



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

MESTRADO 2009/2010

**INFLUÊNCIA DO ESPAÇADOR INTERESPINHOSO NA
PREVENÇÃO DA DEGENERAÇÃO DISCAL EM MODELO
ANIMAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná como requisito à obtenção do título de Mestre.

ALUNO: Antônio Bernardo de Queiroz Krieger

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luiz Roberto Gomes Vialle

**CURITIBA
2010**

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, eterno.

AGRADECIMENTOS

A todos que colaboraram, incentivaram e participaram deste trabalho com suas mãos, palavras ou ideias.

A minha esposa, **Michele**, por todo seu amor, estímulo, companhia, e abnegação. Por acalantar meus momentos de angústia e cansaço com seu sorriso e carinho.

A **Maria Perpétua**, minha mãe e professora, por me ensinar a concretizar meus pensamentos. Pelo seu amor e dedicação incomensuráveis.

Ao **Prof. Dr. Luiz Roberto Vialle**, meu orientador na vida acadêmica, científica e profissional. Por fomentar o estado da arte na cirurgia da coluna e praticar uma medicina baseada em princípios éticos.

Ao colega **Emiliano Vialle**, pelo exemplo, comprometimento e incentivo à pesquisa científica.

Aos amigos **André Arruda, Ricardo Riet, Eduardo Seyboth, Mateus Rosa e Misael Barbosa**, fiéis escudeiros nas longas jornadas cirúrgicas no Laboratório de Técnica Operatória da PUC-PR.

Ao coordenador da pós-graduação da PUC-PR, **Waldomiro Gremski**, por gentilmente valorizar e apoiar meu projeto de pesquisa.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Degeneração discal é a falência estrutural progressiva do disco intervertebral, que pode levar a manifestações clínicas como dor lombar crônica. Dentre as várias modalidades terapêuticas desenvolvidas para patologias da coluna vertebral, o espaçador interespinhoso é um dispositivo que tem sido indicado indiscriminadamente para o tratamento da degeneração discal, porém ainda não há estudos experimentais que justifiquem seu emprego nesta doença. **OBJETIVO:** Avaliar a influência do espaçador interespinhoso na prevenção ou retardo da degeneração discal experimental em coelhos. **MÉTODOS:** Vinte coelhos *New Zealand* machos foram divididos em dois grupos: G1 – submetidos a indução de degeneração discal (8 coelhos); e G2 – submetidos a indução de degeneração discal e inserção de espaçador interespinhoso (12 coelhos), sendo todos avaliados radiograficamente. Cinco pesquisadores analisaram os critérios radiográficos: redução do espaço discal em radiografia de frente; redução do espaço discal em incidência radiografia lateral; presença de esclerose da placa vertebral; formação de osteófitos; e presença de degeneração discal. **RESULTADOS:** Tanto o G1 quanto o G2 apresentaram critérios radiológicos de degeneração nos níveis submetidos ao experimento, com concordância interobservadores variando de $Kappa = 0,255$ a $1,0$ para os critérios analisados. A comparação individual entre o nível com espaçador interespinhoso e os demais níveis experimentais apresentou valores de $p = 0,18$ a $0,56$, não havendo diferença significativa no desenvolvimento de degeneração entre discos puncionados. **CONCLUSÃO:** O espaçador interespinhoso não apresentou influência estatisticamente significativa na prevenção ou retardo da degeneração discal em coelhos.

PALAVRAS-CHAVE: Degeneração do Disco Intervertebral, Modelos Animais, Coelhos, Implantes Experimentais.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Disc degeneration is the progressive structural failure of the intervertebral disc, which can lead to clinical manifestations such as chronic low back pain. Among the various therapeutic modalities developed for diseases of the spine, the interspinous spacer is a device that has been indiscriminately indicated for the treatment of disc degeneration, even though there are no experimental studies that justify its use in this disease. **OBJECTIVE:** To evaluate the influence of the interspinous spacer in the prevention or delay of experimental disc degeneration in rabbits. **METHODS:** Twenty male New Zealand rabbits were divided into two groups: G1 - submitted to disc degeneration induction (8 rabbits) and G2 - submitted to disc degeneration induction and insertion of interspinous spacer (12 rabbits), all being evaluated radiographically. After the experiment, the rabbits were evaluated periodically by radiographs for eight weeks. Five investigators analyzed the radiographic criteria: reduction of disc space in frontal radiography; reduction of disc space in lateral radiography; presence of endplate sclerosis; osteophyte formation; and presence of disc degeneration. **RESULTS:** Both G1 and G2 showed radiological criteria of degeneration in the levels submitted to the experiment, with interobserver agreement ranging from $Kappa = 0.255$ to 1.0 for the analyzed criteria. The individual comparison between the level with interspinous spacer and the other experimental levels showed values of $p = 0.18$ to 0.56, meaning no difference in the development of degeneration among punctured discs. **CONCLUSION:** The interspinous spacer showed no statistically significant influence in preventing or delaying the disc degeneration in rabbits.

KEY-WORDS: Intervertebral Disc Degeneration, Animal Models, Rabbits, Experimental Implants.

LISTA DE ABREVIATURAS

AF – Ânulo Fibroso

BrdU – 5-bromodeoxyuridine

DD – Degeneração Discal

DDD – Doença Degenerativa Discal

DIV – Disco Intervertebral

EIE – Espaçador Interespinhoso

EV – Endovenosa

HE – Hematoxicilina-Eosina

IM – Intramuscular

L – Lateral

NP – Núcleo Pulposo

PC – Placa Cartilaginosa vertebral

PMMA – Poli-Metil-Metacrilato

PO – Pós-Operatório

PUC-PR – Pontifícia Universidade Católica do Paraná

RM – Ressonância Magnética

RX – Radiografia

VD – Ventro-Dorsal

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVO	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 Degeneração Discal	16
3.2 Degeneração Discal Experimental	20
3.3 Espaçador Interespinhoso	27
4 MÉTODOS	30
4.1 Amostra	30
4.2 Delineamento	30
4.3 Procedimentos	31
4.3.1 Ambiente de Experimentação	31
4.3.2 Anestesia	31
4.3.3 Indução da Degeneração Discal	31
4.3.4 Inserção do Espaçador Interespinhoso	34
4.4 Meios de Aferição	37
4.4.1 Exames Radiológicos	37
4.5 Meios de Análise dos Resultados	37
4.5.1 Análise Radiológica	37
4.5.2 Análise Estatística	38
5 RESULTADOS	39
6 DISCUSSÃO	46
7 CONCLUSÃO	50
8 REFERÊNCIAS	51
9 APÊNDICE	59

1 INTRODUÇÃO

Os discos intervertebrais (DIV) são estruturas fibrocartilagosas situadas entre os corpos vertebrais, com a função de suportar cargas compressivas e permitir movimento (flexão, extensão, rotação) da coluna vertebral¹.

Macroscopicamente, o DIV é constituído por três porções anatómicas distintas: o núcleo pulposo (NP) representando uma massa gelatinosa homogênea central; o ânulo fibroso (AF) consistindo em camadas organizadas de colágeno que circundam o NP; e as placas cartilagosas vertebrais (PC), que separam o núcleo e o ânulo do corpo vertebral adjacente² (Figura 1).

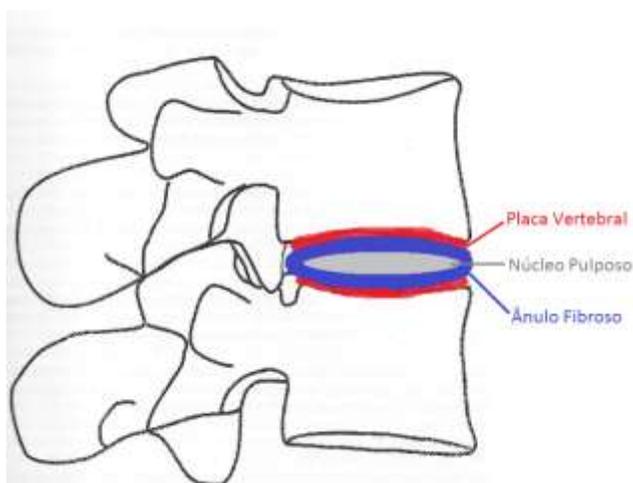


Figura 1 – Anatomia do disco intervertebral.

O núcleo pulposo é formado por uma rede fina de proteoglicanos, fibras de elastina e gel. O proteoglicano mais abundante no núcleo é o agregan, que possui alta concentração de glicosaminoglicanos (sulfato de queratan e de condroitina). Essas moléculas têm propriedades osmóticas especiais (possuem alta afinidade para absorver água) e proporcionam resistência a cargas compressivas do DIV^{3,4}.

O ânulo fibroso, por sua vez, apresenta uma camada interna que é uma ampla zona de transição entre a estrutura bem organizada de colágeno das fibras do AF

externo e a região hidratada central do núcleo pulposo. A camada externa é formada por um grupo de lâminas concêntricas de colágeno, sendo mais espessa na região anterior do disco, adelgaçando-se progressivamente em direção a sua região posterior⁴.

Por fim, a placa vertebral é uma capa delgada de cartilagem hialina com espessura média de 0,6mm, sendo composta por moléculas hidratadas de proteoglicanos e por uma rede de fibras de colágeno. A cartilagem hialina é o maior componente da PC e atua como uma membrana semipermeável que facilita a difusão de solutos desde a vértebra até o DIV, além de prevenir que o núcleo pulposo migre em direção ao centro do corpo vertebral. A região central da placa cartilaginosa é a rota predominante de transporte para o processo metabólico do disco⁴.

O sistema formado pelo disco intervertebral é bastante complexo. Fibras de colágeno partem do AF em direção aos tecidos adjacentes, unindo esta estrutura fibrocartilaginosa à margem dos corpos vertebrais, aos ligamentos longitudinais anterior e posterior, e à cartilagem hialina das placas vertebrais superior e inferior. Qualquer alteração na integridade ou na relação dessas estruturas pode resultar em comprometimento da função do disco intervertebral².

Durante toda a vida a coluna se submete a pressão e cargas, chamados ciclos. Calcula-se que os discos intervertebrais estejam sujeitos a 100 milhões de ciclos de flexão e extensão ao longo da vida de um indivíduo de 65 anos. Esses ciclos, associados à idade do indivíduo, suas atividades, seu estado nutricional, seu estado de saúde e doença, e a alguns fatores ainda desconhecidos do macro e microambiente, estabelecem desgastes no DIV, que se acredita terem potencial de gerar dor no ser humano⁴.

A degeneração discal (DD) é definida como uma resposta aberrante, mediada por células, a uma falência estrutural progressiva do DIV³, que compreende a perda das características estruturais, biológicas e bioquímicas do disco intervertebral (DIV)⁵, caracterizando-se por uma importante perda da rede de proteoglicanos e

água do núcleo discal. Essas alterações acarretam um aumento de carga nas estruturas próximas à coluna, alterando suas relações mecânicas⁶.

A causa base da degeneração discal é o enfraquecimento tecidual que ocorre primariamente por herança genética, envelhecimento e comprometimento nutricional³. Outros fatores, tais como atividades físicas intensas, obesidade ou sobrecarga crônica da coluna em trabalhadores braçais, levam a um aumento de estresse sobre o ânulo fibroso, contribuindo para a progressão da DD⁷.

