o qual estejam sendo comparados. A complexidade inerente à doença, associada à multiplicidade de fatores clínicos, metabólicos e biomecânicos que influenciam sua expressão, pode justificar a ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos LCF e OA em algumas das análises realizadas neste estudo.

Uma possível limitação metodológica do presente estudo que pode ter contribuído para a ausência de diferenças significativas entre os grupos LCF e osteoartrite (OA) nos parâmetros de avaliação da cartilagem refere-se à localização anatômica das biópsias osteocondrais. As amostras foram obtidas de diferentes regiões articulares — côndilo femoral medial, côndilo femoral lateral e tróclea femoral —, sem pareamento randômico entre os grupos. Observou-se, neste estudo, uma predominância de biópsias provenientes do côndilo femoral medial no grupo OA, o que é justificado pela maior prevalência de comprometimento medial nos casos de

artrose. Por outro lado, as biópsias do grupo LCF apresentaram distribuição mais equilibrada entre os compartimentos articulares.

Considerando que o fator mecânico exerce papel fundamental na progressão da OA, áreas submetidas à maior sobrecarga funcional tendem, quando lesionadas, a entrar em um ciclo vicioso de degradação osteocondral, com remodelamento subcondral e liberação de debris para o espaço articular, o que contribui para sinovite reacional e aumento da secreção sinovial⁸⁹. Assim, a localização da biópsia pode influenciar significativamente os achados histológicos, independentemente do estágio clínico da doença.

Para minimizar esse tipo de viés em estudos futuros, sugere-se a padronização anatômica dos sítios de coleta, com mapeamento preciso das regiões submetidas à maior carga mecânica e análise estratificada por compartimento articular. A inclusão de parâmetros adicionais, como o grau de deformidade mecânica e o perfil de distribuição de carga articular, pode auxiliar na interpretação dos achados teciduais e melhorar a comparabilidade entre os grupos LCF e OA.

Embora a amostra utilizada no presente estudo tenha se mostrado adequada para identificar diferenças moderadas e intensas entre os grupos nos parâmetros analisados, o aumento da casuística poderia permitir a detecção de diferenças mais sutis, particularmente em variáveis com maior variabilidade interindividual. A heterogeneidade intrínseca das lesões osteocondrais, aliada à suscetibilidade dos achados histológicos à localização anatômica das biópsias, representa uma importante fonte de variação.

Além disso, eventuais alterações decorrentes do processamento histotécnico, como variações na espessura das lâminas, coloração e preservação do material, também podem influenciar os resultados e dificultar a discriminação entre os grupos. Esses fatores reforçam a importância de amostras maiores e metodologias mais padronizadas em estudos futuros, a fim de aumentar a sensibilidade analítica e reduzir o impacto de variáveis técnicas e anatômicas sobre os achados teciduais.

Nesta tese, não foram realizadas análises comparativas – entre os diversos parâmetros histológicos e moleculares da cartilagem e da sinóvia como o escore de OARSI, a perda de proteoglicanos, a expressão de colágenos tipo I e II, a celularidade condral e os colágenos sinoviais – devido à casuística do trabalho.

Embora haja na literatura associação entre alguns parâmetros como, por exemplo, entre perda de proteoglicanos e danos às fibrilas colágenas¹⁶¹, tal associação não ocorre sempre de forma previsível⁴⁴, o que, por si só, pode refletir a natureza multifatorial, dinâmica e heterogênea da degeneração osteoarticular, conforme já descrito na literatura.

Fosang e Little⁷³, por exemplo, destacaram que a degradação da matriz cartilaginosa, particularmente da molécula de agrecan, pode ocorrer de forma dissociada da remodelação colagênica, sendo possível observar perda de proteoglicanos sem substituição proporcional do colágeno tipo II por colágeno tipo I, dependendo do estágio da doença. De modo semelhante, Madry et al.⁸² demonstraram, em modelos experimentais, que a fibrose sinovial ou a presença de sinovite não necessariamente se correlacionam com a expressão dos colágenos tipo III e V. Complementarmente, Krenn et al.⁶⁵ evidenciaram que a fibrose sinovial pode ocorrer independentemente do grau de infiltrado celular ou da pontuação inflamatória, sugerindo que a remodelação da matriz sinovial pode seguir vias distintas da ativação imunológica.

Esses achados sustentam a hipótese de que os processos celulares e as alterações da matriz extracelular, embora inter-relacionados, não evoluem de forma linear ou paralela, especialmente em amostras clínicas heterogêneas como as analisadas neste estudo. A ausência de correlações diretas entre os parâmetros avaliados reforça a complexidade da fisiopatologia osteocondral e sinovial, e destaca a importância de abordagens analíticas mais integrativas, incluindo modelos longitudinais e multivariados, para aprofundar a compreensão das interações entre os diferentes compartimentos articulares.

O presente estudo apresenta uma análise abrangente com o objetivo de diferenciar lesões condrais focais (LCF) e osteoartrite (OA), por meio da avaliação integrada de distintos tecidos articulares — sinóvia, cartilagem e osso subcondral. Essa abordagem se mostra especialmente pertinente à luz do conceito contemporâneo da OA como uma doença de caráter multitecidual, e do crescente interesse científico no papel do osso subcondral como elemento central na sua fisiopatologia.

Destaca-se, ainda, o valor da investigação realizada com amostras obtidas de pacientes humanos vivos, considerando que grande parte do conhecimento atual sobre a progressão da OA e seus biomarcadores deriva de modelos experimentais em animais. Um exemplo relevante é o estudo conduzido por Takahashi et al.¹³¹, que buscou identificar marcadores pré-artríticos em um modelo murino de osteoartrite induzida por desestabilização do menisco medial. Nesse modelo, os autores demonstraram que alterações moleculares importantes — como o aumento da expressão de MMP-13, ADAMTS-5, Gremlin-1 e HYBID (hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization) — ocorrem já nas primeiras 24 horas após a lesão, precedendo alterações morfológicas detectáveis na cartilagem.

Esses achados dialogam diretamente com os resultados da presente tese, especialmente em relação às amostras de LCF, reforçando a hipótese de que alterações histológicas e moleculares profundas podem estar presentes mesmo em lesões que, do ponto de vista clínico

ou por imagem, aparentam ser isoladas e iniciais. Tanto no modelo animal quanto nas biópsias humanas aqui analisadas, foram identificados eventos precoces, como a perda de proteoglicanos, desorganização da matriz extracelular e morte condrocitária superficial — alterações que antecedem a degradação estrutural evidente da cartilagem. O aumento progressivo do escore OARSI no modelo experimental também corrobora os achados obtidos neste estudo.

Essas evidências sustentam a visão de que a LCF pode representar um estágio inicial do espectro degenerativo da OA, caracterizado por um perfil bioquímico já ativo de remodelamento tecidual desfavorável. Dessa forma, os dados reforçam a importância de intervenções terapêuticas mais precoces, específicas e orientadas por marcadores moleculares, com o objetivo de interromper a progressão para estágios mais avançados da doença.

Por fim, a caracterização histológica de casos de LCF realizada neste estudo, em pacientes candidatos a procedimentos de regeneração cartilaginosa e anterior à intervenção terapêutica, pode servir como base de comparação para estudos que avaliam tecidos reparativos após tratamentos de cartilagem. Embora a maioria das evidências disponíveis na literatura descreva os resultados pós-tratamento com base em achados artroscópicos ou de imagem, alguns estudos também incluem análises histológicas diretas.

Roberts et al.⁵⁵, por exemplo, relataram bons resultados histológicos após procedimentos reparativos, observando boa integração do novo tecido à cartilagem nativa. No entanto, a morfologia do tecido regenerado foi variável, sendo classificada como predominantemente hialina em 22% das amostras, mista em 48% e predominantemente fibrocartilaginosa em 30%. A espessura média do tecido reparado foi de 2,5 mm, com tendência de melhora ao longo do tempo de seguimento.

É importante destacar que diferentes técnicas de tratamento das lesões condrais resultam em tecidos de características histológicas distintas, o que contribui para a heterogeneidade dos resultados. Méthot et al.⁹⁷ ressaltaram essa variabilidade em sua revisão, e a meta-análise conduzida por DiBartola et al.⁹⁶ reforçou essa observação ao comparar diversos métodos de reparo. Os autores demonstraram que os tecidos oriundos de transplante osteocondral autólogo apresentaram a maior proporção de cartilagem hialina, enquanto aqueles resultantes da técnica de microfraturas consistiam majoritariamente de fibrocartilagem. Já nas abordagens celulares, como o implante autólogo de condrócitos (ACI), o tecido regenerado variou entre fibrocartilagem e composição mista de cartilagem hialina e fibrocartilagem.

Ainda segundo DiBartola et al., embora a variação percentual dos escores clínicos tenha se correlacionado com biópsias com maior conteúdo de cartilagem hialina, essa relação não foi

observada com os escores histológicos do ICRS. Ademais, não foram identificadas correlações significativas entre o tamanho ou a localização da lesão e os achados histológicos pós-reparo.

