



## Artigo Original

# Estudo histológico da inserção femoral do ligamento cruzado posterior<sup>☆</sup>



Lauro Augusto Veloso Costa<sup>a,\*</sup>, Marcos Barbieri Mestriner<sup>a</sup>, Thiago Alvim do Amaral<sup>a</sup>, Bárbara dos Santos Barbosa<sup>b</sup>, Camila Cohen Kaleka<sup>a</sup> e Ricardo de Paula Leite Cury<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, Faculdade de Ciências Médicas, São Paulo, SP, Brasil

<sup>b</sup> Departamento de Anatomia Patológica, Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, Faculdade de Ciências Médicas, São Paulo, SP, Brasil

### INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 12 de novembro de 2016

Received in revised form 2 de março de 2017

Aceito em 6 de março de 2017

On-line em 7 de junho de 2017

Palavras-chave:

Ligamento cruzado posterior/anatomia & histologia  
Joelho  
Cadáver

### R E S U M O

**Objetivos:** Descrever a anatomia microscópica da inserção femoral do ligamento cruzado posterior a fim de identificar e estabelecer diferenças entre as inserções direta e indireta desse ligamento.

**Métodos:** Foram usados dez joelhos procedentes de amputações transfemorais. A inserção femoral do ligamento cruzado posterior foi observada microscopicamente. A coloração hematoxilina e eosina foi feita para observar a morfologia da inserção do ligamento cruzado posterior. A coloração azul de Alcian foi feita para determinar a localização da matriz de cartilagem e melhor ajudar na observação e diferenciação entre a inserção direta e indireta. **Resultados:** Observou-se que a inserção direta do ligamento cruzado posterior é uma estrutura mais complexa do que a inserção indireta, por apresentar quatro camadas histológicas distintas (ligamento, fibrocartilagem não calcificada, fibrocartilagem calcificada e osso). Os condrócitos foram observados nas camadas não calcificadas e calcificadas de fibrocartilagem. Foi observado que a inserção indireta, composta de duas camadas nas quais o ligamento está inserido diretamente ao osso por fibras de colágeno, está localizada na região marginal do ligamento cruzado posterior entre a inserção direta e a borda da cartilagem anterior do côndilo.

**Conclusão:** Através de análise histológica, o presente estudo demonstrou que a inserção indireta do ligamento cruzado posterior situa-se adjacente à borda da cartilagem anterior do côndilo femoral e apresenta um padrão histológico no qual as fibras de colágeno se inserem diretamente no osso. A inserção direta encontra-se posterior à inserção indireta e apresenta quatro camadas histológicas distintas.

© 2017 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

<sup>☆</sup> Trabalho desenvolvido na Irmandade da Santa Casa de São Paulo, Departamento de Ortopedia e Traumatologia, São Paulo, SP, Brasil.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [lauroavc@hotmail.com](mailto:lauroavc@hotmail.com) (L.A. Costa).

<https://doi.org/10.1016/j.rbo.2017.03.012>

0102-3616/© 2017 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Histological study of the posterior cruciate ligament femoral insertion

### A B S T R A C T

#### Keywords:

Posterior cruciate  
ligament/anatomy & histology  
Knee  
Cadaver

**Objectives:** To describe the microscopic anatomy of the posterior cruciate ligament femoral insertion in order to identify and establish differences between the direct and indirect insertions of this ligament.

**Methods:** Ten cadaveric knees were used for this study. The posterior cruciate ligament femoral insertion was observed microscopically. Hematoxylin and eosin staining was performed to observe the morphology of the posterior cruciate ligament insertion. Alcian blue staining was performed to determine the location of the cartilage matrix and better assist in the observation and differentiation between direct and indirect insertions.

**Results:** The direct insertion was observed to be a more complex structure than the indirect insertion because it showed four different histological layers (ligament, uncalcified fibrocartilage, calcified fibrocartilage, and bone). Chondrocytes were observed in the uncalcified and calcified fibrocartilage layers. It was observed that the indirect insertion was composed of two layers in which the ligament was anchored directly to the bone by collagen fibers. Indirect insertion was located in the marginal region of the posterior cruciate ligament between the direct insertion and the anterior articular cartilage.