A degeneração discal pode ser identificada através de diversos recursos. Histologicamente observa-se aumento da proliferação celular e, paradoxalmente, intensificação da morte de células – tanto pelo processo de apoptose quanto pela necrose tecidual⁸. Boos *et al* descreveram em detalhe as alterações histológicas progressivas da DD. Essas mudanças incluem aumento no número fissuras, ruptura de fibras, presença de material granular e neovascularização de fora para dentro do núcleo. Proliferação celular, formação de aglomerados celulares, acentuação da morte celular, perda da demarcação entre o ânulo e o núcleo também ocorrem. Além disso, observam-se desorganizações estruturais da placa terminal, que incluem fissuras, afilamento da cartilagem, alteração da densidade celular, microfraturas do osso subcondral adjacente e esclerose óssea².

Alterações moleculares também são encontradas, como aumento na produção de citocinas, enzimas destruidoras de matriz (metaloproteinases), interleucina-1, interleucina-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), superóxido, óxido nítrico e prostaglandina E₂⁹, além de um decréscimo dos seus componentes intracelulares (proteoglicanos), levando à perda gradual de fluido intradiscal¹⁰.

Radiograficamente são observadas alterações características do processo de degeneração discal, como diminuição da altura discal, esclerose da placa vertebral e formação de osteófitos¹¹⁻¹³. Nos exames de Ressonância Magnética (RM), a DD é evidenciada por achados como diminuição da intensidade do sinal do DIV, redução de altura e presença de fissuras¹⁴.

Em termos de epidemiologia e consequências sociais, um dos sintomas mais importantes da degeneração discal corresponde à dor lombar crônica. A associação de DD e lombalgia denomina-se doença degenerativa discal (DDD). Esta é altamente prevalente, sendo a segunda maior causa de consulta médica nos Estados Unidos¹⁵⁻¹⁹. Apenas resfriado comum excede dor lombar em termos de frequência de atendimento em centros médicos primários²⁰. Em todo o mundo, estima-se que cerca de 60 a 80% das pessoas apresentarão episódio de dor lombar durante a vida, o que resulta em até 13 milhões de consultas médicas ao ano, apenas nos Estados Unidos²¹. A degeneração discal tem maior incidência na faixa etária que vai da terceira à quinta década de vida - parcela que representa a maior parte da população economicamente ativa, gerando graves consequências socioeconômicas. Segundo dados americanos, 20 bilhões de dólares ao ano são gastos em custos diretos para tratamento da dor lombar crônica; somados às despesas indiretas, esse valor ultrapassa os 100 bilhões de dólares²⁰.

A fim de amenizar este quadro alarmante, diversas estratégias terapêuticas têm sido abordadas, incluindo desde modalidades não invasivas - como medicação antiinflamatória e fisioterapia - até procedimentos cirúrgicos, como fusão, terapia intradiscal eletrotérmica e substituição total do disco²².

Uma das opções de tratamento que vem sendo indicada para o tratamento da DDD é o implante de espaçadores interespinhosos (EIE)²³. Esses dispositivos foram desenvolvidos para o tratamento de estenose vertebral lombar, com o intuito de limitar a extensão do segmento afetado, evitando ou diminuindo os sintomas decorrentes do estreitamento do espaço do canal vertebral²⁴⁻²⁸.

Estudos biomecânicos demonstraram que os EIE atuam diminuindo a carga axial nas facetas articulares e sobre a porção posterior do ânulo fibroso, agindo com um amortecedor de impacto, dissipando as cargas mecânicas dorsalmente^{23,29,30}. Utilizando-se da suposição de que a redução da pressão sobre o DIV através do implante de um EIE poderia prevenir, em teoria, o processo degenerativo no nível estabilizado, a indústria de materiais e implantes médicos tem estimulado o uso de

espaçadores interespinhosos em pacientes com quadro de lombalgia decorrente de DDD, como técnica cirúrgica promissora, minimamente invasiva, e com a perspectiva de bons resultados pós-operatórios.

Entretanto, não há estudos publicados na literatura médica que avaliem a influência do espaçador interespinhoso na DDD *in vivo* e dêem respaldo científico para seu uso nesta patologia. Desta forma, a idéia de se realizar um estudo experimental em animais com este objetivo é imperativa, a fim de se determinar se o implante de um EIE pode prevenir o processo degenerativo do disco intervertebral.

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é avaliar a influência do espaçador interespinhoso na prevenção ou retardo da degeneração discal experimental em coelhos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Degeneração Discal

A questão da degeneração do disco intervertebral tem sido amplamente abordada desde a biologia molecular até o desenvolvimento de implantes cirúrgicos, e a literatura científica é particularmente diversa a seu respeito. Talvez, por essa razão, ainda não existe consenso sobre o que “degeneração discal” realmente é, ou como deveria se distinguir de processos fisiológicos como crescimento, envelhecimento e remodelação³.

Adams *et al* definiram degeneração discal como uma resposta aberrante, mediada por células, a uma falência estrutural progressiva do DIV³. Já Battié *et al* afirmaram que, conceitualmente, degeneração discal é o produto da degradação ao longo da vida relacionada a mudanças nas cargas fisiológicas e a resposta a lesões ocasionais do DIV³¹.

A etiologia da degeneração discal é o enfraquecimento tecidual que ocorre primariamente por herança genética, envelhecimento, comprometimento da nutrição e sobrecarga do disco intervertebral³.

Estudos em gêmeos têm comprovado a predisposição genética para o desenvolvimento da degeneração discal^{31,32}. Certas alterações genéticas já foram identificadas em pacientes com DD, particularmente em genes responsáveis pela transcrição de moléculas relacionadas às propriedades da matriz extracelular. Além disso, observa-se uma evidente correlação entre genética e fatores ambientais. Por exemplo, pacientes que possuem o alelo Trp3 apresentam risco elevado de desenvolvimento de degeneração discal se forem obesos³³.

Outro fator que leva a alterações do DIV é o envelhecimento. O disco sofre mudanças extensas com a idade, sendo mais evidentes entre a terceira e quinta década de vida³⁴. Essas alterações refletem uma falha na síntese da matriz extracelular, levando a uma diminuição progressiva da concentração de células no

DIV, especialmente no ânulo fibroso³². As células do disco intervertebral são sujeitas a senescência e perdem sua capacidade de proliferação. Essas células envelhecidas podem induzir a degeneração através de anabolismo diminuído ou de catabolismo aumentado³⁵.

Em 1945, Coventry *et al* publicaram o mais completo estudo realizado até hoje sobre as alterações do DIV relacionadas à idade. Os autores demonstraram que a substituição do ânulo fibroso por fibras de colágeno já iniciam na terceira década de vida. Aumento da morte celular e invasão de vasos sanguíneos aparecem na quarta década, e substituição progressiva do NP por tecido fibroso a partir da quinta década de vida. Finalmente, a placa vertebral apresenta áreas de necrose focal e é substituída por fibrocartilagem durante a sexta e sétima década³⁶⁻³⁸.

Entretanto, algumas características do disco degenerado não são relacionadas à idade. Estudos em cadáveres demonstraram que a diminuição do espaço intervertebral e fissuras radiais no AF não ocorrem pelo envelhecimento³⁹. Isso indica que outras causas estariam envolvidas na degeneração discal.

O comprometimento da nutrição do disco intervertebral é um importante fator no desenvolvimento da DD. O DIV é a maior estrutura avascular do corpo humano. Células no centro de um disco lombar adulto estão aproximadamente 8 mm distantes do suprimento sanguíneo³². O núcleo e as células da porção interna do AF dependem da nutrição de vasos sanguíneos do corpo vertebral que penetram a placa subcondral através de uma rede capilar. Os nutrientes são difundidos por esses capilares através da matriz densa até alcançarem todas as células⁴⁰. Uma das razões que levam à degeneração discal é a redução no transporte de nutrientes para o disco.

A rede capilar da junção entre a placa subcondral e o osso vertebral começa a diminuir após a primeira década de vida, podendo progredir com calcificação da cartilagem, que oclui os vasos sanguíneos, atuando como uma barreira para o transporte de nutrientes e oxigênio^{2,32}.

Por fim, existe evidência científica de que fatores mecânicos estão relacionados com a etiologia da degeneração discal^{7,31,32,41,42}. O DIV tem como função sustentar cargas compressivas, que servem de estímulo para a síntese da matriz. Entretanto, sobrecargas contínuas do disco podem levar a mudanças deletérias ao reduzir a expressão genética de todas as proteínas anabólicas, causando diminuição significativa na formação do agregan³².

O componente mais vulnerável do disco lombar é a placa vertebral. Quando submetida a cargas compressivas excessivas, a placa sofre fraturas que a levam a falência. Isso pode ocorrer por aplicação de uma forte carga axial súbita, ou por fadiga crônica⁴³.

Clinicamente, a manifestação mais comum da degeneração discal é a dor lombar, caracterizada por uma confluência de anormalidades no DIV como inervação, inflamação e hipermobilidade mecânica. Para ocorrer dor discal, pressupõe-se que haja presença de nervos. Em um disco saudável observa-se apenas inervação periférica por mecanorreceptores que desempenham função de propriocepção. Entretanto, em discos degenerados ocorre processo de neoinervação mediado pela produção de fator de crescimento neural, principalmente na placa vertebral. Essas fibras nervosas patológicas no disco degenerado são fonte nociceptiva, causando dor discogênica⁴⁴.

Além disso, com a lesão do DIV inicia-se a produção de moléculas inflamatórias. A presença de fator de necrose tumoral e interleucinas no disco degenerado coincide com o início de apoptose celular. Associadas a esse quadro inflamatório local, alterações na arquitetura e composição bioquímica alteram invariavelmente as relações mecânicas do DIV. As fibras do ânulo tornam-se desorganizadas e rotas, o núcleo desidrata-se progressivamente e o contorno entre o NP e o AF vai ficando menos distinto⁴⁴.

Histologicamente, a DD é caracterizada por mudanças no nível celular. Por exemplo, ocorre aumento da proliferação e da formação de aglomerados celulares,

assim como intensificação de morte celular (tanto por apoptose como necrose)¹. Ainda, observa-se aumento no número de fissuras, ruptura de fibras, presença de material granular e neovascularização de fora para dentro do núcleo. Na placa vertebral ocorrem desorganizações estruturais, que incluem fissuras, afilamento da cartilagem, alteração da densidade celular, microfraturas do osso subcondral adjacente e esclerose óssea².

Alterações moleculares também são evidentes, como aumento da produção de citocinas e enzimas destruidoras da matriz (metaloproteinases). Diferentes tipos de moléculas podem ser produzidas, como colágeno tipo I, III, VI e X, elastina fibronectina e amilóide, ou sua distribuição pode estar alterada. Glicosaminoglicanos estão reduzidos na DD, levando a perda gradual de fluido intradiscal¹. Enquanto isso, o aumento da concentração de fatores de crescimento reflete a tentativa de reparação da matriz degradada³².

Segundo Schepper *et al*¹², a degeneração discal lombar é caracterizada radiologicamente pela presença de osteófitos, esclerose da placa vertebral e diminuição do espaço discal. Nesse estudo, foram avaliadas radiografias (RX) de 1204 homens e 1615 mulheres e correlacionados os sinais de DD com sintomatologia dolorosa. A diminuição do espaço discal foi o achado radiográfico mais fortemente associado à dor lombar nos pacientes.