Dessa forma, os dados obtidos neste estudo, ao caracterizar de maneira sistemática o tecido osteocondral em lesões condrais antes do tratamento, contribuem não apenas para o entendimento das fases iniciais da degeneração articular, mas também oferecem um referencial histológico relevante para comparação com diferentes modalidades terapêuticas em estudos futuros.

Alguns estudos também se dedicaram à caracterização histológica do tecido formado em casos de falha de tratamentos condrais, oferecendo uma perspectiva crítica sobre os resultados estruturais das terapias regenerativas. Nehrer et al.⁴⁹ analisaram amostras obtidas de pacientes submetidos a técnicas como abrasão artroplástica, enxertos pericondrais e implante autólogo de condrocitos (ACI), nos quais houve insucesso clínico do tratamento. A análise histológica revelou que a maioria dos tecidos regenerados apresentava morfologia compatível com fibrocartilagem ou tecido fibroso, com presença limitada de cartilagem hialina verdadeira. A avaliação imuno-histoquímica evidenciou predomínio de colágeno tipo I nas áreas reparadas, enquanto o colágeno tipo II — marcador característico da cartilagem hialina — foi identificado em proporções discretas.

Tais achados se assemelham aos observados nas amostras de LCF analisadas nesta tese, sugerindo que, mesmo após intervenções terapêuticas, os tratamentos comumente utilizados podem não ser capazes de modificar substancialmente o perfil histológico dessas lesões. De modo semelhante, LaPrade et al.⁷² relataram, em estudo com pacientes com falhas em reparo condral, a formação de tecido estruturalmente distinto da cartilagem normal, confirmando a recorrência de um padrão regenerativo subótimo.

Esses resultados reforçam a noção de que os métodos atuais de reparo frequentemente resultam em tecidos estruturalmente inferiores, incapazes de restaurar completamente as propriedades histológicas e funcionais da cartilagem articular nativa. Consequentemente, o entendimento profundo das características iniciais das LCF, como proposto neste estudo, é essencial não apenas para fins diagnósticos, mas também para orientar o desenvolvimento de terapias mais eficazes e duráveis.

Assim como as análises histológicas de biópsias osteocondrais podem servir como controles estruturais em estudos de tratamentos para lesões condrais, o tecido sinovial e seus produtos secretórios também representam potenciais marcadores funcionais para mensurar a eficácia das intervenções e caracterizar o equilíbrio articular entre fatores anabólicos e catabólicos. Os achados sinoviais obtidos no presente estudo podem, portanto, servir como

referência basal para futuras investigações que avaliem a resposta sinovial após diferentes modalidades de tratamento para LCF.

Nesse sentido, o estudo-piloto conduzido por Vasara et al.⁷⁴ investigou os níveis de metaloproteinase-3 de matriz (MMP-3) e do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) no líquido sinovial de pacientes com lesões condrais submetidos ao implante autólogo de condócitos (ACI), comparando os valores antes da cirurgia e um ano após o procedimento. Apesar da constatação, por artroscopia, de preenchimento dos defeitos com tecido de reparo, os níveis desses biomarcadores permaneceram elevados em relação a indivíduos controles, sem lesões. Esse achado sugere que o ambiente sinovial pode permanecer metabolicamente alterado mesmo após aparente regeneração tecidual, refletindo atividade contínua de remodelação ou possível degeneração precoce do tecido reparado.

Essas observações ressaltam o potencial dos biomarcadores sinoviais como indicadores dinâmicos da qualidade e estabilidade do reparo condral, e reforçam a importância de se considerar o componente sinovial na avaliação de desfechos terapêuticos. Dessa forma, os dados apresentados nesta tese oferecem subsídios iniciais para o desenvolvimento de protocolos de monitoramento biológico que complementem as análises estruturais convencionais.

Até o momento, não foram encontrados na literatura estudos que avaliem, de forma sistemática, critérios histológicos e moleculares do tecido sinovial após tratamentos de reparo ou reconstrução condral. Nesse contexto, os achados sinoviais desta tese — especialmente aqueles relacionados à expressão de colágenos tipo I e III — podem servir como referência para estudos futuros que busquem analisar a homeostase sinovial como parâmetro adicional na avaliação da eficácia terapêutica⁸⁵ em lesões condrais focais (LCF).

De forma complementar, os dados obtidos a partir da análise do tecido sinovial de pacientes submetidos à artroscopia por lesões articulares sem evidência de degeneração (grupo-controle desta tese) também podem ser utilizados como preditores de desfechos clínicos em contextos semelhantes. Gottreich et al.¹³³, em sua revisão sistemática, destacaram que alterações moleculares no microambiente sinovial de pacientes submetidos à reconstrução do ligamento cruzado anterior (LCA) — incluindo níveis de citocinas inflamatórias, metaloproteinases e mediadores anabólicos e catabólicos — refletem o estado biológico da articulação e podem influenciar a resposta à cirurgia.

Biomarcadores como IL-6, MMP-3 e TNF- α mostraram associação com dor persistente, progressão da degeneração condral e piores desfechos funcionais. Apesar do potencial translacional, a aplicação clínica desses marcadores — seja na análise de tecido sinovial seja na de líquido sinovial — ainda é limitada por fatores como heterogeneidade metodológica e

falta de validação em coortes prospectivas de maior escala. No entanto, esses achados reforçam o valor da sinóvia como componente ativo no ambiente articular e sugerem que sua análise pode futuramente ser integrada a protocolos pré-operatórios personalizados, contribuindo para a estratificação de risco e definição de estratégias terapêuticas individualizadas em cirurgia do joelho.

De forma complementar, a análise da distribuição de proteoglicanos específicos, como o perlecan, pode representar uma alternativa relevante para a mensuração da eficácia do reparo cartilaginoso. No estudo de Garcia et al.¹¹⁰, a imunolocalização do perlecan foi avaliada em cartilagem saudável, em tecidos que se regeneraram naturalmente e em amostras submetidas a terapias celulares. Na cartilagem normal, o perlecan foi observado de forma discreta, localizado, predominantemente, na matriz pericelular ao redor dos condrócitos.

Por outro lado, nas cartilagens reparadas — tanto espontaneamente quanto por terapia celular —, a coloração para perlecan variou consideravelmente: em algumas biópsias, foi restrita à região pericelular, em outras, se apresentou de forma difusa em toda a matriz, e, em certos casos, ambos os padrões foram identificados simultaneamente. Nas amostras com maior proporção de fibrocartilagem, o perlecan apresentava distribuição mais difusa, com marcação intensa ao redor de alguns condrócitos, o que contrastava nitidamente com o padrão observado na cartilagem hialina normal.

Nos tecidos em que havia presença de cartilagem hialina — independentemente de terem sido reparados naturalmente ou por terapia celular, o perlecan localizava-se, principalmente, em regiões pericelulares, mas com intensidade de marcação superior à da cartilagem saudável. Além disso, as células mais alongadas, características da fibrocartilagem, apresentaram coloração fraca a moderada, enquanto os condrócitos arredondados, típicos da cartilagem hialina (tanto reparada quanto normal), exibiram imunomarcação pericelular intensa.

Esses achados reforçam o potencial do perlecan como marcador da qualidade do tecido cartilaginoso regenerado, podendo auxiliar na diferenciação entre padrões de reparo e na identificação de fenótipos celulares predominantes em diferentes tipos de cartilagem.

A revisão sistemática conduzida por Alcaide-Ruggiero et al.¹¹⁹ analisou diversos estudos experimentais^{120–128} que investigaram o uso de proteoglicanos (PGs) como marcadores da qualidade do tecido reparado em lesões condrais. A análise conjunta desses trabalhos sugere que a quantificação e a distribuição dos PGs constituem ferramentas úteis para a avaliação da resposta tecidual a diferentes estratégias terapêuticas, especialmente em modelos experimentais.

Dado o papel central dos PGs na estrutura e função da cartilagem articular, torna-se essencial monitorar seu conteúdo e padrão de expressão tanto em contextos de lesão quanto em processos de regeneração condral. Além disso, fragmentos específicos de PGs, como agrecan, biglycan e decorina, têm sido propostos como biomarcadores de degradação da matriz extracelular em pacientes com OA, com potencial aplicação diagnóstica e prognóstica.

É importante destacar, no entanto, que os estudos revisados se concentram, majoritariamente, na análise de PGs na cartilagem articular, sem abordar o papel do perlecan no tecido sinovial no contexto de reparo condral. Nesse sentido, os achados do presente estudo, que descrevem a expressão do perlecan na sinóvia de pacientes com lesões condrais, podem representar uma contribuição original e relevante. Tais dados podem servir como base para futuras investigações que explorem o perlecan sinovial como um possível marcador de homeostase articular ou como indicador da eficácia de intervenções terapêuticas no contexto de lesões osteocondrais.

Como discutido ao longo deste trabalho, a avaliação histológica e molecular apresenta uma ampla gama de aplicações, que variam desde a identificação precoce de alterações articulares até a análise da qualidade do tecido formado após tratamentos de lesões condrais⁷⁸. A utilização de critérios histológicos deve ser complementada por outras modalidades de análise — como estudos biomecânicos, exames de imagem e avaliações clínicas — a fim de promover um manejo mais abrangente e preciso das lesões articulares do joelho.