**Conclusion:** Through histological analysis, it was demonstrated that the indirect insertion was adjacent to the anterior articular cartilage and presents a histological pattern where the collagen fibers insert directly into the bone (two-layer insertion). The direct insertion is posterior to the indirect insertion and has four histologically distinct layers.

© 2017 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introdução

O ligamento cruzado posterior (LCP) é considerado o estabilizador primário da translação posterior da tíbia e um estabilizador secundário do varo, valgo e da rotação externa do joelho. O LCP é composto por dois feixes principais, o anterolateral (AL) e o posteromedial (PM).<sup>1</sup> Os dois feixes aumentam seu comprimento com a flexão do joelho, sugerindo uma maior funcionalidade na flexão do que na extensão.<sup>2</sup> Estudos clínicos e biomecânicos nos quais as duas bandas são reconstruídas têm apresentado resultados superiores aos da reconstrução com banda única.<sup>3,4</sup> Essa técnica conta com a identificação precisa dos pontos de inserção femoral do LCP, objetivando o funcionamento correto dos enxertos em resistir à translação posterior da tíbia em relação ao fêmur em diferentes graus de flexão do joelho.<sup>5</sup> A posição dos túneis, especialmente no fêmur, é atualmente considerada um dos fatores mais importantes no restabelecimento da cinemática dessa articulação e, conseqüentemente, nos resultados clínicos da reconstrução anatômica do LCP.<sup>6,7</sup>

A inserção do ligamento ao osso, do ponto de vista microscópico, apresenta duas estruturas distintas: inserção direta e indireta.<sup>8-11</sup> Esses dois tipos de inserção apresentam diferenças histológicas entre si. Enquanto a inserção direta apresenta quatro camadas histológicas (ligamento, fibrocartilagem não calcificada, fibrocartilagem calcificada e osso), a inserção indireta apresenta apenas duas (o ligamento está inserido diretamente no osso, sem uma transição clara entre eles). Estudos recentes que envolveram análise microscópica do ligamento cruzado anterior (LCA) têm

discutido as diferenças existentes entre essas inserções, do ponto de vista histológico e funcional.<sup>8-10</sup> Com relação ao LCP, as informações sobre a correta posição da sua inserção femoral são conflitantes na literatura, com muitos autores descrevendo diferentes métodos de localizar o sítio anômico de inserção femoral, porém poucos demonstram a sua anatomia microscópica.<sup>5,12-14</sup>

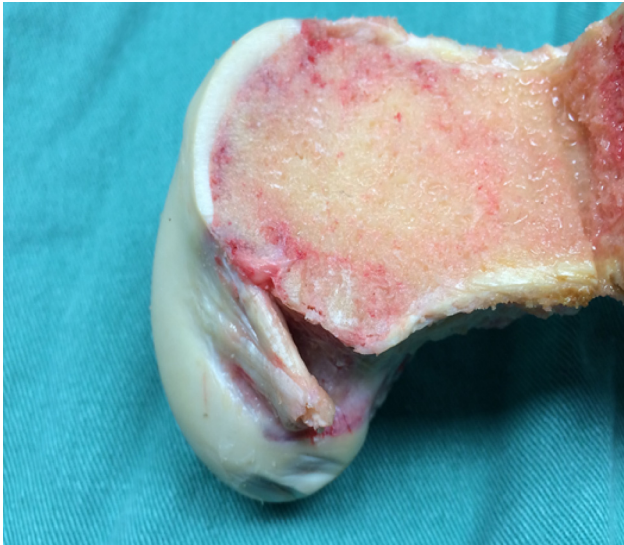
Dados anatômicos mais precisos podem ajudar cirurgiões a escolher a melhor localização do túnel femoral durante a reconstrução desse ligamento, já que a compreensão mais clara da anatomia macroscópica e microscópica do sítio de inserção femoral pode minimizar os erros de posicionamento dos túneis femorais.