A diminuição do espaço discal é provavelmente o critério específico mais usado para indicar degeneração em exames radiográficos. Uma diminuição substancial do espaço intervertebral é um sinal claro de patologia do DIV⁷.

Em 2006 Wilke *et al*¹¹ validaram um sistema de graduação radiográfica para DD, que avaliava as seguintes variáveis: perda da altura discal, formação de osteófito e esclerose difusa. O grau de concordância interobservador foi substancial ($Kappa = 0,714$) para os três critérios, validando o sistema de avaliação radiográfica para a degeneração discal.

Além dos critérios já citados, outras características radiológicas podem ser observadas em um disco degenerado como protrusão discal, herniações e nódulos

de Schmorl. Redução da intensidade do sinal discal, fissuras e zonas de alta intensidade também são observadas em estudos de Ressonância Magnética^{14,31}.

3.2 Degeneração Discal Experimental

Os estudos experimentais em animais desempenham papel fundamental no estudo da etiologia, fisiopatologia e possibilidades terapêuticas da degeneração discal.

Modelos animais de DD são importantes para estudar como a degeneração se desenvolve ao longo do tempo, tanto espontaneamente como induzida por lesão no DIV, e determinar como fatores de risco constitutivos, ambientais ou biomecânicos podem iniciar, promover ou regular essas alterações. Ainda, modelos experimentais *in vivo* são necessários para demonstrar como estratégias terapêuticas podem melhorar, resolver ou prevenir a degeneração discal⁴⁵.

O primeiro experimento em animais para indução de DD relatado na literatura foi realizado em cães por Key e Ford⁴⁶, em 1948. Desde então, diversos métodos de indução da degeneração discal *in vivo* já foram desenvolvidos^{13,45,47-59}. O mecanismo de lesão pode ser por compressão, instabilidade, lesão física, lesão química e degeneração espontânea.

A indução da DD por compressão é realizada por sobrecarga contínua ou cíclica em determinada região da coluna. Os modelos de degeneração discal em rabo de roedores tornaram-se bastante populares, pois permitem aos pesquisadores avaliar os efeitos metabólicos da compressão mecânica direta no disco. A compressão estática no rabo de ratos e camundongos induz alterações que são similares à degeneração discal⁴⁸. Vantagens do uso desses modelos incluem baixo risco de lesão das estruturas adjacentes e mínima interferência com a função fisiológica normal do animal. Porém, existem algumas limitações como diferenças

anatômicas (ausência de elementos posteriores), na composição e metabolismo da matriz celular comparado aos seres humanos⁴⁷.

Os efeitos da instabilidade na indução da degeneração discal também foram estudados, pela imposição de movimento excessivo *in vivo* através da lesão cirúrgica de estruturas estabilizadoras (articulações facetárias ou processos espinhosos), estimulação repetitiva da musculatura espinhal ou fusão do nível adjacente⁴⁵.

Os modelos de lesão física do DIV são atraentes pelo fato de que o momento exato da perturbação pode ser precisamente controlado. Além disso, a lesão do AF é considerada fundamental no desenvolvimento da degeneração discal em humanos⁴⁷. Dois métodos de lesão do disco são amplamente utilizados atualmente: punção por agulha^{51,54-57} e perfuração com lâmina de bisturi^{52,53}.

A injeção de agentes químicos dentro do disco intervertebral é outra possibilidade de indução da DD. Exemplos de substâncias utilizadas para induzir a degeneração discal são: 5-bromodeoxyuridine (BrdU)¹³, Condroitinase ABC^{49,50} e Camptotecina⁵¹.

Modelos de degeneração discal espontânea são muito úteis na avaliação dos processos fisiopatológicos naturais do DIV⁴⁷. De maneira similar aos seres humanos, DD espontânea ou acelerada ocorre em diversas espécies. Ratos de areia desenvolvem diabetes e degeneração discal avançada quando alimentados com uma dieta padronizada em laboratório⁶⁸. Porém, o longo tempo de espera e as manifestações clínicas inconsistentes da DD nesses modelos animais torna o método espontâneo inviável para estudos experimentais⁴⁷.

Outro fator importante na realização de um experimento *in vivo* da DDD é a espécie animal a ser estudada. É sabido que diversos modelos animais apresentam alterações celulares e contitucionais patognomônicas da degeneração discal em humanos⁴⁵. Outras características como tamanho, metabolismo e anatomia também deveriam assemelhar-se ao DIV humano. Com este raciocínio, a utilização de um animal bípede, como um primata, para estudar as patologias da coluna vertebral seria ideal, não fosse por questões éticas que impedem a sua realização⁴⁷.

Assim, dentre os animais disponíveis e viáveis para estudos experimentais, tem-se: ratos, coelhos, cães, porcos, cabras e ovelhas. Animais de porte maior tornam-se inviáveis pela dificuldade de alojamento e manutenção. Da mesma forma, animais de tamanho diminuto não são modelos adequados para a realização de estudos biomecânicos ou com uso implantantes.

Fazzalari *et al*⁶⁴ realizaram um estudo experimental em 48 ovelhas, que foram submetidas a fissura radial no DIV por meio de lesão do ânulo fibroso induzida com agulha 27G, observando alterações mecânicas no DIV e espessamento lamelar já no primeiro mês após o procedimento. Os autores citam que “a coluna vertebral de ovelhas é biomecanicamente similar à coluna humana, e seus discos intervertebrais são estruturalmente e bioquimicamente muito similares aos do humano”.

Zhou *et al*¹³ desenvolveram um modelo de DD em ovelhas por meio de injeção intradiscal percutânea de BrdU guiada por tomografia computadorizada em 12 animais. A escolha da espécie se deu pela semelhança fisiológica, propriedades biomecânicas e anatomia similar da região lombar de ovelhas e humanos. Já Colloca *et al*⁵² optaram por induzir a degeneração discal em 25 ovelhas pelo método de lesão do AF com lâmina de bisturi n.15. Em ambos os estudos observou-se a presença de sinais de DD entre 10 e 20 semanas após o experimento, tanto radiologicamente¹³ como histologicamente⁵².

Hoogendoorn *et al*^{49,50} escolheram a cabra como modelo para estudo da degeneração discal. Segundo os autores, “a coluna vertebral da cabra aparenta o DIV humano na estrutura, geometria e mecânica”. Nesses dois estudos, a indução da DD foi realizada por injeção intradiscal de Condroitinase ABC, com evidência radiológica, histológica e macroscópica de degeneração discal após 12 semanas do experimento.

Com o argumento de que a coluna de porcos tem anatomia próxima à do humano e de que o tamanho dos DIV são similares entre as duas espécies, Omlor *et al*⁶⁹ desenvolveram um novo modelo de DD em suínos. Vinte e quatro porcos foram submetidos a uma nucleotomia parcial por meio de uma cânula de biópsia 16G. Após

24 semanas do experimento, os discos puncionados apresentaram diminuição da altura e esclerose da placa vertebral tanto no RX quanto na RM.

Animais menores também são utilizados para indução da degeneração discal experimental. Rousseau *et al*⁵³ realizaram estudo em ratos, que tiveram DIV lombares e do rabo lesionados por lâmina de bisturi n.11. Os animais apresentaram sinais morfológicos de degeneração após sete dias do experimento, com a vantagem de baixo custo de realização do estudo. Da mesma forma, Han *et al*⁵⁷ induziram com sucesso a DD em DIV do rabo de ratos por meio de punção com agulha 20G, ressaltando o baixo valor do experimento e facilidade de manutenção dos animais. Porém, esses autores concluíram que “estes modelos não são particularmente viáveis para testes de novas modalidades terapêuticas pois exige-se muita habilidade cirúrgica, instrumentos específicos e tempo em demasia para realizar experimentos em espécies tão pequenas”.

Talvez um modelo animal de degeneração discal que apresente características vantajosas para estudos experimentais seja o coelho. Smith e Walmsley publicaram o primeiro modelo de DD induzida em coelhos em 1951⁶¹. Na última década, vários autores demonstraram viabilidade do uso dessa espécie para estudo da degeneração discal, além da facilidade de alojamento e baixo custo de manutenção dos animais^{45,47,51,55,56,58,62}.

Em 2002 Kroeber *et al*⁶⁸ publicaram um modelo de degeneração discal *in vivo* induzido pela aplicação de carga axial mecânica controlada sobre o DIV de coelhos. Todos os animais experimentais evoluíram com sinais de DD após 28 dias de compressão. “Em contraste ao modelo de degeneração em ratos e camundongos, o comportamento biomecânico da coluna lombar de coelhos é mais semelhante à coluna vertebral humana em razão da presença de facetas articulares, musculatura paravertebral e ligamentos espinhais. Além disso, as placas de crescimento dos corpos vertebrais de coelhos adultos estão fechadas da mesma forma que nos humanos, diferentemente dos ratos e camundongos”.

Sobajima *et al*⁶⁶ também utilizaram coelhos para induzir degeneração discal, realizada por meio de punção do DIV com agulha 16G em profundidade controlada de 5 mm. Os autores concluíram que esse modelo é viável para o estudo da patogênese e fisiopatologia da DD, além de ser seguro e eficaz para novos testes terapêuticos *in vivo*.

Masuda *et al*⁶⁵ afirmaram que “há um grau de validação no uso de coelhos como modelo experimental de DD, quando o custo para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas é considerado”. Nesse estudo, compararam os métodos de punção com agulha e lesão com lâmina de bisturi para a indução da degeneração discal em coelhos. Os autores observaram que a abordagem do DIV por agulha resultou em diminuição da altura discal e alterações histológicas superiores à da técnica por lâmina de bisturi.

Corroborando a superioridade da lesão por agulha para a indução de DD em coelhos, Kim *et al*⁶¹ compararam quatro métodos de lesão do DIV: injeção intradiscal de Camptotecina; aspiração do NP com agulha 21G; três punções do AF com agulha 21G; e uma punção do AF com agulha 18G. Após 12 semanas, observaram que os modelos de punção com agulha 21G e 18G produziram a degeneração discal mais consistente na coluna lombar dos coelhos.

No momento da escolha de um bom modelo animal para DD experimental, alguns fatores são importantes. O animal deve ser disponível, com baixo custo de obtenção e manutenção; o disco intervertebral deve apresentar acesso cirúrgico fácil e ter tamanho adequado; e o início da degeneração discal produzida deve ocorrer de maneira rápida e confiável⁵¹.

Dentro da nossa realidade encontram-se nessas condições dois modelos animais: camundongo e coelho. Ao comparar as espécies, observa-se que coelhos apresentam maiores vantagens por terem DIV de dimensões maiores, acesso cirúrgico facilitado e melhor manuseio para a avaliação das lesões discais^{55,58}.

Por essa razão, Vialle *et al* reproduziram no Laboratório de Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR) um modelo de

degeneração discal experimental em coelhos. O modelo foi padronizado e adaptado à nossa realidade, tornando viáveis estudos subsequentes de biomecânica, fisiopatologia e novas terapias para a degeneração discal *in vivo*. O experimento foi validado histologicamente e radiograficamente⁶³ com alto grau de confiabilidade e concordância interobservadores, demonstrando presença de degeneração discal após oito semanas do experimento. O método empregado para indução da degeneração discal foi a punção do DIV com agulha 18G a uma profundidade limitada de 5 mm por meio da moldagem da agulha em forma de baioneta.