Considerando que a cartilagem articular é um tecido especializado para suporte de carga, a viabilidade do tecido reparado deve ser avaliada não apenas por sua morfologia, mas também por sua capacidade funcional. Nesse contexto, a associação com estudos que mensuram a resistência mecânica e a tolerância à carga do tecido regenerado, como o realizado por Trengove et al.¹³², pode contribuir para a definição de qual proporção de cartilagem hialina no tecido reparado é necessária para garantir propriedades biomecânicas compatíveis com o tecido nativo. Tais abordagens integrativas são fundamentais para o avanço da Medicina Regenerativa aplicada às articulações e para o desenvolvimento de critérios mais precisos de sucesso terapêutico em lesões osteocondrais.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstra que as alterações estruturais na cartilagem articular e no osso subcondral do grupo LCF, são semelhantes às aquelas observadas na OA. No entanto, os colágenos I e III apresentam-se mais expressos no tecido sinovial do grupo LCF. O grupo controle mostrou melhores valores na análise de osso subcondral e proteoglicanos comparados ao grupo OA.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Minas T. A primer in cartilage repair. *J Bone Joint Surg Br.* 2012 Nov;94(11 Suppl A):141-6. doi: 10.1302/0301-620X.94B11.30679.
2. Messner K, Maletius W. The long-term prognosis for severe damage to weight-bearing cartilage in the knee: a 14-year clinical and radiographic follow-up in 28 young athletes. *Acta Orthop Scand.* 1996 Apr;67(2):165-8. doi: 10.3109/17453679608994664.
3. Widuchowski W, Widuchowski J, Faltus R, Lukasik P, Kwiatkowski G, Szyluk K, Koczy B. Long-term clinical and radiological assessment of untreated severe cartilage damage in the knee: a natural history study. *Scand J Med Sci Sports.* 2011 Feb;21(1):106-10. doi: 10.1111/j.1600-0838.2009.01062.x.
4. Guermazi A, Hayashi D, Roemer FW, Niu J, Quinn EK, Crema MD, Nevitt MC, Torner J, Lewis CE, Felson DT. Brief report: partial- and full-thickness focal cartilage defects contribute equally to development of new cartilage damage in knee osteoarthritis: the multicenter osteoarthritis study. *Arthritis Rheumatol.* 2017 Mar;69(3):560-4. doi: 10.1002/art.39970.
5. Houck DA, Kraeutler MJ, Belk JW, Frank RM, McCarty EC, Bravman JT. Do focal chondral defects of the knee increase the risk for progression to osteoarthritis? A review of the literature. *Orthop J Sports Med.* 2018 Oct 18;6(10):2325967118801931. doi: 10.1177/2325967118801931.
6. Noyes FR, Bassett RW, Grood ES, Butler DL. Arthroscopy in acute traumatic hemarthrosis of the knee. Incidence of anterior cruciate tears and other injuries. *J Bone Joint Surg Am.* 1980 Jul;62(5):687-95, 757.
7. Curl WW, Krome J, Gordon ES, Rushing J, Smith BP, Poehling GG. Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy.* 1997 Aug;13(4):456-60. doi: 10.1016/s0749-8063(97)90124-9.
8. Chu CR, Millis MB, Olson SA. Osteoarthritis: From Palliation to Prevention: AOA Critical Issues. *J Bone Joint Surg Am.* 2014 Aug 6;96(15):e130. doi: 10.2106/JBJS.M.01209.
9. Goldring MB, Otero M. Inflammation in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2011 Sep;23(5):471-8. doi: 10.1097/BOR.0b013e328349c2b1.
10. Berenbaum F. Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). *Osteoarthritis Cartilage.* 2013 Jan;21(1):16-21. doi: 10.1016/j.joca.2012.11.012.
11. Quinn TM, Allen RG, Schalet BJ, Perumbuli P, Hunziker EB. Matrix and cell injury due to sub-impact loading of adult bovine articular cartilage explants: effects of strain rate and peak stress. *J Orthop Res.* 2001 Mar;19(2):242-9. doi: 10.1016/S0736-0266(00)00025-5.

12. Bock HC, Michaeli P, Bode C, Schultz W, Kresse H, Herken R, Miosge N. The small proteoglycans decorin and biglycan in human articular cartilage of late-stage osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2001 Oct;9(7):654-63. doi: 10.1053/joca.2001.0420.
13. Tochigi Y, Buckwalter JA, Martin JA, Hillis SL, Zhang P, Vaseenon T, Lehman AD, Brown TD. Distribution and progression of chondrocyte damage in a whole-organ model of human ankle intra-articular fracture. *J Bone Joint Surg Am*. 2011 Mar 16;93(6):533-9. doi: 10.2106/JBJS.I.01777.
14. John T, Stahel PF, Morgan SJ, Schulze-Tanzil G. Impact of the complement cascade on posttraumatic cartilage inflammation and degradation. *Histol Histopathol*. 2007 Jul;22(7):781-90. doi: 10.14670/HH-22.781.
15. Madry H, Kon E, Condello V, Peretti GM, Steinwachs M, Seil R, Berruto M, Engebretsen L, Filardo G, Angele P. Early osteoarthritis of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2016 Jun;24(6):1753-62. doi: 10.1007/s00167-016-4068-3.
16. Funck-Brentano T, Cohen-Solal M. Subchondral bone and osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2015 Jul;27(4):420-6. doi: 10.1097/BOR.0000000000000181.
17. Findlay DM, Atkins GJ. Osteoblast-chondrocyte interactions in osteoarthritis. *Curr Osteoporos Rep*. 2014 Mar;12(1):127-34. doi: 10.1007/s11914-014-0192-5.
18. Suri S, Walsh DA. Osteochondral alterations in osteoarthritis. *Bone*. 2012 Aug;51(2):204-11. doi: 10.1016/j.bone.2011.10.010.
19. Pestka JM, Bode G, Salzmann G, Südkamp NP, Niemeyer P. Clinical outcome of autologous chondrocyte implantation for failed microfracture treatment of full-thickness cartilage defects of the knee joint. *Am J Sports Med*. 2012 Feb;40(2):325-31. doi: 10.1177/0363546511425651.
20. Hoemann CD, Lafantaisie-Favreau CH, Lascau-Coman V, Chen G, Guzmán-Morales J. The cartilage-bone interface. *J Knee Surg*. 2012 May;25(2):85-97. doi: 10.1055/s-0032-1319782.
21. Wei Q, Zhu X, Wang L, Zhang W, Yang X, Wei W. Extracellular matrix in synovium development, homeostasis and arthritis disease. *Int Immunopharmacol*. 2023 Aug;121:110453. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110453.
22. Minten MJM, Blom A, Snijders GF, Kloppenburg M, van den Hoogen FHJ, den Broeder AA, van der Kraan PM, van den Ende CHM. Exploring longitudinal associations of histologically assessed inflammation with symptoms and radiographic damage in knee osteoarthritis: combined results of three prospective cohort studies. *Osteoarthritis Cartilage*. 2019 Jan;27(1):71-9. doi: 10.1016/j.joca.2018.10.014.
23. Song C, Xu X, Wu Y, Ji B, Zhou X, Qin L. Study of the mechanism underlying hsa-miR338-3p downregulation to promote fibrosis of the synovial tissue in osteoarthritis patients. *Mol Biol Rep*. 2019 Feb;46(1):627-37. doi: 10.1007/s11033-018-4518-8.

24. Zhang JY, Xiang XN, Wang Q, Wang XX, Guan AJ, He CQ, Yu X, He HC. The effect of platelet-rich plasma on synovial fibrosis and cartilage degeneration in knee osteoarthritis. *Am J Sports Med.* 2025 May;53(6):1428-39. doi: 10.1177/03635465251324942.
25. Liao Q, Chen J, Liu G. Author Correction: Low intensity pulsed ultrasound alleviates synovial fibrosis in osteoarthritis via the PI3K/AKT pathway. *Sci Rep.* 2025 Apr 28;15(1):14807. doi: 10.1038/s41598-025-98340-1. Erratum for: *Sci Rep.* 2025 Mar 20;15(1):9644. doi: 10.1038/s41598-025-92413-x.
26. Falkenløve Madsen S, Madsen S, Hollaar E, Gantzel T, Andersen MR, Bay-Jansen AC, Thudium CS. Tofacitinib inhibits collagen biomarkers of fibrosis in tgfb β -stimulated fibroblast-like synoviocytes from patients with osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil.* 2023; 31(1):S313.
27. Wei X, Yin K, Li P, Wang H, Ding J, Duan W, Wei L. Type II collagen fragment HELIX-II is a marker for early cartilage lesions but does not predict the progression of cartilage destruction in human knee joint synovial fluid. *Rheumatol Int.* 2013 Jul;33(7):1895-9. doi: 10.1007/s00296-011-2309-9.
28. Zhang L, Xing R, Huang Z, Ding L, Zhang L, Li M, Li X, Wang P, Mao J. Synovial fibrosis involvement in osteoarthritis. *Front Med (Lausanne).* 2021 May 26;8:684389. doi: 10.3389/fmed.2021.684389.
29. Mantripragada VP, Piuze NS, Muschler GF, Erdemir A, Midura RJ. A comprehensive dataset of histopathology images, grades and patient demographics for human Osteoarthritis Cartilage. *Data Brief.* 2021 May 14;37:107129. doi: 10.1016/j.dib.2021.107129.
30. Mankin HJ. The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis (second of two parts). *N Engl J Med.* 1974 Dec 19;291(25):1335-40. doi: 10.1056/NEJM197412192912507.
31. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am.* 1971 Apr;53(3):523-37.
32. Pritzker KP, Gay S, Jimenez SA, Ostergaard K, Pelletier JP, Revell PA, Salter D, van den Berg WB. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006 Jan;14(1):13-29. doi: 10.1016/j.joca.2005.07.014.
33. Petersen KK, Siebuhr AS, Graven-Nielsen T, Simonsen O, Boesen M, Gudbergesen H, Karsdal M, Bay-Jensen AC, Arendt-Nielsen L. Sensitization and serological biomarkers in knee osteoarthritis patients with different degrees of synovitis. *Clin J Pain.* 2016 Oct;32(10):841-8. doi: 10.1097/AJP.0000000000000334.
34. Radojčić MR, Thudium CS, Henriksen K, Tan K, Karlsten R, Dudley A, Chessell I, Karsdal MA, Bay-Jensen AC, Crema MD, Guermazi A. Biomarker of extracellular matrix remodelling C1M and proinflammatory cytokine interleukin 6 are related to synovitis and pain in end-stage knee osteoarthritis patients. *Pain.* 2017 Jul;158(7):1254-63. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000908.