O objetivo do presente estudo foi descrever a anatomia microscópica da inserção femoral do LCP, a fim de identificar e estabelecer diferenças entre as inserções direta e indireta desse ligamento.

## Métodos

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética da instituição (CAAE: 32641114.0.0000.5479).

Foram usados 10 joelhos (cinco do sexo masculino e cinco do feminino) procedentes de amputações transfemorais em virtude de problemas vasculares. Os critérios de exclusão incluíram qualquer sinal de cirurgia prévia, dano ligamentar e sinais de osteoartrose moderada/grave, o que dificultaria a análise dos dados. A análise da lesão ligamentar e da osteoartrose foi realizada de maneira subjetiva por dois cirurgiões, no momento da dissecação, que chegaram a um consenso quanto

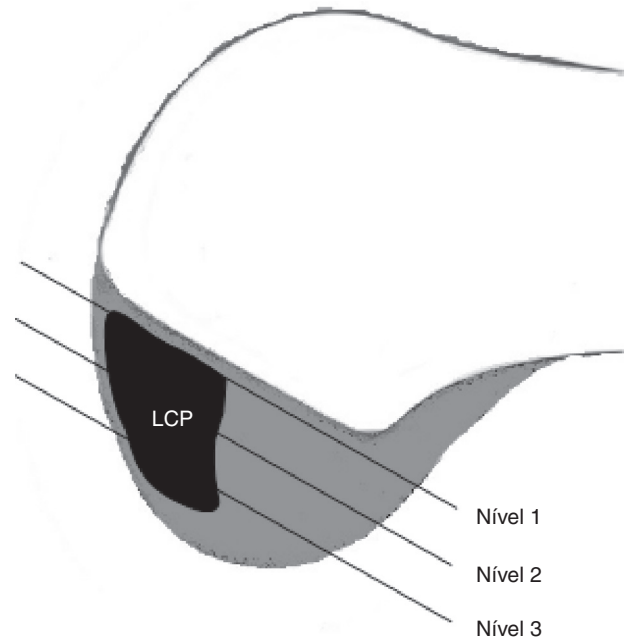


**Figura 1** – Aparência macroscópica do côndilo femoral medial com a área de inserção do LCP.

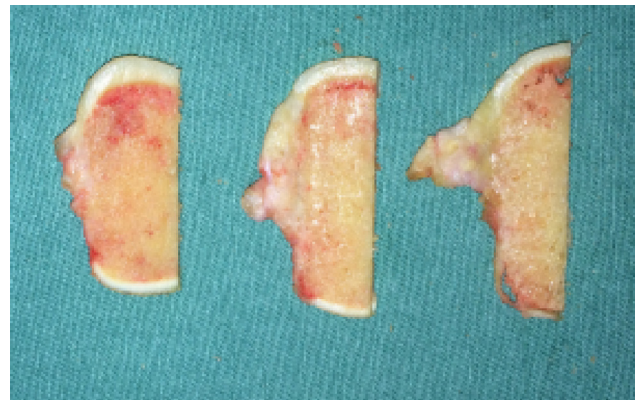
à inclusão ou exclusão do joelho no estudo. Previamente à dissecação, os joelhos foram armazenados em formaldeído a 10% e mantidos refrigerados a 5,3°C. A média de idade das amostras foi de 61,2 anos (42 a 77). As dissecações foram realizadas no necrotério da instituição. Para a dissecação dos planos anatômicos, uma incisão longitudinal foi feita na linha mediana do joelho e estendeu-se 5 cm acima do polo superior da patela até a tuberosidade anterior da tíbia. As estruturas de partes moles ao redor do joelho foram removidas para expor a articulação. Em seguida, com uma serra oscilatória, o côndilo femoral lateral foi osteotomizado em L invertido com visualização completa da inserção do LCP no côndilo femoral medial (fig. 1). A secção do corpo do LCP foi feita, enquanto o coto proximal do ligamento foi mantido inserido no côndilo femoral para permitir a visualização da inserção ligamentar no osso e uma análise da morfologia e da posição femoral do ligamento na área do côndilo femoral medial. Após isso, o côndilo medial foi cortado com auxílio de serra circular em uma orientação axial oblíqua, paralela ao teto do intercôndilo, em três níveis (fig. 2), de modo que no fim das dissecações existiam dez amostras para o nível 1; dez para o nível 2 e dez para o nível 3; totalizando 30 amostras (fig. 3).