Radiograficamente, os discos degenerados apresentaram os seguintes sinais: diminuição dos espaços discal no RX ventro-dorsal e lateral, formação de osteófitos e esclerose da placa vertebral (Figura 2).

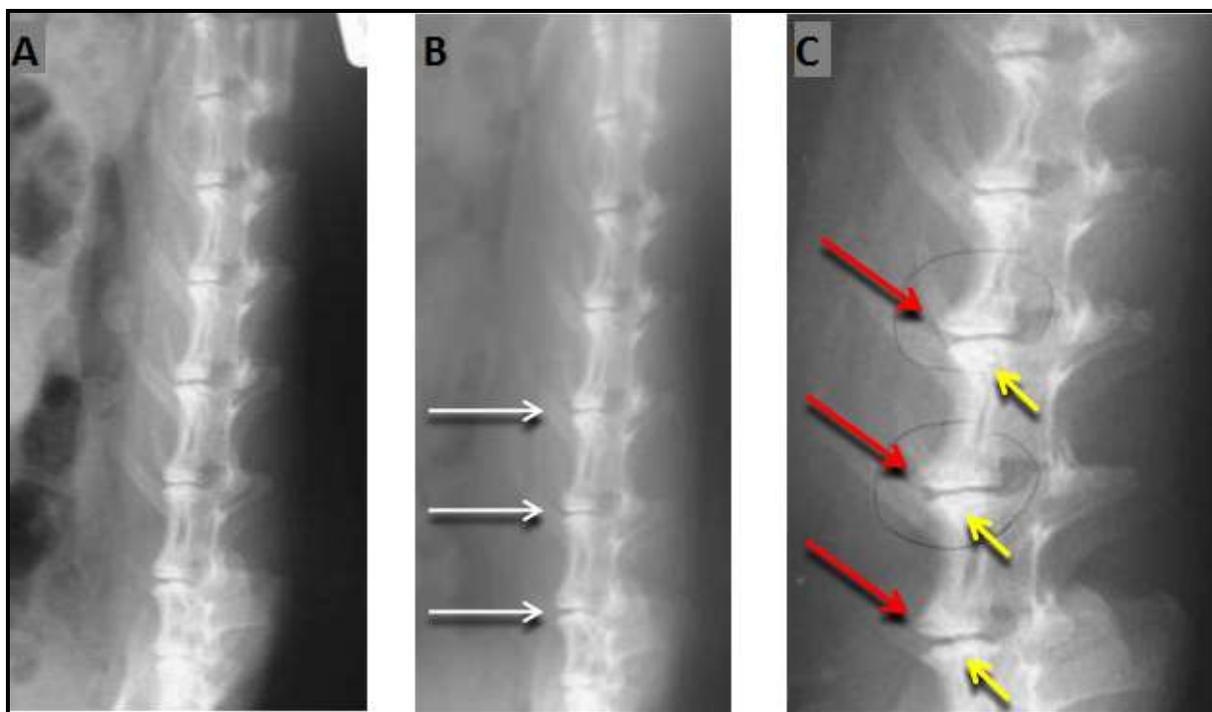


Figura 2 - RX Lateral Direito com evolução da degeneração discal em modelo experimental. A – Pós-op imediato, sem alterações. B - Após 4 semanas, com evidência de redução do espaço discal (setas brancas). C – Com 8 semanas, apresentando formação de osteófitos (setas vermelhas) e esclerose da placa vertebral (setas amarelas).

Histologicamente, também foram observadas alterações idênticas às ocorridas em DIV humanos degenerados, como ruptura do AF, estrusão do NP e formação de vasos sanguíneos nos DIV degenerados (Figura 3).

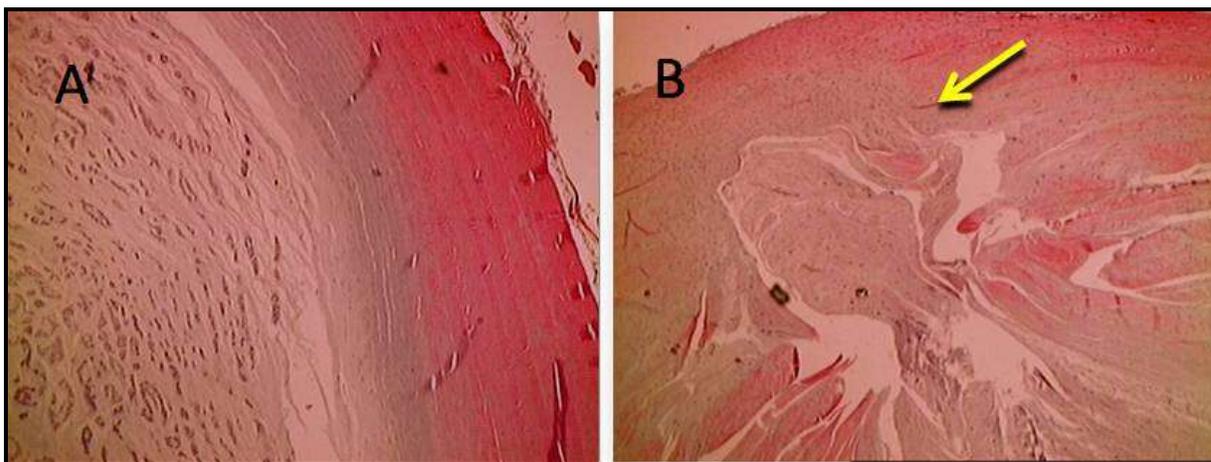


Figura 3 – Lâminas histológicas coradas com Hematoxilina-Eosina (HE), magnificação de 200x. A – DIV controle com AF intacto. B – DIV experimental com desorganização lamelar e extrusão do NP (seta).

Por fim, é mister esclarecer a questão a respeito do uso de quadrúpedes em experimentos biomecânicos da coluna vertebral. Frequentemente supõe-se que a carga da coluna lombar é maior em humanos que em quadrúpedes. Entretanto, esta idéia não é correta, já que a contração muscular e a tensão passiva de estruturas ligamentares também contribuem substancialmente com as cargas que atuam na coluna⁴⁷. Em estudo biomecânico em quadrúpedes, Smit comenta que “nenhum estudo teórico ou experimental conseguiu demonstrar diferença fundamental entre a carga mecânica na coluna de bípedes e quadrúpedes. Ao contrário, vários estudos demonstraram semelhanças nítidas na geometria, indicando que a coluna bípede e quadrúpede devem receber carga da mesma maneira”⁶⁴.

Para se estabilizar uma coluna alinhada horizontalmente, necessita-se de forças musculares muito maiores do que em uma coluna alinhada verticalmente⁴⁷.

Em geral, as forças musculares que atuam na coluna são maiores que as forças externas, em virtude do menor braço de momento dos músculos. A coativação de músculos antagonistas é uma estratégia que aumenta a estabilidade do tronco, porém às custas de incremento da carga na coluna⁴¹. Portanto, o vetor de força mais importante que atua na coluna é a carga através do seu próprio eixo, independente de a coluna ser vertical (bípede) ou horizontal (quadrúpede). A força gravitacional é apenas mais um fator a ser levado em consideração no que tange a degeneração discal, porém não tem papel tão fundamental quanto o efeito da força muscular que atua ao longo do eixo da coluna. Assim, as forças musculares são responsáveis pela maior contribuição de carga axial da coluna vertebral⁶⁵.

Dessa forma, Smit conclui em seu artigo que “o uso de quadrúpedes como modelo *in vivo* para experimentos da coluna é justificado, mesmo quando as condições de carga são analisadas. Seguindo o mesmo conceito, a curvatura da coluna não influencia a maneira como o seguimento espinhal ou o disco intervertebral são submetidos a forças compressivas”⁶⁴.

3.3 Espaçador Interespinhoso

A ideia de criar um dispositivo que tenha propriedade de realizar distração da coluna vertebral não é nova. De acordo com Whitesides⁶⁶, na década de 1950 Fred Knowles começou a implantar plugues metálicos entre os processos espinhosos de pacientes com estenose vertebral. Recentemente, uma variedade de espaçadores interespinhosos foi desenvolvida pela indústria de implantes médicos. Os desenhos e materiais empregados na confecção desses dispositivos são bastante diversos (Figura 4). O ponto comum entre eles é a intenção de manter um grau constante de distração entre os processos espinhosos²⁴ (Figura 5).

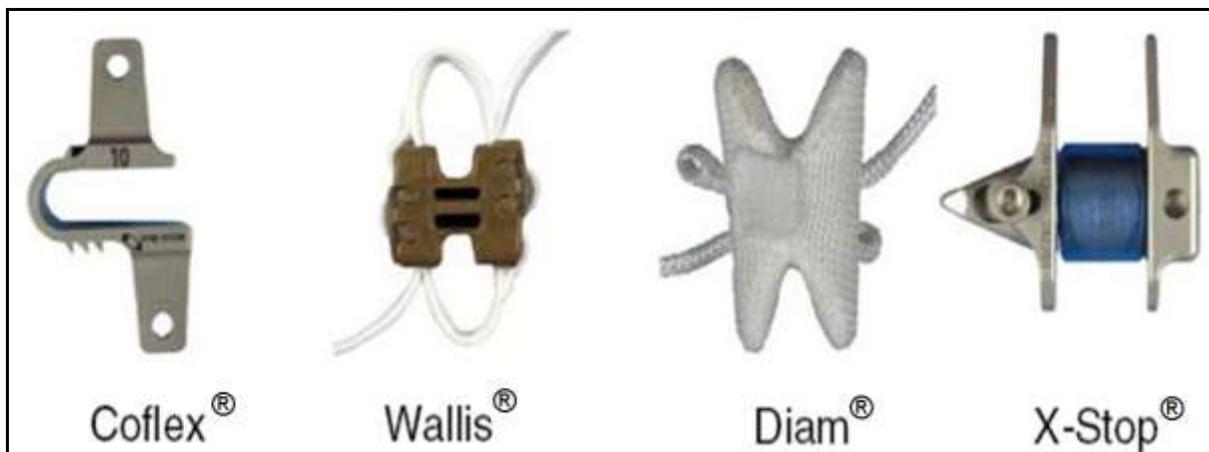


Figura 4. Exemplos de Espaçadores Interespinhosos disponíveis no mercado.

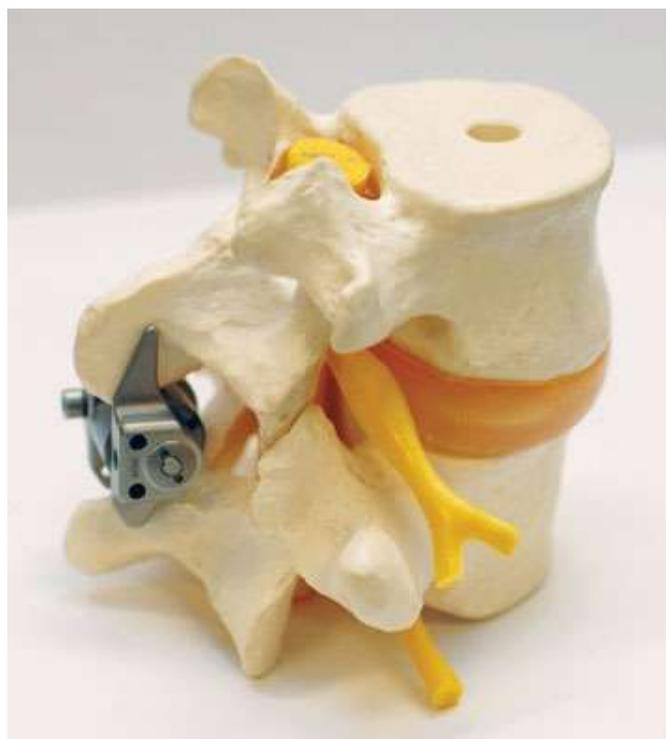


Figura 5. Posição do implante na coluna.