35. Braaten JA, Banovetz MT, DePhillipo NN, Familiari F, Russo R, Kennedy NI, LaPrade RF. Biomarkers for osteoarthritis diseases. *Life (Basel)*. 2022 Nov 7;12(11):1799. doi: 10.3390/life12111799.
36. Larsson S, Englund M, Struglics A, Lohmander LS. Interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in synovial fluid are associated with progression of radiographic knee osteoarthritis in subjects with previous meniscectomy. *Osteoarthritis Cartilage*. 2015 Nov;23(11):1906-14. doi: 10.1016/j.joca.2015.05.035.
37. Røtterud JH, Reinholt FP, Beckstrøm KJ, Risberg MA, Arøen A. Relationship between CTX-II and patient characteristics, patient-reported outcome, muscle strength, and rehabilitation in patients with a focal cartilage lesion of the knee: a prospective exploratory cohort study of 48 patients. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014 Mar 24;15:99. doi: 10.1186/1471-2474-15-99.
38. Collins DH, McElligott TF. Sulphate (35SO₄) uptake by chondrocytes in relation to histological changes in osteoarthritic human articular cartilage. *Ann Rheum Dis*. 1960 Dec;19(4):318-30. doi: 10.1136/ard.19.4.318.
39. Mankin HJ. The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis (first of two parts). *N Engl J Med*. 1974 Dec 12;291(24):1285-92. doi: 10.1056/NEJM197412122912406.
40. Weiss JB, Shuttleworth CA, Brown R, Sedowfia K, Baildam A, Hunter JA. Occurrence of type III collagen in inflamed synovial membranes: a comparison between non rheumatoid, rheumatoid, and normal synovial collagens. *Biochem Biophys Res Commun*. 1975 Aug 4;65(3):907-12. doi: 10.1016/s0006-291x(75)80471-2.
41. Soren A, Klein W, Huth F. The synovial changes in post-traumatic synovitis and osteoarthritis. *Rheumatol Rehabil*. 1978 Feb;17(1):38-45. doi: 10.1093/rheumatology/17.1.38.
42. Arnoldi CC, Reimann I, Bretlau P. The synovial membrane in human coxarthrosis: light and electron microscopic studies. *Clin Orthop Relat Res*. 1980 May;(148):213-20.
43. Brocklehurst R, Bayliss MT, Maroudas A, Coysh HL, Freeman MA, Revell PA, Ali SY. The composition of normal and osteoarthritic articular cartilage from human knee joints. With special reference to unicompartmental replacement and osteotomy of the knee. *J Bone Joint Surg Am*. 1984 Jan;66(1):95-106.
44. Myers SL, Brandt KD, Ehlich JW, Braunstein EM, Shelbourne KD, Heck DA, Kalasinski LA. Synovial inflammation in patients with early osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol*. 1990 Dec;17(12):1662-9.
45. Haraoui B, Pelletier JP, Cloutier JM, Faure MP, Martel-Pelletier J. Synovial membrane histology and immunopathology in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. In vivo effects of antirheumatic drugs. *Arthritis Rheum*. 1991 Feb;34(2):153-63. doi: 10.1002/art.1780340205.
46. Dodge GR, Boesler EW, Jimenez SA. Expression of the basement membrane heparan sulfate proteoglycan (perlecan) in human synovium and in cultured human synovial cells. *Lab Invest*. 1995 Nov;73(5):649-57.

47. Johnson DL, Urban WP Jr, Caborn DN, Vanarthos WJ, Carlson CS. Articular cartilage changes seen with magnetic resonance imaging-detected bone bruises associated with acute anterior cruciate ligament rupture. *Am J Sports Med.* 1998 May-Jun;26(3):409-14. doi: 10.1177/03635465980260031101.
48. Price JS, Till SH, Bickerstaff DR, Bayliss MT, Hollander AP. Degradation of cartilage type II collagen precedes the onset of osteoarthritis following anterior cruciate ligament rupture. *Arthritis Rheum.* 1999 Nov;42(11):2390-8. doi: 10.1002/1529-0131(199911)42:11<2390::AID-ANR18>3.0.CO;2-9.
49. Nehrer S, Spector M, Minas T. Histologic analysis of tissue after failed cartilage repair procedures. *Clin Orthop Relat Res.* 1999 Aug;(365):149-62. doi: 10.1097/00003086-199908000-00020.
50. Arikawa-Hirasawa E, Watanabe H, Takami H, Hassell JR, Yamada Y. Perlecan is essential for cartilage and cephalic development. *Nat Genet.* 1999 Nov;23(3):354-8. doi: 10.1038/15537.
51. Sandell LJ, Aigner T. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthritis Res.* 2001;3(2):107-13. doi: 10.1186/ar148.
52. Krenn V, Morawietz L, Häupl T, Neidel J, Petersen I, König A. Grading of chronic synovitis--a histopathological grading system for molecular and diagnostic pathology. *Pathol Res Pract.* 2002;198(5):317-25. doi: 10.1078/0344-0338-5710261.
53. Oehler S, Neureiter D, Meyer-Scholten C, Aigner T. Subtyping of osteoarthritic synoviopathy. *Clin Exp Rheumatol.* 2002 Sep-Oct;20(5):633-40.
54. Poole AR, Kobayashi M, Yasuda T, Lavery S, Mwale F, Kojima T, Sakai T, Wahl C, El-Maadawy S, Webb G, Tchetina E, Wu W. Type II collagen degradation and its regulation in articular cartilage in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2002 Nov;61 Suppl 2(Suppl 2):ii78-81. doi: 10.1136/ard.61.suppl_2.ii78.
55. Roberts S, McCall IW, Darby AJ, Menage J, Evans H, Harrison PE, Richardson JB. Autologous chondrocyte implantation for cartilage repair: monitoring its success by magnetic resonance imaging and histology. *Arthritis Res Ther.* 2003;5(1):R60-73. doi: 10.1186/ar613.
56. Squires GR, Okouneff S, Ionescu M, Poole AR. The pathobiology of focal lesion development in aging human articular cartilage and molecular matrix changes characteristic of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2003 May;48(5):1261-70. doi: 10.1002/art.10976.
57. Miosge N, Hartmann M, Maelicke C, Herken R. Expression of collagen type I and type II in consecutive stages of human osteoarthritis. *Histochem Cell Biol.* 2004 Sep;122(3):229-36. doi: 10.1007/s00418-004-0697-6.
58. Marlovits S, Hombauer M, Truppe M, Vécsei V, Schlegel W. Changes in the ratio of type-I and type-II collagen expression during monolayer culture of human chondrocytes. *J Bone Joint Surg Br.* 2004 Mar;86(2):286-95. doi: 10.1302/0301-620x.86b2.14918.