### Estudo microscópico

Após a observação macroscópica, cada amostra foi fixada em solução salina de formol (10% tampão-neutro) por dois dias. A descalcificação foi feita em EDTA (ácido etileno-diamino-tetracético) durante dois a quatro dias, dependendo da qualidade do osso. A desidratação foi feita numa série de álcoois graduados. Após isso, os blocos (amostras) foram embebidos em cera de parafina e cortados em fatias de 5- $\mu$ m de espessura, no mesmo sentido em que haviam sido cortados durante a dissecação. As secções adjacentes foram então coradas com hematoxilina e eosina (H&E) e azul de Alcian em pH 2.5. A coloração H&E foi feita para observar a morfologia



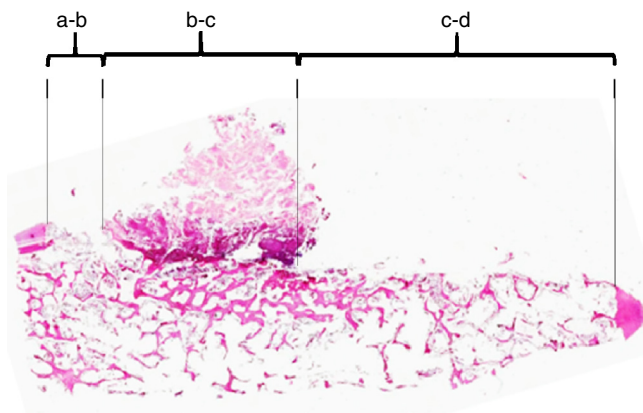
**Figura 2** – Níveis de corte do côndilo femoral. As peças foram cortadas no plano axial oblíquo, paralelo ao teto do intercôndilo.



**Figura 3** – Aparência macroscópica dos três níveis em que o côndilo femoral medial foi cortado.

da inserção do LCP. A coloração azul de Alcian foi feita para determinar a localização da matriz de cartilagem e melhor ajudar na observação e diferenciação entre a inserção direta e indireta.

Para quantificar a área de inserção, secções da mesma foram cuidadosamente observadas com um microscópio de luz convencional (Leica Galen III), sem a lente polarizada a 10x, 20x e 40x de ampliação. Cada mensuração foi feita em três níveis diferentes, já que havia três amostras para cada joelho. As seguintes medições foram feitas: distância da borda da cartilagem anterior para a borda de cartilagem posterior do fêmur (a-d); distância da borda de cartilagem anterior para a margem anterior do LCP (a-b); distância da margem posterior do LCP para a borda de cartilagem posterior do côndilo medial (c-d); distância da margem anterior à margem posterior do LCP (b-c) (fig. 2B). As medidas foram calculadas através do sistema



**Figura 4 – Mensurações microscópicas: (a-b) distância da cartilagem anterior para a borda anterior do LCP; (b-c) distância da margem anterior à margem posterior do LCP; (c-d) distância da margem posterior do LCP para a cartilagem posterior; (a-d) soma de todas as medidas que representa a distância de uma borda a outra de cartilagem.**

óptico composto por três sistemas de lentes (ocular, objetivas e condensador) e uma fonte de luz, ao qual foi acoplada uma régua micro e milimétrica. Com a ampliação da imagem, foi possível delimitar as áreas de interesse e obter as medidas necessárias com maior precisão (fig. 4). Os valores resultantes das mensurações foram apresentados como médias e desvios-padrão para cada nível (nível 1, 2 e 3) e para o total das peças analisadas.