Fonte: <http://www.oakleafmedical.com>

Ao realizar distração dos elementos posteriores da coluna, o EIE causa relativa cifose do segmento instrumentado. Dessa forma, reverte-se a compressão do ligamento amarelo dentro do canal vertebral, além de ampliar as dimensões do

forame neural²⁴. Com isso, é possível aliviar os sintomas de claudicação neurogênica de pacientes que apresentam estenose do canal vertebral^{26,66,68,69}.

No geral, esses dispositivos atuam limitando a extensão sem apresentar efeito na flexão, rotação axial ou inclinação lateral da coluna. Estudos biomecânicos *in vivo* demonstraram que os EIE não apresentam efeito na pressão intradiscal ou nas cargas que atuam sobre as facetas articulares acima ou abaixo do nível implantado^{23,29,70}. Porém, um estudo *in vitro* utilizando análise de elementos finitos demonstrou haver diminuição das cargas sobre as fibras do ânulo de DIV em segmentos implantados com EIE.

Utilizando-se da suposição de que a redução da pressão sobre o DIV através do implante de um EIE poderia prevenir, em teoria, o processo degenerativo no nível estabilizado, a indústria de materiais e implantes médicos tem estimulado o uso de espaçadores interespinhosos em pacientes com quadro de lombalgia decorrente de DD.

A significância clínica da distração que o EIE poderia realizar no disco intervertebral ainda é incerta. Vários autores concordam que novos estudos *in vivo* são necessários para melhor definir as indicações desses dispositivos e, assim, se obter conclusões definitivas a respeito do papel dos espaçadores na DDD^{29,67,70,71}.

Portanto, a necessidade de se realizar um estudo *in vivo* com esse objetivo é imperativa, a fim de se determinar se o implante de um EIE pode prevenir o processo degenerativo do DIV. Eticamente, o implante do EIE em modelo animal é a próxima etapa a ser realizada para entendimento do seu papel na degeneração discal.

Ainda não há, entretanto, modelo padronizado do dispositivo para inserção em animais experimentais. Para tanto, é necessário que o espaçador a ser desenvolvido apresente características biocompatíveis e propriedades biomecânicas similares aos EIE desenhados para implante em humanos.

O cimento de Poli-Metil-Metacrilato (PMMA) é um composto inorgânico utilizado em cirurgias ortopédicas pelo seu bom grau de compatibilidade com o tecido humano, além de apresentar módulo tênsil entre o osso cortical e o esponjoso⁷².

Outra característica vantajosa do PMMA é sua facilidade de modelagem durante a cirurgia, permitindo que se confeccione o espaçador de acordo com as medidas anatômicas individuais de cada animal, minimizando o risco de soltura ou má-adaptação do EIE.

4 MÉTODOS

Este estudo foi realizado seguindo as normas e princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sendo aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da PUC-PR sob registro 377 – 2ª revisão, de julho de 2008. Os métodos de anestesia, cirurgia, técnica de exames de imagem e análise radiológica foram baseados em estudo prévio realizado pelo autor deste projeto⁶³.

4.1 Amostra

Para este estudo foram selecionados coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça New Zealand, machos, brancos, pesando entre 3,5 e 4,5kg, com cerca de 8 meses de idade. A escolha do modelo foi baseada na facilidade de obtenção e cuidado com os animais da pesquisa, no tamanho apropriado dos DIV e na quantidade de DIV que possibilitam a experimentação, maximizando a quantidade de lesões e minimizando o número de animais utilizados.

4.2 Delineamento

Ao todo foram utilizados 20 coelhos, divididos em 2 grupos: G1 – Indução de Degeneração Discal (8 coelhos); e G2 – Indução de Degeneração Discal e Inserção de Espaçador Interespinhoso (12 coelhos). Por questões éticas e de validação estatística, cada animal teve três DIV lombares puncionados, a fim de aumentar o número de níveis experimentais, diminuindo o número total de animais utilizados no estudo.

Todos os animais possuíam as mesmas características e passaram pelo mesmo procedimento cirúrgico de indução da degeneração discal, em condições idênticas. A análise radiológica foi realizada da mesma forma para todos os animais.

4.3 Procedimentos

4.3.1 Ambiente de Experimentação

Os coelhos foram alojados individualmente em gaiolas de dimensões padronizadas para a espécie, no Biotério Central da PUC-PR. O ciclo de luz foi controlado (ciclo claro-escuro de 12 horas) à temperatura ambiente de 20 (\pm 2)°C. Os animais receberam água e ração especial para coelhos à vontade.

4.3.2 Anestesia

Cada animal foi submetido a anestesia pré-operatória com administração intramuscular (IM) de cloridrato de ketamina 5% (20-25mg/kg) – passando para via endovenosa (EV), através de um acesso em veia auricular, caso houvesse necessidade de manter a anestesia por mais de 40 minutos – e xilazina (0,15mg/kg) intramuscular²⁶.

4.3.3 Indução Da Degeneração Discal

Após indução anestésica, os coelhos foram posicionados em decúbito lateral direito (Figura 6) e uma abordagem posterolateral retroperitoneal, através de uma lombotomia localizada no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca (aproximadamente 5 cm), expôs a superfície anterior de 3 DIV lombares consecutivos (L2-L3, L3-L4 e L4-L5) (Figura 7).



Figura 6 – Coelho posicionado em decúbito lateral direito sob anestesia

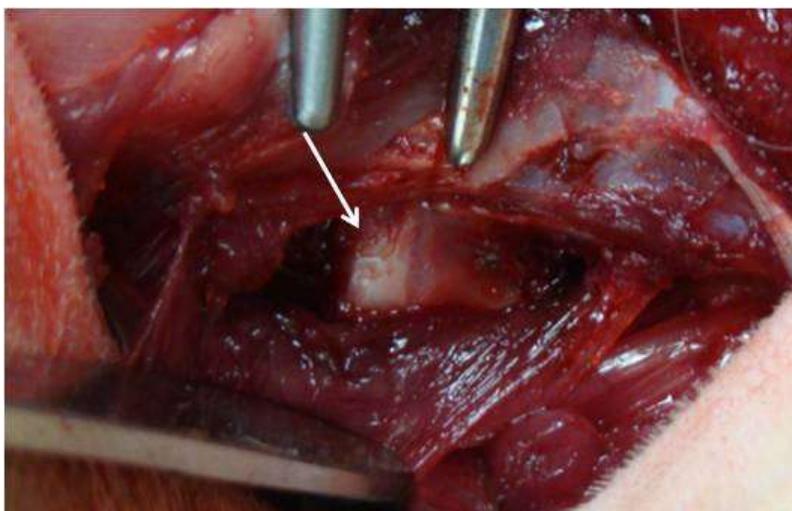


Figura 7 – Exposição do disco intervertebral (seta)

Após identificação dos níveis discais corretos, as áreas a serem puncionadas eram cuidadosamente expostas, através do seguinte procedimento: acesso paramediano esquerdo; identificação do músculo reto abdominal; abertura da bainha do reto paralela ao músculo; identificação do retroperitônio e dissecação manual desde o músculo psoas até a coluna vertebral. Finalmente, foram posicionados

afastadores protegendo a aorta e a cava antes da punção do disco. Os 3 discos experimentais foram puncionados com agulha 18G, em uma profundidade exata de 5mm, controlada através da moldagem da agulha em baioneta (Figura 8). A agulha era inserida na altura central do disco, através do ânulo fibroso, para dentro do núcleo pulposo, permanecendo no interior do DIV por 5 segundos (Figura 9).



Figura 8 – Agulha 18G modelada em baioneta para limitação da inserção em 5 mm.

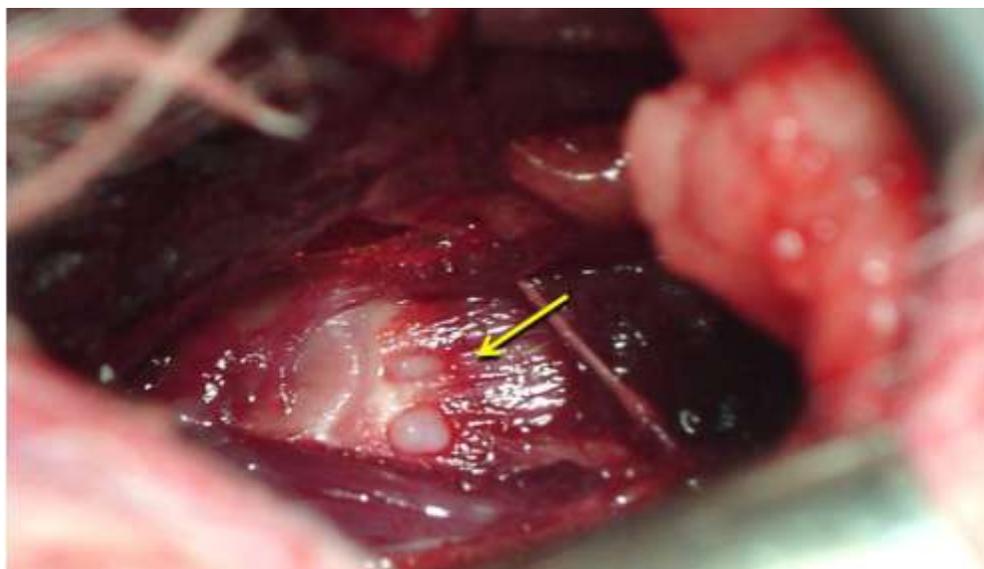


Figura 9 – Punções do DIV (seta).

Finalizada toda a intervenção, a sutura do animal era realizada por planos (musculatura profunda; tecido celular subcutâneo e pele), seguida pela confecção de curativo estéril.

4.3.4 Inserção Do Espaçador Interespinal

Após a indução da degeneração discal, os coelhos do G2 seguiam com o plano anestésico já estabelecido, sendo então reposicionados em decúbito ventral (Figura 10).



Figura 10 – Posicionamento do coelho em decúbito ventral.

Em seguida, realizava-se uma abordagem posterior à coluna, através de acesso mediano entre o processo espinhoso de L4 e L5. Este espaço interespinal era exposto, e em seguida implantava-se o EIE de cimento PMMA no local (Figuras 11, 12 e 13). O dispositivo foi confeccionado com modelagem padrão em forma de “H”, a partir de medidas anatômicas da coluna vertebral do coelho. Os dois níveis superiores (L2-L3 e L3-L4) foram deixados livres para efeito de comparação posterior do resultado.



Figura 11 – Espaçador Interespinal de PMMA em forma de “H”.