59. Goessler UR, Bugert P, Bieback K, Baisch A, Sadick H, Verse T, Klüter H, Hörmann K, Riedel F. Expression of collagen and fiber-associated proteins in human septal cartilage during in vitro dedifferentiation. *Int J Mol Med*. 2004 Dec;14(6):1015-22.
60. Tesche F, Miosge N. Perlecan in late stages of osteoarthritis of the human knee joint. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004 Nov;12(11):852-62. doi: 10.1016/j.joca.2004.07.004.
61. Tchetina EV, Squires G, Poole AR. Increased type II collagen degradation and very early focal cartilage degeneration is associated with upregulation of chondrocyte differentiation related genes in early human articular cartilage lesions. *J Rheumatol*. 2005 May;32(5):876-86.
62. Benito MJ, Veale DJ, FitzGerald O, van den Berg WB, Bresnihan B. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005 Sep;64(9):1263-7. doi: 10.1136/ard.2004.025270.
63. Ding C, Garnero P, Cicuttini F, Scott F, Cooley H, Jones G. Knee cartilage defects: association with early radiographic osteoarthritis, decreased cartilage volume, increased joint surface area and type II collagen breakdown. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005 Mar;13(3):198-205. doi: 10.1016/j.joca.2004.11.007.
64. Ayral X, Pickering EH, Woodworth TG, Mackillop N, Dougados M. Synovitis: a potential predictive factor of structural progression of medial tibiofemoral knee osteoarthritis -- results of a 1 year longitudinal arthroscopic study in 422 patients. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005 May;13(5):361-7. doi: 10.1016/j.joca.2005.01.005.
65. Krenn V, Morawietz L, Burmester GR, Kinne RW, Mueller-Ladner U, Muller B, Haupl T. Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis. *Histopathology*. 2006 Oct;49(4):358-64. doi: 10.1111/j.1365-2559.2006.02508.x.
66. Nelson F, Billingham RC, Pidoux I, Reiner A, Langworthy M, McDermott M, Malogne T, Sitler DF, Kilambi NR, Lenczner E, Poole AR. Early post-traumatic osteoarthritis-like changes in human articular cartilage following rupture of the anterior cruciate ligament. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006 Feb;14(2):114-9. doi: 10.1016/j.joca.2005.08.005.
67. Moriya T, Wada Y, Watanabe A, Sasho T, Nakagawa K, Mainil-Varlet P, Moriya H. Evaluation of reparative cartilage after autologous chondrocyte implantation for osteochondritis dissecans: histology, biochemistry, and MR imaging. *J Orthop Sci*. 2007 May;12(3):265-73. doi: 10.1007/s00776-007-1111-8.
68. Patterson AM, Cartwright A, David G, Fitzgerald O, Bresnihan B, Ashton BA, Middleton J. Differential expression of syndecans and glypicans in chronically inflamed synovium. *Ann Rheum Dis*. 2008 May;67(5):592-601. doi: 10.1136/ard.2006.063875.
69. Walsh DA, Bonnet CS, Turner EL, Wilson D, Situ M, McWilliams DF. Angiogenesis in the synovium and at the osteochondral junction in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007 Jul;15(7):743-51. doi: 10.1016/j.joca.2007.01.020.
70. Chung HJ, Steplewski A, Chung KY, Uitto J, Fertala A. Collagen fibril formation. A new target to limit fibrosis. *J Biol Chem*. 2008 Sep 19;283(38):25879-86. doi: 10.1074/jbc.M804272200.

71. Melrose J, Hayes AJ, Whitelock JM, Little CB. Perlecan, the "jack of all trades" proteoglycan of cartilaginous weight-bearing connective tissues. *Bioessays*. 2008 May;30(5):457-69. doi: 10.1002/bies.20748.
72. LaPrade RF, Bursch LS, Olson EJ, Havlas V, Carlson CS. Histologic and immunohistochemical characteristics of failed articular cartilage resurfacing procedures for osteochondritis of the knee: a case series. *Am J Sports Med*. 2008 Feb;36(2):360-8. doi: 10.1177/0363546507308359.
73. Fosang AJ, Little CB. Drug insight: aggrecanases as therapeutic targets for osteoarthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008 Aug;4(8):420-7. doi: 10.1038/ncprheum0841.
74. Vasara AI, Konttinen YT, Peterson L, Lindahl A, Kiviranta I. Persisting high levels of synovial fluid markers after cartilage repair: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res*. 2009 Jan;467(1):267-72. doi: 10.1007/s11999-008-0434-x.
75. Acebes C, Roman-Blas JA, Delgado-Baeza E, Palacios I, Herrero-Beaumont G. Correlation between arthroscopic and histopathological grading systems of articular cartilage lesions in knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009 Feb;17(2):205-12. doi: 10.1016/j.joca.2008.06.010.
76. Furuzawa-Carballeda J, Muñoz-Chablé OA, Barrios-Payán J, Hernández-Pando R. Effect of polymerized-type I collagen in knee osteoarthritis. I. In vitro study. *Eur J Clin Invest*. 2009 Jul;39(7):591-7. doi: 10.1111/j.1365-2362.2009.02154.x.
77. Madry H, van Dijk CN, Mueller-Gerbl M. The basic science of the subchondral bone. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2010 Apr;18(4):419-33. doi: 10.1007/s00167-010-1054-z.
78. Mainil-Varlet P, Van Damme B, Nesic D, Knutsen G, Kandel R, Roberts S. A new histology scoring system for the assessment of the quality of human cartilage repair: ICRS II. *Am J Sports Med*. 2010 May;38(5):880-90. doi: 10.1177/0363546509359068.
79. Goldring MB, Goldring SR. Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Mar;1192:230-7. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05240.x.
80. Sellam J, Berenbaum F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2010 Nov;6(11):625-35. doi: 10.1038/nrrheum.2010.159.
81. Karsdal MA, Byrjalsen I, Bay-Jensen AC, Henriksen K, Riis BJ, Christiansen C. Biochemical markers identify influences on bone and cartilage degradation in osteoarthritis--the effect of sex, Kellgren-Lawrence (KL) score, body mass index (BMI), oral salmon calcitonin (sCT) treatment and diurnal variation. *BMC Musculoskelet Disord*. 2010 Jun 17;11:125. doi: 10.1186/1471-2474-11-125.
82. Madry H, Grün UW, Knutsen G. Cartilage repair and joint preservation: medical and surgical treatment options. *Dtsch Arztebl Int*. 2011 Oct;108(40):669-77. doi: 10.3238/arztebl.2011.0669.

83. Song W, Yang L, Wang F. [Histomorphometric analysis of articular cartilage and subchondral bone from primary osteoarthritic knees]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2011 Dec;25(12):1434-9.
84. Wei Q, Kong N, Liu X, Tian R, Jiao M, Li Y, Guan H, Wang K, Yang P. Pirfenidone attenuates synovial fibrosis and postpones the progression of osteoarthritis by anti-fibrotic and anti-inflammatory properties in vivo and in vitro. *J Transl Med*. 2021 Apr 19;19(1):157. doi: 10.1186/s12967-021-02823-4.
85. Scanzello CR, Goldring SR. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. *Bone*. 2012 Aug;51(2):249-57. doi: 10.1016/j.bone.2012.02.012.
86. Madry H, Luyten FP, Facchini A. Biological aspects of early osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2012 Mar;20(3):407-22. doi: 10.1007/s00167-011-1705-8.
87. S Sekiya I, Ojima M, Suzuki S, Yamaga M, Horie M, Koga H, Tsuji K, Miyaguchi K, Ogishima S, Tanaka H, Muneta T. Human mesenchymal stem cells in synovial fluid increase in the knee with degenerated cartilage and osteoarthritis. *J Orthop Res*. 2012 Jun;30(6):943-9. doi: 10.1002/jor.22029.
88. Kaneko H, Ishijima M, Futami I, Tomikawa-Ichikawa N, Kosaki K, Sadatsuki R, Yamada Y, Kurosawa H, Kaneko K, Arikawa-Hirasawa E. Synovial perlecan is required for osteophyte formation in knee osteoarthritis. *Matrix Biol*. 2013 Apr 24;32(3-4):178-87. doi: 10.1016/j.matbio.2013.01.004.
89. Felson DT. Osteoarthritis as a disease of mechanics. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013 Jan;21(1):10-5. doi: 10.1016/j.joca.2012.09.012.
90. Kerna I, Kisand K, Suutre S, Murde M, Tamm A, Kumm J, Tamm A. The ADAM12 is upregulated in synovitis and postinflammatory fibrosis of the synovial membrane in patients with early radiographic osteoarthritis. *Joint Bone Spine*. 2014 Jan;81(1):51-6. doi: 10.1016/j.jbspin.2013.03.007.
91. Xia B, Di Chen, Zhang J, Hu S, Jin H, Tong P. Osteoarthritis pathogenesis: a review of molecular mechanisms. *Calcif Tissue Int*. 2014 Dec;95(6):495-505. doi: 10.1007/s00223-014-9917-9.
92. Ene R, Sinescu RD, Ene P, Cîrstoiu MM, Cîrstoiu FC. Synovial inflammation in patients with different stages of knee osteoarthritis. *Rom J Morphol Embryol*. 2015;56(1):169-73.
93. Remst DF, Blaney Davidson EN, van der Kraan PM. Unravelling osteoarthritis-related synovial fibrosis: a step closer to solving joint stiffness. *Rheumatology (Oxford)*. 2015 Nov;54(11):1954-63. doi: 10.1093/rheumatology/kev228.
94. Waldstein W, Perino G, Gilbert SL, Maher SA, Windhager R, Boettner F. OARSI osteoarthritis cartilage histopathology assessment system: A biomechanical evaluation in the human knee. *J Orthop Res*. 2016 Jan;34(1):135-40. doi: 10.1002/jor.23010.
95. Dell'Isola A, Allan R, Smith SL, Marreiros SS, Steultjens M. Identification of clinical phenotypes in knee osteoarthritis: a systematic review of the literature. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016 Oct 12;17(1):425. doi: 10.1186/s12891-016-1286-2.