## Resultados

### Observação macroscópica

Em todas as peças a inserção femoral do LCP tinha um formato de um quarto de elipse, variando apenas no tamanho. A margem anterior do LCP situava-se adjacente à cartilagem do côndilo femoral medial, sendo impossível perceber um espaço livre entre a margem do ligamento e a borda de cartilagem. A área de inserção ligamentar situava-se quase que na sua totalidade na metade anterior do côndilo femoral.

### Estudo microscópico

Na coloração H&E foram observadas quatro camadas na região central da inserção do LCP (inserção direta) composta por ligamento propriamente dito, fibrocartilagem não calcificada, fibrocartilagem calcificada e osso (fig. 5A). A inserção direta do LCP foi observada como uma estrutura mais complexa do que a inserção indireta, por conter essas quatro camadas histológicas distintas. Estruturas similares não foram encontradas em torno da inserção do LCP. Os condrócitos foram observados nas camadas não calcificadas e calcificadas de fibrocartilagem. Foi observado que a inserção indireta, composta de duas camadas, em que o ligamento está inserido diretamente ao osso por fibras de colágeno, está localizada na região marginal do LCP entre a inserção direta e a borda da cartilagem anterior do côndilo (fig. 5B). Na coloração azul de Alcian, a área da

**Tabela 1 – Medidas microscópicas da inserção femoral do LCP**

Nível	a-d	a-b	b-c	c-d
1	30,2 ± 3,9	3,9 ± 2,0	13,2 ± 1,9	13,1 ± 2,6
2	26,2 ± 4,2	3,1 ± 1,9	13,4 ± 2,5	10,2 ± 2,2
3	23,8 ± 2,6	3,4 ± 0,6	12,5 ± 2,1	7,9 ± 3,6
Total	26,9 ± 4,4	3,4 ± 1,6	13,1 ± 2,1	10,4 ± 3,5

Dados expressos como média ± desvio-padrão (em milímetros).

a-d, distância da borda de cartilagem anterior para a borda de cartilagem posterior do côndilo femoral; a-b, distância da borda de cartilagem anterior para a margem anterior do LCP; b-c, distância da margem anterior à margem posterior do LCP; c-d, distância da margem posterior do LCP para a borda de cartilagem posterior do côndilo femoral.

inserção indireta não foi corada e as camadas de cartilagem não calcificadas e calcificadas estavam posicionadas alguns milímetros de distância da margem da cartilagem anterior (fig. 6). As medições microscópicas da inserção femoral do LCP estão demonstradas na tabela 1.