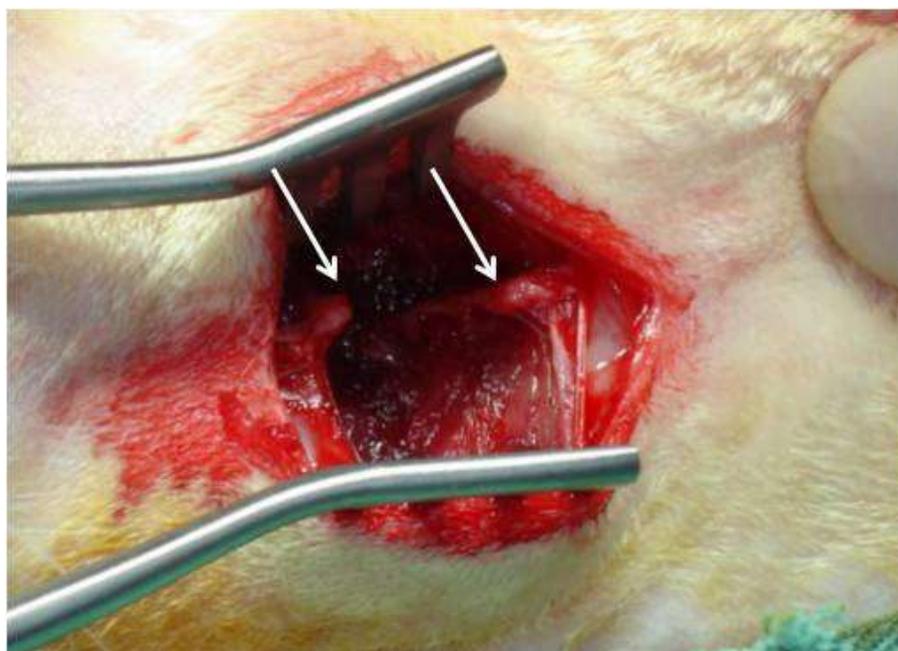


Figura 12 – Exposição do espaço interespinal de L4-L5 (setas).

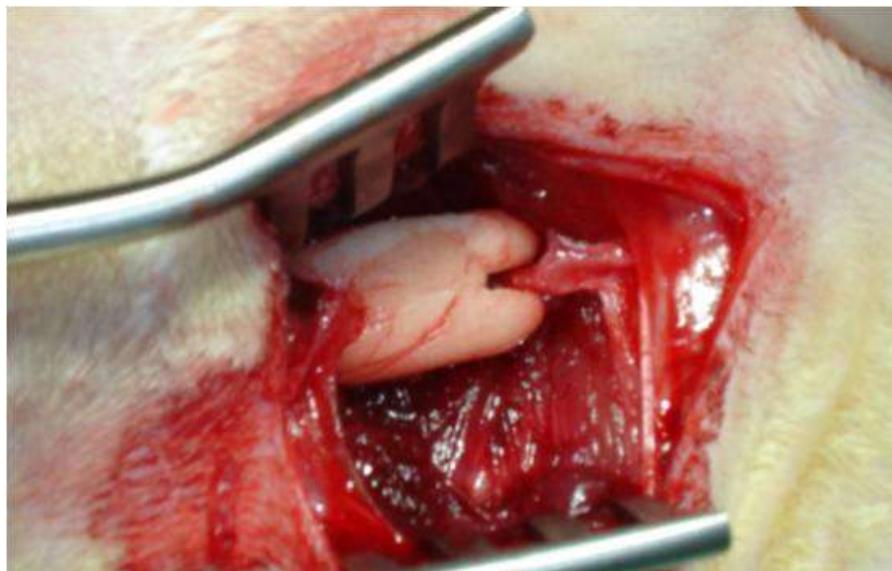


Figura 13 – Implante do espaçador interespinhoso.

Os dois grupos de animais foram acompanhados por 8 semanas após o procedimento de indução da degeneração discal, realizando-se a eutanásia no fim deste período para subsequente análise macroscópica e radiológica.

4.4 Meios de Aferição

4.4.1 Exames Radiológicos

Com o objetivo de avaliar os aspectos radiológicos da degeneração do DIV, foram realizadas radiografias da coluna lombar dos coelhos, sob anestesia (cloridrato de ketamina IM [20-25 mg/kg]), nas incidências lateral direita (L) e ventro-dorsal (VD) em diferentes momentos: anteriormente ao processo cirúrgico; pós-operatório imediato; 4 e 8 semanas após a realização da intervenção. Caso fossem detectados eventuais desvios rotacionais ou deformações relativas à técnica incorreta, repetia-se o exame. Todas as radiografias foram digitalizadas e armazenadas.

4.5 Meios de Análise dos Resultados

4.5.1 Análise Radiológica

As radiografias em incidência ventro-dorsal e perfil dos dois grupos foram avaliadas em momentos diferentes por cinco ortopedistas cirurgiões de coluna do Hospital Universitário Cajuru. Os seguintes critérios qualitativos foram considerados como marcadores patológicos de degeneração discal: (1) Redução do espaço discal em incidência VD; (2) Redução do espaço discal em incidência L; (3) Presença de esclerose da placa vertebral; (4) Formação de osteófitos; e (5) Presença de degeneração discal (considerada positiva quando pelo menos um dos aspectos anteriores era observado).

Os resultados foram comparados a fim de se obter concordância inter-observadores quanto à presença dos marcadores patológicos de cada disco vertebral submetido a degeneração experimental, nas radiografias realizadas em pré-operatório, pós-operatório (PO) imediato, 4 semanas de evolução e 8 semanas de evolução. A presença de apenas um critério radiográfico foi considerada suficiente para determinar o nível como degenerado.

4.5.2 Análise Estatística

Após a análise individual das radiografias, realizou-se a validação estatística dos resultados através do coeficiente de *Kappa* com intervalo de confiança de 95% (IC95%) e $p < 0,05$.

Para comparação dos grupos controle (G1) e experimental (G2), foi usado o Teste t de Student para amostras não-pareadas. O valor de $p < 0,05$ foi considerado para indicar diferença estatisticamente significativa em todos os testes.

5 RESULTADOS

Todos os animais completaram o estudo. Após o término do experimento e sacrifício dos animais, cinco pesquisadores analisaram individualmente a presença radiográfica das variáveis: Redução do Espaço Discal na radiografia em VD e L, Formação de Osteófito anterior, Esclerose da Placa Vertebral e Presença de Degeneração Discal, através de respostas afirmativas ou negativas (“sim” e “não”). Cada categoria avaliada recebeu uma pontuação: “0” para ausência ou “1” para sua presença no RX.

A análise dos dados foi validada pelo teste de *Kappa* para a concordância inter-observador, com um intervalo de confiança de 95%. Os critérios radiográficos de degeneração discal apresentaram concordância estatisticamente significativa em ambos os grupos (Tabela 1).

Tabela 1

Concordância Radiológica da Degeneração Discal em Coelhos		
Variáveis	Grupo 1	Grupo 2
Degeneração Discal	1,0 (0,781-1,0)	0,815 (0,636-0,994)
Esclerose da Placa Vertebral	0,654 (0,435-0,873)	0,757 (0,578-0,936)
Formação de Osteófito	0,345 (0,126-0,564)	0,255 (0,076-0,434)
Redução Espaço Discal - VD	0,543 (0,324-0,762)	0,639 (0,461-0,818)
Redução Espaço Discal - L	0,459 (0,24-0,679)	0,479 (0,3-0,658)

Valores *Kappa* (IC95%), $p < 0,05$.

Após a validação da concordância interobservadores, a soma da pontuação de cada critério foi convertida para porcentagem, a fim de uniformizar os valores e permitir comparação de grupos com amostras não-pareadas (G1 = 8, G2 = 12 coelhos). Esses valores foram analisados estatisticamente pelo Teste t de Student,

como mostram as Tabelas 2 a 7. Não se observou presença de qualquer critério de DD nas radiografias pré-operatórias, tampouco nas pós-operatórias imediatas. Já na avaliação radiográfica após 4 semanas e 8 semanas PO, a degeneração discal ocorreu de forma semelhante nos dois grupos de animais.

Tabela 2 – Total da pontuação por critério e porcentagem correspondente.

Tabela 2		
Presença dos critérios radiográficos por nível após 4 semanas – L2-L3		
Variáveis	Grupo 1	Grupo 2
Degeneração Discal	7/8 (87,5%)	11/12 (91,6%)
Esclerose da Placa Vertebral	6/8 (75,0%)	10/12 (83,3%)
Formação de Osteófito	8/8 (100,0%)	11/12 (91,6%)
Redução Espaço Discal - VD	7/8 (87,5%)	9/12 (75,0%)
Redução Espaço Discal - L	4/8 (50,0%)	10/12 (83,3%)

Teste T de Student para avaliação da diferença entre os grupos **p = 0,60**

Tabela 3 – Total da pontuação por critério e porcentagem correspondente.

Tabela 3		
Presença dos critérios radiográficos por nível após 4 semanas – L3-L4		
Variáveis	Grupo 1	Grupo 2
Degeneração Discal	7/8 (87,5%)	10/12 (83,3%)
Esclerose da Placa Vertebral	7/8 (87,5%)	11/12 (91,6%)
Formação de Osteófito	4/8 (50,0%)	17/12 (58,3%)
Redução Espaço Discal - VD	6/8 (75,0%)	9/12 (75,0%)
Redução Espaço Discal - L	7/8 (87,5%)	10/12 (83,3%)

Teste T de Student para avaliação da diferença entre os grupos **p = 0,93**

Tabela 4 – Total da pontuação por critério e porcentagem correspondente.

Tabela 4		
Presença dos critérios radiográficos por nível após 4 semanas – L4-L5		
Variáveis	Grupo 1	Grupo 2
Degeneração Discal	7/8 (87,5%)	10/12 (83,3%)
Esclerose da Placa Vertebral	7/8 (87,5%)	9/12 (75,0%)
Formação de Osteófito	5/8 (62,5%)	5/12 (41,6%)
Redução Espaço Discal - VD	6/8 (75,0%)	8/12 (66,6%)
Redução Espaço Discal - L	6/8 (75,0%)	10/12 (83,3%)
Teste T de Student para avaliação da diferença entre os grupos p = 0,43		

Tabela 5 – Total da pontuação por critério e porcentagem correspondente.

Tabela 5		
Presença dos critérios radiográficos por nível após 8 semanas – L2-L3		
Variáveis	Grupo 1	Grupo 2
Degeneração Discal	7/8 (87,5%)	11/12 (91,6%)
Esclerose da Placa Vertebral	7/8 (87,5%)	10/12 (83,3%)
Formação de Osteófito	8/8 (100,0%)	11/12 (91,6%)
Redução Espaço Discal - VD	7/8 (87,5%)	12/12 (100,0%)
Redução Espaço Discal - L	7/8 (87,5%)	10/12 (83,3%)
Teste T de Student para diferença entre os grupos p = 0,99		

Tabela 6 – Total da pontuação por critério e porcentagem correspondente.

Tabela 6		
Presença dos critérios radiográficos por nível após 8 semanas – L3-L4		
Variáveis	Grupo 1	Grupo 2
Degeneração Discal	8/8 (100,0%)	11/12 (91,6%)
Esclerose da Placa Vertebral	7/8 (87,5%)	11/12 (91,6%)
Formação de Osteófito	6/8 (75,0%)	10/12 (83,3%)
Redução Espaço Discal - VD	7/8 (87,5%)	12/12 (100,0%)
Redução Espaço Discal - L	7/8 (87,5%)	10/12 (83,3%)
Teste T de Student para diferença entre os grupos p = 0,63		

Tabela 7 – Total da pontuação por critério e porcentagem correspondente.