96. DiBartola AC, Everhart JS, Magnussen RA, Carey JL, Brophy RH, Schmitt LC, Flanigan DC. Correlation between histological outcome and surgical cartilage repair technique in the knee: A meta-analysis. *Knee*. 2016 Jun;23(3):344-9. doi: 10.1016/j.knee.2016.01.017.
97. Méthot S, Changoor A, Tran-Khanh N, Hoemann CD, Stanish WD, Restrepo A, Shive MS, Buschmann MD. Osteochondral biopsy analysis demonstrates that bst-cargel treatment improves structural and cellular characteristics of cartilage repair tissue compared with microfracture. *Cartilage*. 2016 Jan;7(1):16-28. doi: 10.1177/1947603515595837.
98. Aho OM, Finnilä M, Thevenot J, Saarakkala S, Lehenkari P. Subchondral bone histology and grading in osteoarthritis. *PLoS One*. 2017 Mar 20;12(3):e0173726. doi: 10.1371/journal.pone.0173726.
99. Burr DB, Gallant MA. Bone remodelling in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2012 Nov;8(11):665-73. doi: 10.1038/nrrheum.2012.130.
100. Burr DB. Anatomy and physiology of the mineralized tissues: role in the pathogenesis of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004;12 Suppl A:S20-30. doi: 10.1016/j.joca.2003.09.016.
101. Castañeda S, Roman-Blas JA, Largo R, Herrero-Beaumont G. Subchondral bone as a key target for osteoarthritis treatment. *Biochem Pharmacol*. 2012 Feb 1;83(3):315-23. doi: 10.1016/j.bcp.2011.09.018.
102. Li G, Yin J, Gao J, Cheng TS, Pavlos NJ, Zhang C, Zheng MH. Subchondral bone in osteoarthritis: insight into risk factors and microstructural changes. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(6):223. doi: 10.1186/ar4405.
103. Mobasheri A, Bay-Jensen AC, van Spil WE, Larkin J, Levesque MC. Osteoarthritis Year in Review 2016: biomarkers (biochemical markers). *Osteoarthritis Cartilage*. 2017 Feb;25(2):199-208. doi: 10.1016/j.joca.2016.12.016.
104. Atayde SR, Velosa APP, Catanozi S, Del Bianco V, Andrade PC, Rodrigues JECM, Dos Santos Filho A, Antonangelo L, de Mello SBV, Capelozzi VL, Teodoro WR. Collagen V oral administration decreases inflammation and remodeling of synovial membrane in experimental arthritis. *PLoS One*. 2018 Jul 30;13(7):e0201106. doi: 10.1371/journal.pone.0201106.
105. Garcia J, Hulme C, Mennan C, Roberts S, Bastiaansen-Jenniskens YM, van Osch GJVM, Tins B, Gallacher P, Wright K. The synovial fluid from patients with focal cartilage defects contains mesenchymal stem/stromal cells and macrophages with pro- and anti-inflammatory phenotypes. *Osteoarthr Cartil Open*. 2020 Feb 19;2(2):100039. doi: 10.1016/j.ocarto.2020.100039.
106. Li Q, Han B, Wang C, Tong W, Wei Y, Tseng WJ, Han LH, Liu XS, Enomoto-Iwamoto M, Mauck RL, Qin L, Iozzo RV, Birk DE, Han L. Mediation of cartilage matrix degeneration and fibrillation by decorin in post-traumatic osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2020 Aug;72(8):1266-77. doi: 10.1002/art.41254.

107. Han B, Li Q, Wang C, Chandrasekaran P, Zhou Y, Qin L, Liu XS, Enomoto-Iwamoto M, Kong D, Iozzo RV, Birk DE, Han L. Differentiated activities of decorin and biglycan in the progression of post-traumatic osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2021 Aug;29(8):1181-92. doi: 10.1016/j.joca.2021.03.019.
108. Ozler K. Relationship between increased serum & synovial fluid decorin levels & knee osteoarthritis. *Indian J Med Res*. 2021 Apr;153(4):453-458. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_2020_18.
109. Alcaide-Ruggiero L, Molina-Hernández V, Granados MM, Domínguez JM. Main and minor types of collagens in the articular cartilage: the role of collagens in repair tissue evaluation in chondral defects. *Int J Mol Sci*. 2021 Dec 11;22(24):13329. doi: 10.3390/ijms222413329.
110. Garcia J, McCarthy HS, Kuiper JH, Melrose J, Roberts S. Perlecan in the natural and cell therapy repair of human adult articular cartilage: can modifications in this proteoglycan be a novel therapeutic approach? *Biomolecules*. 2021 Jan 13;11(1):92. doi: 10.3390/biom11010092.
111. Acevedo L, Iselin L, Berkelaar MHM, Salzmänn GM, Wolf F, Feliciano S, Vogel N, Pagenstert G, Martin I, Pelttari K, Barbero A, Arnold MP. Comparison of human articular cartilage tissue and chondrocytes isolated from peripheral versus central regions of traumatic lesions. *Cartilage*. 2021 Dec;13(2_suppl):68S-81S. doi: 10.1177/1947603520958154.
112. Tschaikowsky M, Brander S, Barth V, Thomann R, Rolaufts B, Balzer BN, Hugel T. The articular cartilage surface is impaired by a loss of thick collagen fibers and formation of type I collagen in early osteoarthritis. *Acta Biomater*. 2022 Jul 1;146:274-83. doi: 10.1016/j.actbio.2022.04.036.
113. Moretti L, Bizzoca D, Geronimo A, Moretti FL, Monaco E, Solarino G, Moretti B. Towards precision medicine for osteoarthritis: focus on the synovial fluid proteome. *Int J Mol Sci*. 2022 Aug 27;23(17):9731. doi: 10.3390/ijms23179731.
114. Ali N, Turkiewicz A, Hughes V, Folkesson E, Tjörnstand J, Neuman P, Önnarfjord P, Englund M. Proteomics profiling of human synovial fluid suggests increased protein interplay in early-osteoarthritis (OA) that is lost in late-stage OA. *Mol Cell Proteomics*. 2022 Mar;21(3):100200. doi: 10.1016/j.mcpro.2022.100200.
115. Kasaeian A, Roemer FW, Ghotbi E, Ibad HA, He J, Wan M, Zbijewski WB, Guermazi A, Demehri S. Subchondral bone in knee osteoarthritis: bystander or treatment target? *Skeletal Radiol*. 2023 Nov;52(11):2069-83. doi: 10.1007/s00256-023-04422-4.
116. Sandhu A, Rockel JS, Lively S, Kapoor M. Emerging molecular biomarkers in osteoarthritis pathology. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2023 Jun 19;15:1759720X231177116. doi: 10.1177/1759720X231177116.
117. Sampath SJP, Venkatesan V, Ghosh S, Kotikalapudi N. Obesity, metabolic syndrome, and osteoarthritis-an updated review. *Curr Obes Rep*. 2023 Sep;12(3):308-331. doi: 10.1007/s13679-023-00520-5.

118. Taheri S, Yoshida T, Böker KO, Foerster RH, Jochim L, Flux AL, Grosskopf B, Hawellek T, Lehmann W, Schilling AF. Changes of the subchondral bone microchannel network in early osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2023 Jan;31(1):49-59. doi: 10.1016/j.joca.2022.10.002.
119. Alcaide-Ruggiero L, Cugat R, Domínguez JM. Proteoglycans in articular cartilage and their contribution to chondral injury and repair mechanisms. *Int J Mol Sci*. 2023 Jun 28;24(13):10824. doi: 10.3390/ijms241310824.
120. Yan W, Xu X, Xu Q, Sun Z, Jiang Q, Shi D. Platelet-rich plasma combined with injectable hyaluronic acid hydrogel for porcine cartilage regeneration: a 6-month follow-up. *Regen Biomater*. 2020 Feb;7(1):77-90. doi: 10.1093/rb/rbz039.
121. Mori H, Kondo E, Kawaguchi Y, Kitamura N, Nagai N, Iida H, Yasuda K. Development of a salmon-derived crosslinked atelocollagen sponge disc containing osteogenic protein-1 for articular cartilage regeneration: in vivo evaluations with rabbits. *BMC Musculoskelet Disord*. 2013 May 30;14:174. doi: 10.1186/1471-2474-14-174.
122. Levinson C, Cavalli E, Sindi DM, Kessel B, Zenobi-Wong M, Preiss S, Salzmann G, Neidenbach P. Chondrocytes from device-minced articular cartilage show potent outgrowth into fibrin and collagen hydrogels. *Orthop J Sports Med*. 2019 Sep 10;7(9):2325967119867618. doi: 10.1177/2325967119867618.
123. Sanna Passino E, Rocca S, Caggiu S, Columbano N, Castagna A, Fontani V, Rinaldi S. REAC regenerative treatment efficacy in experimental chondral lesions: a pilot study on ovine animal model. *Clin Interv Aging*. 2017 Sep 14;12:1471-9. doi: 10.2147/CIA.S140976.
124. Pfeifer CG, Fisher MB, Saxena V, Kim M, Henning EA, Steinberg DA, Dodge GR, Mauck RL. Age-dependent subchondral bone remodeling and cartilage repair in a minipig defect model. *Tissue Eng Part C Methods*. 2017 Nov;23(11):745-53. doi: 10.1089/ten.TEC.2017.0109.
125. Shi D, Xu X, Ye Y, Song K, Cheng Y, Di J, Hu Q, Li J, Ju H, Jiang Q, Gu Z. Photo-cross-linked scaffold with kartogenin-encapsulated nanoparticles for cartilage regeneration. *ACS Nano*. 2016 Jan 26;10(1):1292-9. doi: 10.1021/acsnano.5b06663.
126. Hoffman JK, Geraghty S, Protzman NM. Articular cartilage repair using marrow stimulation augmented with a viable chondral allograft: 9-month postoperative histological evaluation. *Case Rep Orthop*. 2015;2015:617365. doi: 10.1155/2015/617365.
127. Christensen BB, Foldager CB, Olesen ML, Vingtoft L, Rölfling JH, Ringgaard S, Lind M. Experimental articular cartilage repair in the Göttingen minipig: the influence of multiple defects per knee. *J Exp Orthop*. 2015 Dec;2(1):13. doi: 10.1186/s40634-015-0031-3.
128. Milano G, Sanna Passino E, Deriu L, Careddu G, Manunta L, Manunta A, Saccomanno MF, Fabbriani C. The effect of platelet rich plasma combined with microfractures on the treatment of chondral defects: an experimental study in a sheep model. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010 Jul;18(7):971-80. doi: 10.1016/j.joca.2010.03.013.