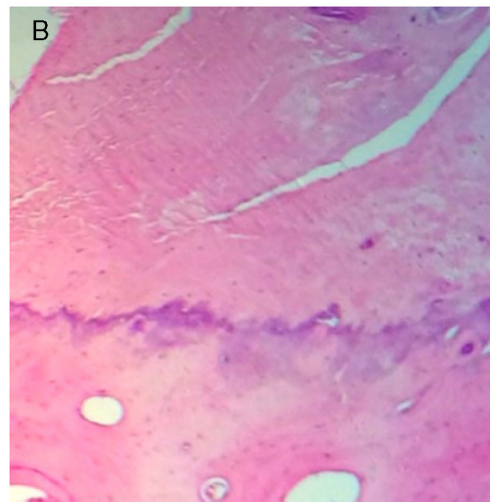
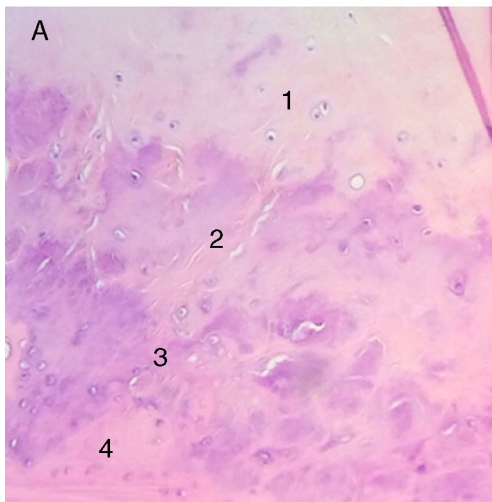
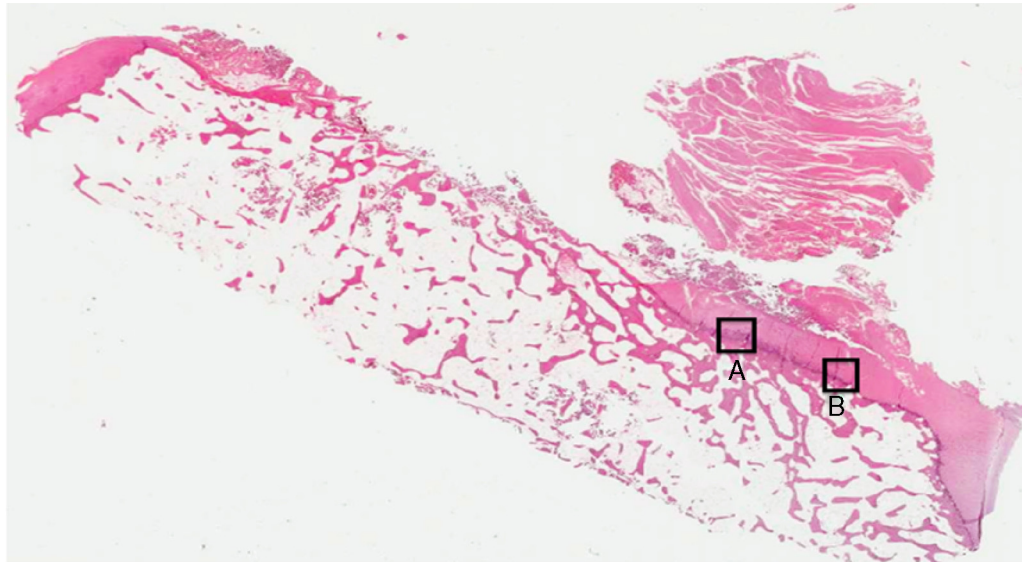
## Discussão

O achado mais importante do presente estudo foi ter demonstrado, por análise histológica, que a inserção femoral do LCP é composta por duas estruturas diferentes: inserção direta e indireta. A inserção indireta encontrou-se marginal à inserção direta e situa-se adjacente à borda da cartilagem anterior do côndilo femoral medial.

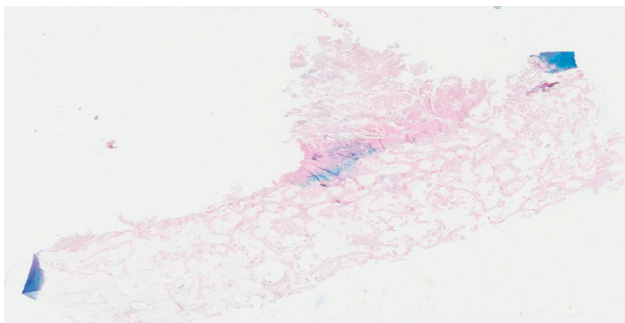
Subit et al.<sup>11</sup> descreveram a microestrutura da inserção femoral e tibial do LCP ao osso sem, no entanto, estabelecer diferenças entre inserção direta e indireta. Eles mostraram, por microscopia ótica, que a estrutura da inserção ligamentar ao osso contém a zona de transição composta por fibrocartilagem não calcificada e fibrocartilagem calcificada e concluíram que a inserção óssea do LCP tem uma estrutura histológica similar aos outros ligamentos e tendões já descritos na literatura. No presente estudo foi possível observar e estabelecer diferenças histológicas entre a inserção direta e indireta da inserção femoral do LCP, semelhante ao que foi descrito por Sasaki et al.<sup>8</sup> na análise histológica da inserção femoral do LCA. Observamos que a inserção direta é composta de quatro camadas histológicas (ligamento, fibrocartilagem não calcificada, fibrocartilagem calcificada e osso), enquanto que, na inserção indireta, o ligamento está inserido diretamente no osso por fibras de colágeno e não apresenta a distinção entre as quatro zonas descritas para a inserção direta. A distinção entre as inserções direta e indireta foi impossível de ser estabelecida na observação macroscópica.