Tabela 7		
Presença dos critérios radiográficos por nível após 8 semanas – L4-L5		
Variáveis	Grupo 1	Grupo 2
Degeneração Discal	7/8 (100,0%)	12/12 (100,0%)
Esclerose da Placa Vertebral	7/8 (100,0%)	12/12 (100,0%)
Formação de Osteófito	8/8 (87,5%)	12/12 (100,0%)
Redução Espaço Discal - VD	7/8 (100,0%)	11/12 (91,6%)
Redução Espaço Discal - L	7/8 (100,0%)	10/12 (83,3%)
Teste T de Student para diferença entre os grupos p = 0,56		

As radiografias de controle evidenciaram bom posicionamento do EIE, não ocorrendo migração, infecção, deiscência de sutura ou reação osteolítica local. Após 8 semanas de seguimento pós-operatório, tanto o G1 quanto o G2 apresentaram critérios radiológicos de DD nos níveis submetidos ao experimento, sem haver influência do espaçador interespinhoso no retardo ou prevenção da degeneração discal (Figuras 14, 15, 16 e 17).

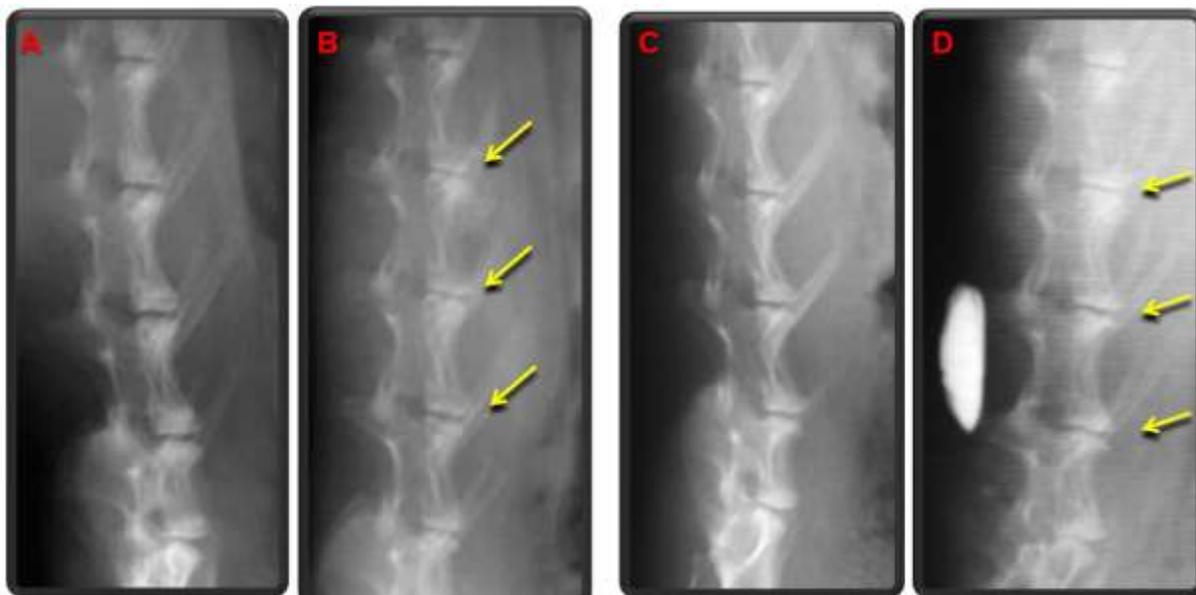


Figura 14 – Radiografias em incidência lateral. A - Coelho nº 2 (G1) pré-op. B – Coelho nº 2 (G1) 8 semanas PO, com evidência de DD nos níveis puncionados: diminuição do espaço discal, formação de osteófitos e esclerose da placa (setas). C – Coelho nº 11 (G2) pré-op. D – Coelho nº 11 (G2) 8 semanas PO, com evidência de DD nos níveis puncionados, incluindo nível com EIE: diminuição do espaço discal, formação de osteófitos e esclerose da placa (setas).



Figura 15 – RX Lateral Direito de coelho G2 na 8ª semana PO com formação de Osteófito em nível puncionado (seta).

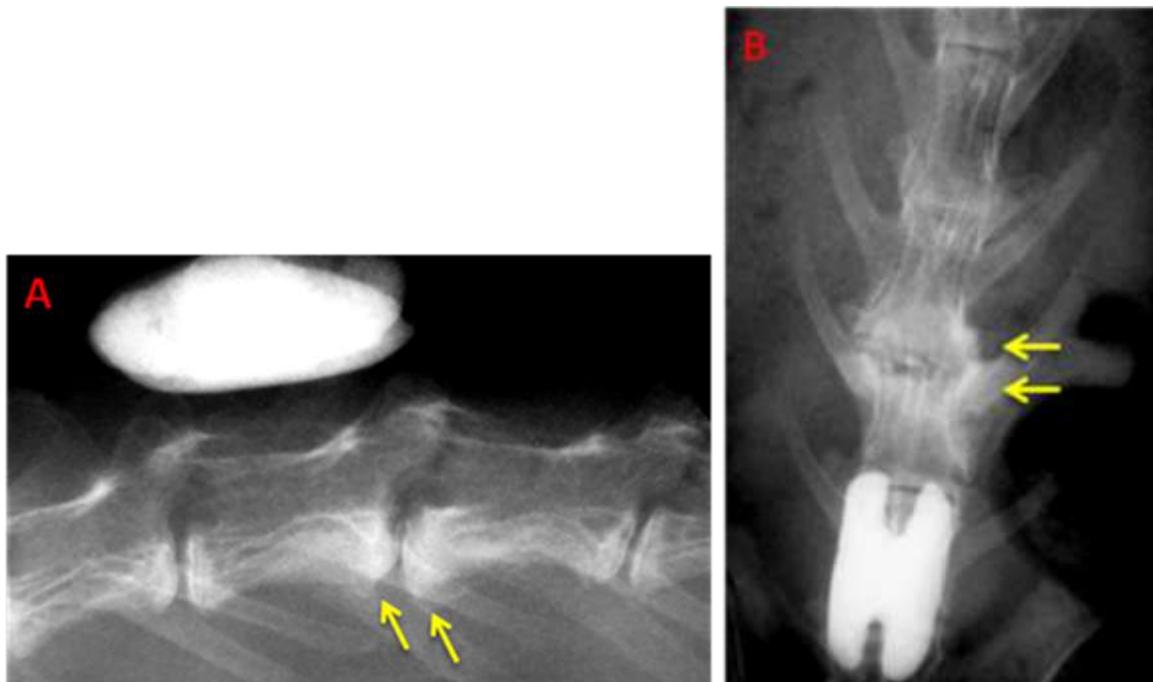


Figura 16 – RX Lateral Direito (A) e Ventro-Dorsal (B) de coelho G2 na 8ª semana PO com presença de Esclerose das Placas Vertebrais em nível puncionado (setas).



Figura 17 – RX Lateral Direito de coelho G1 na 8ª semana PO com Diminuição do Espaço Discal no nível puncionado (seta).

Ao se comparar isoladamente o DIV que recebeu o Espaçador Interespinhoso (G2 L4-L5) com os demais DIV submetidos a DD, não se observou diferença estatística entre os grupos na avaliação radiográfica de 4 e 8 semanas PO (Tabela 8 e 9).

Tabela 8 – Comparação entre o nível L4-L5 do grupo experimental (com implante do EIE) em relação aos demais níveis apenas submetidos à DD após 4 semanas

Tabela 8

Comparação da DD do DIV G2 L4-L5 com demais níveis – **4 semanas PO**

Nível	Teste t de Student
G2 L4-L5 x G1 L2-L3	p = 0,40
G2 L4-L5 x G1 L3-L4	p = 0,49
G2 L4-L5 x G1 L4-L5	p = 0,43
G2 L4-L5 x G2 L2-L3	p = 0,10
G2 L4-L5 x G2 L3-L4	p = 0,40

* p<0,05 definido como estatisticamente significante

Tabela 9 – Comparação entre o nível L4-L5 do grupo experimental (com implante do EIE) em relação aos demais níveis apenas submetidos à DD após 8 semanas

Tabela 9

Comparação da DD do DIV G2 L4-L5 com demais níveis – **8 semanas PO**

Nível	Teste t de Student
G2 L4-L5 x G1 L2-L3	p = 0,26
G2 L4-L5 x G1 L3-L4	p = 0,18
G2 L4-L5 x G1 L4-L5	p = 0,56
G2 L4-L5 x G2 L2-L3	p = 0,30
G2 L4-L5 x G2 L3-L4	p = 0,30

* p<0,05 definido como estatisticamente significante

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, desenvolvemos um modelo de Espaçador Interespinhoso viável para implante em animais experimentais. O uso de cimento PMMA na sua confecção facilitou a modelagem e o implante em todos os coelhos, com adequada fixação local. Com isso, foi possível analisar de forma inédita a influência do EIE na degeneração discal induzida *in vivo*.

O experimento de indução da DD em coelhos pelo método de punção com agulha foi bem sucedido, de fácil realização e alcançou resultados semelhantes a outros estudos que já padronizaram a mesma técnica^{51,55,56,63}.

Os seguintes critérios radiográficos de degeneração discal: diminuição do espaço discal nas radiografias de incidência ventro-dorsal e lateral, formação de osteófitos e esclerose da placa vertebral estiveram presentes em 75 a 100% dos DIV dos animais após 8 semanas da indução experimental da DD. Similarmente, os mesmos achados radiográficos ocorrem em seres humanos que apresentam doença degenerativa discal^{7,11,12}.

Todos os animais apresentaram ao menos um sinal radiográfico de degeneração discal nas radiografias de 4 e 8 semanas pós-operatórias, havendo concordância entre os observadores em todos os critérios analisados. Para validação dos resultados, utilizou-se o teste *Kappa*, que é uma medida de consenso interobservadores, e mede o grau de concordância além do que seria esperado tão somente pelo acaso. Essa medida de concordância tem valores que variam de 0 a 1, sendo que “0” representa não haver concordância além do puro acaso, e “1” representa a concordância perfeita⁷³.

De acordo com Landis e Koch⁷⁴, a concordância medida pelo *Kappa* deve ser interpretada como segue: *Kappa* <0 *nula*; de 0 a 0,19 *discreta*, de 0,20 a 0,39 *fraca*; de 0,40 a 0,59 *moderada*; de 0,60 a 0,79 *substancial*, e 0,80 a 1,00 *concordância quase perfeita*.

Utilizando-se essa interpretação para analisar os resultados do estudo, nota-se que os pesquisadores identificaram a presença radiográfica de Degeneração Discal tanto no Grupo 1 quanto no Grupo 2, ambos com *concordância quase perfeita* interobservadores. Além disso, todos os demais critérios avaliados foram positivos nos dois grupos, com concordância interobservadores de *moderada a substancial*. Portanto, a análise radiográfica da DD apresentou correlação confiável, com valor estatístico relevante para todos os critérios.

Neste estudo, os coelhos submetidos a cirurgia experimental aceitaram bem o procedimento assim como o dispositivo implantado. Os animais não apresentaram alteração do comportamento ao longo do seguimento pós-operatório. Os estudos *in vivo* têm a principal vantagem de determinar como os fatores de risco constitutivos, ambientais ou biomecânicos podem iniciar, promover, ou ainda regular as alterações discais⁷⁵. Em contrapartida, modelos *in vitro* impedem a análise do processo de degeneração como um evento complexo, envolvendo diversas estruturas que atuam de forma inter-relacionada e que exercem papéis fundamentais no resultado final, sendo úteis apenas para identificação de eventos de curta duração⁷⁶.