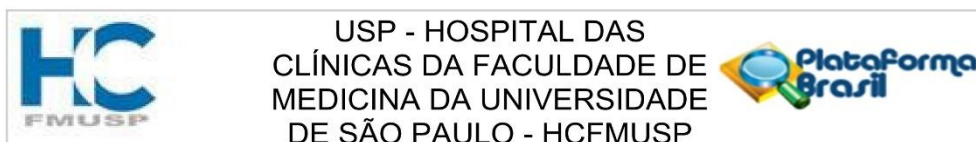
129. Davidson EJ, Figgie C, Nguyen J, Pedoia V, Majumdar S, Potter HG, Koff MF. Chondral injury associated with ACL injury: assessing progressive chondral degeneration with morphologic and quantitative MRI techniques. *Sports Health*. 2024 Sep-Oct;16(5):722-34. doi: 10.1177/19417381231205276.
130. Oláh T, Cucchiaroni M, Madry H. Temporal progression of subchondral bone alterations in OA models involving induction of compromised meniscus integrity in mice and rats: A scoping review. *Osteoarthritis Cartilage*. 2024 Oct;32(10):1220-34. doi: 10.1016/j.joca.2024.06.002.
131. Takahashi I, Takeda K, Toyama T, Matsuzaki T, Kuroki H, Hosono M. Histological and immunohistochemical analyses of articular cartilage during onset and progression of pre- and early-stage osteoarthritis in a rodent model. *Sci Rep*. 2024 May 8;14(1):10568. doi: 10.1038/s41598-024-61502-8.
132. Trengove A, Caballero Aguilar LM, Di Bella C, Onofrillo C, Duchi S, O'Connor AJ. A dynamically loaded *ex vivo* model to study neocartilage and integration in human cartilage repair. *Front Cell Dev Biol*. 2024 Sep 30;12:1449015. doi: 10.3389/fcell.2024.1449015.
133. Gottreich JR, Katz JN, Jones MH. Preoperative synovial tissue and synovial fluid biomarkers as predictors for outcomes after knee arthroscopy and acl reconstruction: a narrative review. *Orthop J Sports Med*. 2024 Mar 15;12(3):23259671231193370. doi: 10.1177/23259671231193370.
134. Ge M, Sun W, Xu T, Yang R, Zhang K, Li J, Zhao Z, Gong M, Fu W. Multi-omics analysis of synovial tissue and fluid reveals differentially expressed proteins and metabolites in osteoarthritis. *J Transl Med*. 2025 Mar 6;23(1):285. doi: 10.1186/s12967-025-06310-y.
135. Lawrence A, Boesel J, Martinez Aguilar R, Gryczewski D, Moni ASB. A review and meta-analysis of biomarkers in early-stage osteoarthritis. *Orthop Surg*. 2025 Jul;17(7):1913-1923. doi: 10.1111/os.70064.
136. Koushesh S, Shahtaheri SM, McWilliams DF, Walsh DA, Sheppard MN, Westaby J, Haybatollahi SM, Howe FA, Sofat N. The osteoarthritis bone score (OABS): a new histological scoring system for the characterisation of bone marrow lesions in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2022 May;30(5):746-55. doi: 10.1016/j.joca.2022.01.008.
137. Hosseininia S, Weis MA, Rai J, Kim L, Funk S, Dahlberg LE, Eyre DR. Evidence for enhanced collagen type III deposition focally in the territorial matrix of osteoarthritic hip articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016 Jun;24(6):1029-35. doi: 10.1016/j.joca.2016.01.001.
138. Koelling S, Kruegel J, Klinger M, Schultz W, Miosge N. Collagen IX in weight-bearing areas of human articular cartilage in late stages of osteoarthritis. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2008 Dec;128(12):1453-9. doi: 10.1007/s00402-008-0611-0.
139. Hollander AP, Heathfield TF, Webber C, Iwata Y, Bourne R, Rorabeck C, Poole AR. Increased damage to type II collagen in osteoarthritic articular cartilage detected by a new immunoassay. *J Clin Invest*. 1994 Apr;93(4):1722-32. doi: 10.1172/JCI117156.

140. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1957 Dec;16(4):494-502. doi: 10.1136/ard.16.4.494.
141. Outerbridge RE. The etiology of chondromalacia patellae. *J Bone Joint Surg Br*. 1961 Nov;43-B:752-7. doi: 10.1302/0301-620X.43B4.752.
142. Slattery C, Kweon CY. Classifications in brief: outerbridge classification of chondral lesions. *Clin Orthop Relat Res*. 2018 Oct;476(10):2101-4. doi: 10.1007/s11999-0000000000000255.
143. Shaltot A, Michell PA, Betts JA, Darby AJ, Gishen P. Jamshidi needle biopsy of bone lesions. *Clin Radiol*. 1982 Mar;33(2):193-6. doi: 10.1016/s0009-9260(82)80061-5.
144. Schnettler R, Horas U, Meyer C. Autologe osteochondrale transplantate [Autologous osteochondral transplants]. *Orthopade*. 2008 Aug;37(8):734-42. German. doi: 10.1007/s00132-008-1263-z.
145. Wechalekar MD, Smith MD. Arthroscopic guided synovial biopsy in rheumatology: current perspectives. *Int J Rheum Dis*. 2017 Feb;20(2):141-4. doi: 10.1111/1756-185X.13020.
146. Nüesch A, Ferri MP, Le Maitre CL. Application and validation of semiautomatic quantification of immunohistochemically stained sections for low cellular tissue such as intervertebral disc using QuPath. *JOR Spine*. 2025 Mar 6;8(1):e70054. doi: 10.1002/jsp2.70054.
147. Shimizu C, Coutts RD, Healey RM, Kubo T, Hirasawa Y, Amiel D. Method of histomorphometric assessment of glycosaminoglycans in articular cartilage. *J Orthop Res*. 1997 Sep;15(5):670-4. doi: 10.1002/jor.1100150507.
148. Odell ID, Cook D. Immunofluorescence techniques. *J Invest Dermatol*. 2013 Jan;133(1):e4. doi: 10.1038/jid.2012.455.
149. Pinto-Tasende JA, Fernandez-Moreno M, Rego Perez I, Fernandez-Lopez JC, Oreiro-Villar N, De Toro Santos FJ, Blanco-García FJ. Higher synovial immunohistochemistry reactivity of IL-17A, Dkk1, and TGF- β 1 in patients with early psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis could predict the use of biologics. *Biomedicines*. 2024 Apr 8;12(4):815. doi: 10.3390/biomedicines12040815.
150. Mastbergen SC, Lafeber FP. Changes in subchondral bone early in the development of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2011 Sep;63(9):2561-3. doi: 10.1002/art.30306.
151. Li Q, Miramini S, Smith DW, Gardiner BS, Zhang L. Osteochondral junction leakage and cartilage joint lubrication. *Comput Methods Programs Biomed*. 2023 Mar;230:107353. doi: 10.1016/j.cmpb.2023.107353.
152. Keeney M, Pandit A. The osteochondral junction and its repair via bi-phasic tissue engineering scaffolds. *Tissue Eng Part B Rev*. 2009 Mar;15(1):55-73. doi: 10.1089/ten.teb.2008.0388.
153. Geyer G, Linss W. Toluidine blue staining of cartilage proteoglycan subunits. *Acta Histochem*. 1978;61(1):127-34. doi: 10.1016/S0065-1281(78)80056-7.