A diferenciação entre os dois tipos de inserção ligamentar no osso (direta e indireta) tem sido explorada por vários outros estudos recentes.<sup>8-10,15</sup> Foi demonstrado, por estudos que envolveram a análise do LCA, que a inserção direta, localizada predominantemente na porção mais central do ligamento, desempenhou um papel importante na ligação mecânica entre o ligamento e o osso, em contraste com a inserção indireta.<sup>15,16</sup> A fibrocartilagem não calcificada, presente apenas entre as camadas estruturais da inserção direta,





**Figura 5** – Histologia da inserção femoral do LCP observada com coloração H&E. (A) A inserção direta composta por quatro camadas: (1) ligamento, (2) fibrocartilagem não calcificada, (3) fibrocartilagem calcificada e (4) osso (aumento de 10X). (B) Inserção indireta composta por duas camadas: ligamento e osso.



**Figura 6** – Histologia da inserção femoral LCP observada pela coloração Azul de Alcian. A fibrocartilagem calcificada é corada, destaca dessa forma a inserção direta do ligamento.

desempenha um papel importante no controle da tensão que ocorre sobre o ligamento, compatível com a que ocorre quando os músculos se contraem.<sup>17</sup> Considerando que a inserção indireta desempenha um papel como ancoragem dinâmica de tecido mole ao osso e permite certos movimentos de cisalhamento, a força de ancoragem é mais fraca do que na inserção direta.<sup>15-18</sup> Moulton et al.<sup>9</sup> demonstraram que as fibras da inserção direta tinham maior profundidade no osso e mais interdigitações quando comparadas com as fibras da inserção indireta. Esses achados sugerem que o ideal seria confeccionar o túnel femoral na inserção direta do LCP.

Além de fazer uma análise histológica da inserção femoral do LCP, mensurações de sua inserção foram obtidas, com o objetivo de estudar a relação da inserção ligamentar com a borda de cartilagem anterior do côndilo femoral. Mensurações semelhantes foram feitas por Sasaki et al.<sup>8</sup> e Iwahashi et al.,<sup>10</sup> porém envolveram a análise da inserção femoral do LCA. Acreditamos que a análise dessas mensurações pode ajudar o

cirurgião na correta localização do túnel femoral (ou túneis, a depender da técnica usada) na reconstrução cirúrgica do LCP, uma vez que o ideal seria posicionar o túnel na porção central do ligamento, onde se encontram as fibras da inserção direta.

O presente estudo tem como limitações o baixo número de amostras usado para as análises, o que pode não ter demonstrado o espectro completo de variação anatômica do ligamento. Fizemos ainda uma avaliação do LCP como um todo, ao invés da análise das bandas separadamente, o que é uma limitação para o uso desses dados na reconstrução do LCP com dupla banda. Diferenças individuais tais como gênero e tamanho do joelho estavam presentes, o que pode influenciar no posicionamento e no tamanho da inserção ligamentar. Além disso, a média de idade de 61,2 anos também pode ter influenciado na mensuração, em função da degeneração já existente no ligamento. Dessa forma, as medidas encontradas neste estudo visam auxiliar na localização da inserção femoral do ligamento, porém cabe ao cirurgião levar em consideração diferenças individuais no momento da reconstrução cirúrgica do LCP.

## Conclusão

Através de análise histológica, demonstramos que a inserção femoral do LCP é composta por duas estruturas: inserção direta e indireta. A inserção indireta situa-se adjacente à borda de cartilagem anterior do côndilo femoral e apresenta um padrão histológico no qual as fibras de colágeno se inserem diretamente no osso. Enquanto isso, a inserção direta encontra-se posterior à inserção indireta e apresenta um padrão histológico em que foi possível observar quatro camadas: ligamento, fibrocartilagem não calcificada, fibrocartilagem calcificada e osso.

## Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## REFERÊNCIAS

- Girgis FG, Marshall JL, Al Monajem AR. The cruciate ligaments of the knee joint. *Clin Orthop Relat Res.* 1975;106(106):216-31.
- Wang JH, Kato Y, Ingham SJM, Maeyama A, Linde-Rosen M, Smolinski P, et al. Effects of knee flexion angle and loading conditions on the end-to-end distance of the posterior cruciate ligament. *Am J Sports Med.* 2014;42(12):2972-8.
- Race A, Amis AA. PCL reconstruction In vitro biomechanical comparison of "isometric" versus single and double-bundled "anatomic" grafts. *J Bone Joint Surg Br.* 1998;80(1):173-9.
- Yoon KH, Bae DK, Song SJ, Cho HJ, Lee JH. A prospective randomized study comparing arthroscopic single-bundle and double-bundle posterior cruciate ligament reconstructions preserving remnant fibers. *Am J Sports Med.* 2011;39(3):474-80.
- Mejia EA, Noyes FR, Grood ES. Posterior cruciate ligament femoral insertion site characteristics Importance for reconstructive procedures. *Am J Sports Med.* 2002;30(5):643-51.
- Grood ES, Hefzy MS, Lindenfield TN. Factors affecting the region of most isometric femoral attachments. *Am J Sports Med.* 1989;17(2):208-16.
- Covey DC, Sapega AA, Sherman GM. Testing for isometry during reconstruction of the posterior cruciate ligament. *Am J Sports Med.* 1996;24(6):740-6.
- Sasaki N, Ishibashi Y, Tsuda E, Yamamoto Y, Maeda S, Mizukami H, et al. The femoral insertion of the anterior cruciate ligament: discrepancy between macroscopic and histological observations. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg.* 2012;28(8):1135-46.
- Moulton SG, Steineman BD, Haut TL, Fontboté CA, Cram TR, Laprade RF. Direct versus indirect ACL femoral attachment fibres and their implications on ACL graft placement. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2017;25(1):165-71.
- Iwahashi T, Shino K, Nakata K, Otsubo H, Suzuki T, Amano H, et al. Direct anterior cruciate ligament insertion to the femur assessed by histology and 3-dimensional volume-rendered computed tomography. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg.* 2010;26(9):S13-20.
- Subit D, Masson C, Brunet C, Chabrand P. Microstructure of the ligament-to-bone attachment complex in the human knee joint. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2008;1(4):360-7.
- Cury RPL, Severino NR, Camargo OPA, Aihara T, Batista Neto LV, Goarayeb DN. Estudo anatômico da inserção femoral do ligamento cruzado posterior. *Rev Bras Ortop.* 2011;46(5):591-5.
- Cho DK, Rosa SP, Prestes GB, da Cunha LAM, De Moura MFA, Stieven Filho E. Estudo anatômico do ligamento cruzado posterior com o joelho em 90° de flexão. *Rev Bras Ortop.* 2014;49(5):494-8.
- Lopes OV, Ferretti M, Shen W, Ekdahl M, Smolinski P, Fu FH. Topography of the femoral attachment of the posterior cruciate ligament. *J Bone Jt Surg.* 2008;90(2):249-55.
- Kawaguchi Y, Kondo E, Takeda R, Akita K, Yasuda K, Amis AA. The role of fibers in the femoral attachment of the anterior cruciate ligament in resisting tibial displacement. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg.* 2015;31(3):435-44.
- Pathare NP, Nicholas SJ, Colbrunn R, McHugh MP. Kinematic analysis of the indirect femoral insertion of the anterior cruciate ligament: implications for anatomic femoral tunnel placement. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg.* 2014;30(11):1430-8.
- Evans EJ, Benjamin M, Pemberton DJ. Fibrocartilage in the attachment zones of the quadriceps tendon and patellar ligament of man. *J Anat.* 1990;171:155-62.
- Weiler A, Hoffmann RFG, Bail HJ, Rehm O, Südkamp NP. Tendon healing in a bone tunnel Part II. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg.* 2002;18(2):124-35.