154. Huang K, Wu LD. Aggrecanase and aggrecan degradation in osteoarthritis: a review. *J Int Med Res*. 2008 Nov-Dec;36(6):1149-60. doi: 10.1177/147323000803600601.
155. Larsson S, Lalande A, Stefan Lohmander L, Soret P, Bernard K, Pueyo M, Struglics A. Serum ARGS-aggrecan in a phase 2 clinical trial targeting osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2024 Nov;32(11):1463-70. doi: 10.1016/j.joca.2024.06.003.
156. Wakitani S, Nawata M, Kawaguchi A, Okabe T, Takaoka K, Tsuchiya T, Nakaoka R, Masuda H, Miyazaki K. Serum keratan sulfate is a promising marker of early articular cartilage breakdown. *Rheumatology (Oxford)*. 2007 Nov;46(11):1652-6. doi: 10.1093/rheumatology/kem220.
157. Lorenz H, Wenz W, Ivancic M, Steck E, Richter W. Early and stable upregulation of collagen type II, collagen type I and YKL40 expression levels in cartilage during early experimental osteoarthritis occurs independent of joint location and histological grading. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(1):R156-65. doi: 10.1186/ar1471.
158. Little CB, Ghosh P, Bellenger CR. Topographic variation in biglycan and decorin synthesis by articular cartilage in the early stages of osteoarthritis: an experimental study in sheep. *J Orthop Res*. 1996 May;14(3):433-44. doi: 10.1002/jor.1100140314.
159. Young DA, Barter MJ, Soul J. Osteoarthritis year in review: genetics, genomics, epigenetics. *Osteoarthritis Cartilage*. 2022 Feb;30(2):216-25. doi: 10.1016/j.joca.2021.11.004.
160. Aubourg G, Rice SJ, Bruce-Wootton P, Loughlin J. Genetics of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2022 May;30(5):636-49. doi: 10.1016/j.joca.2021.03.002.
161. Henao-Murillo L, Pastrama MI, Ito K, van Donkelaar CC. The relationship between proteoglycan loss, overloading-induced collagen damage, and cyclic loading in articular cartilage. *Cartilage*. 2021 Dec;13(2_suppl):1501S-1512S. doi: 10.1177/1947603519885005.

ANEXOS

ANEXO A – Parecer consubstanciado da Comissão de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação histológica, histomorfométrica e de citocinas em lesões condrais focais e osteoartrite: um estudo comparativo

Pesquisador: Marco Kawamura Demange

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 89862518.0.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Parcial

Detalhe:

Justificativa: Anexo relatório relatório parcial, solicitação de troca de pesquisadores por motivo de

Data do Envio: 02/10/2019

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.731.477

Apresentação da Notificação:

Solicitação de prorrogação de prazo.

Objetivo da Notificação:

Solicitar prorrogação de 12 meses para conclusão do estudo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há alteração.

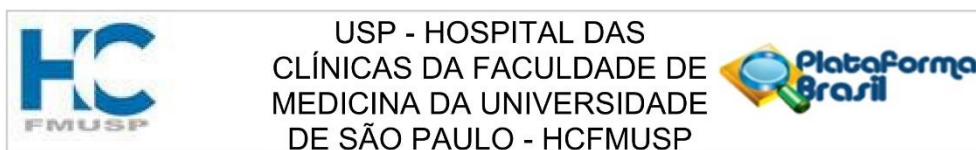
Comentários e Considerações sobre a Notificação:

O pesquisador solicita a prorrogação de prazo e troca de pesquisador executante e responsável.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não se aplica.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.731.477

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A solicitação de alteração de pesquisadores e prorrogação de prazo podem ser atendidas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Envio de Relatório Parcial	SGP_5179_IOT_1322_prorrogacao.pdf	02/10/2019 14:25:53	Marco Kawamura Demange	Postado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 28 de Novembro de 2019

Assinado por:
Joel Faintuch
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE
SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

DADOS DA PESQUISA

Título da pesquisa - Avaliação histológica, histomorfométrica e de citocinas em lesões condrais focais e osteoartrite: um estudo comparativo

Pesquisador principal - Dr. MARCO KAWAMURA DEMANGE, Professor Dr. Grupo Joelho, IOT HC-FMUSP

Convidamos o(a) Sr.(a) para participar desta pesquisa, "**Avaliação histológica, histomorfométrica e de citocinas em lesões condrais focais e osteoartrite: um estudo comparativo**"

O objetivo deste estudo é a comparação em laboratório duas doenças da cartilagem do joelho: a lesão de cartilagem focal e a osteoartrite.

O(a) Sr.(a) está sendo convidado porque passará por uma cirurgia para tratamento de um problema no joelho causado por uma dessas duas doenças. Para essa pesquisa, uma pequena amostra do líquido do seu joelho (líquido sinovial), do tecido que reveste o joelho por dentro e produz esse líquido (sinóvia), e dois fragmentos da sua lesão de cartilagem serão retirados e analisados em laboratório com microscópios e aparelhos especiais. Todo o procedimento adicional aumentará em aproximadamente 5 minutos o tempo total de sua cirurgia.

A pesquisa não vai interferir na cirurgia de cartilagem a que o(a) Sr.(a) será submetido, uma vez que os fragmentos retirados são muito pequenos, e o tempo adicional não é significativo. Não haverá nenhum desconforto ou risco de complicação além daquele normalmente esperado para esse tipo de cirurgia.

Com essa pesquisa, esperamos entender melhor as características das lesões de cartilagem do joelho, para no futuro oferecer tratamentos cada vez melhores aos pacientes com esse problema.

Seu acompanhamento clínico em nosso hospital não será afetado pela participação ou não nessa pesquisa, havendo a garantia de liberdade para escolher participar ou não, inclusive com direito de retirar seu consentimento para o estudo em qualquer fase, sem prejuízo ao seu tratamento ou qualquer tipo de penalização.

Seu sigilo e privacidade estão garantidos, e sua identificação não será

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE
SÃO PAULO-HCFMUSP**

divulgada.

Este termo será assinado em duas vias, e uma lhe será entregue.

Não haverá despesas para você em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, está garantido o ressarcimento pelo orçamento dessa pesquisa.

O material coletado será armazenado de acordo com as regras vigentes na duração do estudo, sendo posteriormente descartado. Esse material não será usado em nenhum outro estudo.

Sempre que tiver qualquer dúvida em relação ao estudo, poderá a qualquer momento perguntar para nossa equipe que esclarecerá as questões da melhor forma que puder.

O principal investigador é o Dr. Marco Kawamura Demange, que pode ser encontrado no endereço Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 333, Telefone (11) 2661-6912

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5o andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE
SÃO PAULO-HCFMUSP**

Fui suficientemente informado a respeito do estudo "**Avaliação histológica, histomorfométrica e de citocinas em lesões condrais focais e osteoartrite: um estudo comparativo**".

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável (Dr. Marco Kawamura Demange) ou pessoa (s) por ele delegada (s) (.....) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo uma via rubricada pelo pesquisador.

Assinatura legaldo participante /representante

Data / /

Assinatura do responsável pelo estudo Data / /

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE
SÃO PAULO-HCFMUSP**

**4 DADOS DE IDENTIFICAÇÃO (OU ETIQUETA INSTITUCIONAL DE IDENTIFICAÇÃO) DO
PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME: :.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE No : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO No APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE No : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO No APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

ANEXO C – Tempo de seguimento(em meses) dos casos com média de cada grupo

Caso	Controle	LCF	OA
Caso 1	25	34	>120
Caso 2	66	8	>120
Caso 3	17	23	>120
Caso 4	20	26	>120
Caso 5		4	>120
Caso 6		13	>120
Caso 7		42	>120
Caso 8		1	>120
Caso 9		72	>120
Caso 10			>120
Caso 11			>120
Média (meses)	32	24,8	>120

Fonte: Dados do estudo.

ANEXO D - Escore de acometimento do osso subcondral: grupo LCF (N = 9)

Paciente	Escore Centro	Escore Periferia
1	2	1
2	1	1
3	2	2
4	1	2
5	2	1
6	1	1
7	2	1
8	1	1
9	1	2
Mediana	1	1
IIQ 25%	1	1
IIQ 75%	2	2

ANEXO E - Escore acometimento do osso subcondral: grupo OA (N = 11)

Paciente	Escore Centro	Escore Periferia
1	2	1
2	2	3
3	1	3
4	3	2
5	1	3
6	3	1
7	2	1
8	3	1
9	—	2
10	1	1
11	1	2
Mediana	2	2
IIQ 25%	1	1
IIQ 75%	3	3

ANEXO F - Média dos Escores de Krenn nos grupos Controle, LCF E OA

Grupos	Controle	LCF	OA
Caso 1	3	3	5
Caso 2	3	0	3
Caso 3	5	5	5
Caso 4	3	0	3
Caso 5		6	5
Caso 6		4	5
Caso 7		4	6
Caso 8		3	4
Caso 9		7	5
Caso 10			5
Caso 11			7
Média	3,5	3,6	4,82

Fonte: Dados do estudo.