Segundo Lotz⁴⁵, animais são ferramentas poderosas para o estudo da trajetória das alterações degenerativas do disco intervertebral, além de revelarem as relações de causa-e-efeito em uma estrutura tão complexa. O uso do coelho como modelo animal neste estudo ofereceu características vantajosas como baixo custo de obtenção e manutenção, facilidade de manipulação do animal em razão do seu pequeno porte, além de apresentar tamanho adequado dos DIV para análise radiográfica.

Kroeber *et al*⁷⁷ e Guehring *et al*⁷⁸ também escolheram o coelho como modelo animal para experimentos biomecânicos da degeneração discal. No primeiro estudo, os autores utilizaram um dispositivo de distração dinâmica que era implantado externamente na coluna de 32 coelhos previamente submetidos a DD. Com a ideia de que, durante a aplicação do dispositivo, a compressão na coluna vertebral seria reduzida, acreditava-se que as relações mecânicas da coluna seriam

alteradas, aumentando por fim a nutrição do DIV. Esse estudo demonstrou que a distração dinâmica leva a um estado de descompressão crônica do AF, causando metaplasia dos condrócitos, redução da morte celular e produção concomitante de fibro-cartilagem na substância do ânulo. Essas alterações resultaram em espessamento do disco intervertebral após 28 dias do experimento, sugerindo a possibilidade de recuperação tecidual com a descompressão do DIV⁷⁷.

Já no segundo estudo, o objetivo foi determinar os efeitos biomecânicos e as alterações na RM da distração axial do DIV, e comparar os resultados com discos submetidos a degeneração discal por meio de compressão. Para o experimento, utilizou-se o mesmo dispositivo de distração dinâmica implantado externamente na coluna de 18 coelhos. Ao final de 28 dias de descompressão do DIV, observaram-se sinais de reidratação do núcleo pulposo nos exames de RM. Porém, os autores ressaltam: “as conclusões do nosso estudo não devem ser transferidas em todos os aspectos para a situação humana. Isso se deve basicamente pelo fato de termos utilizado uma força de distração padronizada no nosso estudo, enquanto que na prática clínica a força de distração deve ser ajustada individualmente”⁷⁸.

Ao se compararem os experimentos de distração dinâmica do DIV degenerado com este estudo da influência do EIE na DD, deve-se ressaltar a diferença biomecânica entre um espaçador estático e um distrator dinâmico. Os modelos de EIE disponíveis no mercado pra implante em humanos oferecem um efeito de descompressão estática, ou seja, impedem em teoria o colapso do espaço discal, limitando a extensão do segmento vertebral⁶⁷, sem influenciar em movimentos de flexão, rotação axial ou inclinação lateral da coluna⁷⁰.

No presente estudo, o Espaçador Interespinhoso não teve influência na evolução da degeneração discal nos animais experimentais. Tanto os DIV do G1 quanto do G2 desenvolveram sinais radiográficos de DD, já identificáveis após 4 semanas, e ainda mais evidentes ao final das 8 semanas do estudo. Supostamente, uma diferença estatística entre os grupos nas primeiras 4 semanas pós-operatórias

poderia significar um efeito do EIE no retardo da degeneração discal. Da mesma forma, caso ocorresse diferença significativa entre os dois grupos na 8ª semana do estudo, ou até mesmo ausência de sinais radiográficos de DD no segmento que recebeu o espaçador, poderia-se concluir que o dispositivo influenciou na prevenção da degeneração discal.

Neste caso, a ausência de efeito visível do EIE na progressão da DD se deve, provavelmente, a influência de vários outros fatores relacionados à degeneração discal além do fator mecânico. Alterações genéticas, biológicas, bioquímicas e fisiológicas também são de fundamental importância no desenvolvimento da doença degenerativa discal, associando-se aos transtornos biomecânicos na coluna.

Portanto, tentar eliminar isoladamente o fator mecânico por meio do implante de um Espaçador Interespinhoso não é suficiente para evitar ou prevenir a progressão de uma patologia tão complexa como a degeneração do disco intervertebral.

7 CONCLUSÃO

O Espaçador Interespinhoso não apresentou influência estatisticamente significativa na prevenção ou retardo da degeneração discal em coelhos.

8 REFERÊNCIAS

1. Roberts S, Evans H, Trivedi J, Menage J. Histology and pathology of the human intervertebral disc. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(Suppl 2):10-4.
2. Boos N, Weissebach S, Rohrbach H, *et al.* Classification of age-related changes in lumbar intervertebral discs. *Spine.* 2002; 27:2632-44.
3. Adams MA, Roughley PJ. What is intervertebral disc degeneration, and what causes it? *Spine.* 2006; 31:2151-61.
4. Camacho JL. Un viaje a través del disco intervertebral humano. Iztacalco (Mexico): Gomar; 2010. 246 p.
5. Nerlich A, Schleicher E, Boos N. Immunohistologic markers for age-related changes of human lumbar intervertebral discs. *Spine.* 1997; 22:2781-95.
6. Larson III J, Levicoff E, Gilbertson L, Kang J. Biologic modification of animal models of intervertebral disc degeneration. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(Suppl 2):83-7.
7. Videman T, Levälähti E, Battié MC. The effects of anthropometrics, lifting strength, and physical activities in disc degeneration. *Spine.* 2007; 32:1406-13.
8. Johnson W, Eisenstein S, Roberts S. Cell cluster formation in degenerate lumbar intervertebral discs is associated with increased disc cell proliferation. *Connect Tissue Res.* 2001; 42:197-207.
9. Kang J, Georgescu H, McIntyre-Larkin L. Herniated lumbar intervertebral discs spontaneously produce matrix metalloproteinases, nitric oxide, interleukin-6, and prostaglandin E2. *Spine.* 1996; 21:271-7.
10. Brisby H. Pathology and possible mechanisms of nervous system response to disc degeneration. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(Suppl 2):68-71.

11. Wilke HJ, Rohlmann F, Neidlinger-Wilke C, *et al.* Validity and interobserver agreement of a new radiographic grading system for intervertebral disc degeneration: Part I. Lumbar Spine. *Eur Spine J.* 2006; 15:720-30.
12. Schepper EI, Damen J, van Meurs JB, *et al.* The association between lumbar disc degeneration and low back pain. *Spine.* 2010; 35:531-6.
13. Zhou HW, Hou SX, Shang WL, *et al.* A new *in vivo* animal model to create intervertebral disc degeneration characterized by MRI, radiography, CT/discogram, biochemistry, and histology. *Spine.* 2007; 32:864-72.
14. Haughton V. Medical imaging of intervertebral disc degeneration. *Spine.* 2004; 29:2751-6.
15. Andersson G. Epidemiological features of chronic low-back pain. *Lancet.* 1999; 354:581–5.
16. Andersson G. The epidemiology of spinal disorders. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997.
17. Praemer A, Furnes S, Rice D. Musculoskeletal conditions in the United States. Rosemont: AAOS; 1992.
18. Taylor V, Deyo R, Cherkin D. Low-back pain hospitalization: recent United States trends and regional variations. *Spine.* 1994; 19:1207-13.
19. Hart L, Deyo R, Cherkin D. Physician office visits for low back pain. *Spine.* 1995; 20:11-9.
20. Katz J. Lumbar disc disorders and low-back pain: socioeconomic factors and consequences. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(Suppl 2):21-4.
21. Spivak J, Bendo J. Lumbar degenerative disorders. Rosemont: AAOS; 2002.
22. An H, Masuda K. Relevance of *in vitro* and *in vivo* models for intervertebral disc degeneration. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(Suppl 2):88-94.
23. Christie SD, Song JK, Fessler RG. Dynamic interspinous process technology. *Spine.* 2005; 30:73-8.

24. Bono CM, Vaccaro AR. Interspinous process devices in the lumbar spine. *J Spinal Disord Tech.* 2007; 20:255-61.
25. Richards JC, Majumdar S, Lindsey DP, Beaupré GS, Yerby SA. The treatment mechanism of an interspinous process implant for lumbar neurogenic intermittent claudication. *Spine.* 2005; 30:744-9.
26. Sobottke R, Schlüter-Brust K, Kaulhausen T, *et al.* Interspinous implants (X Stop®, Wallis®, Diam®) for the treatment of LSS: is there a correlation between radiological parameters and clinical outcome? *Eur Spine J.* 2009; 18:1494-503.
27. Nardi PV, Cabezas D, Rea G, Pettorini BL. Aperius PercLID stand alone interspinous system for the treatment of degenerative lumbar stenosis. *J Spinal Disord Tech.* 2010; 23:203-7.
28. Laurysen C. Appropriate selection of patients with lumbar spinal stenosis for interspinous process decompression with the X Stop device. *Neurosurg Focus.* 2007; 22:1-7.
29. Swanson KE, Lindsey DP, Hsu KY, Zucherman JF, Yerby SA. The effects of an interspinous implant on intervertebral disc pressures. *Spine.* 2003; 28:26-32.
30. Minns R, Walsh W. Preliminary design and experimental studies of a novel soft implant for correcting sagittal plane instability in the lumbar spine. *Spine.* 1997; 22:1819-25.
31. Battié MC, Videman T. Lumbar disc degeneration: epidemiology and genetics. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(Suppl 2):3-9.
32. Hadjipavlou AG, Tzermiadianos MN, Bogduk N, Zindrick MR. The pathophysiology of disc degeneration. *J Bone Joint Surg Br.* 2008; 90:1261-70.
33. Solovieva S, Lohiniva J, Leino-Arjas P, *et al.* COL9A3 gene polymorphism and obesity in intervertebral disc degeneration of the lumbar spine: evidence of gene-environment interaction. *Spine.* 2002;27:2691-6.

34. Boden SD, Davis DO, Dina TS, Patronas NJ, Wiesel SW. Abnormal magneticresonance scans of the lumbar spine in asymptomatic subjects. A prospective investigation. J Bone Joint Surg Am.1990; 72:403-8.
35. Roberts S, Evans EH, Kletsas D, Jaffray DC, Eisenstein SM. Senescence in human intervertebral discs. Eur Spine J. 2006; 15(Suppl 3):312-16.
36. Coventry MB, Ghormley RK, Kernohan JW. The intervertebral disc: its microscopic anatomy and pathology: Part I. Anatomy, development, and pathology. J Bone Joint Surg Am. 1945; 27:105-12.
37. Coventry MB, Ghormley RK, Kernohan JW. The intervertebral disc: its microscopic anatomy and pathology: Part II. Changes in the intervertebral disc concomitant with age. J Bone Joint Surg Am. 1945; 27:233-47.
38. Coventry MB, Ghormley RK, Kernohan JW. The intervertebral disc: its microscopic anatomy and pathology: Part III. Pathological changes in the intervertebral disc. J Bone Joint Surg Am. 1945; 27:460-74.
39. Miller JA, Schmatz C, Schultz AB. Lumbar disc degeneration: correlation with age, sex, and spine level in 600 autopsy specimens. Spine. 1988; 13:173-8.
40. Roberts S, Urban JP, Evans H, Eisenstein SM. Transport properties of the human cartilage endplate in relation to its composition and calcification. Spine. 1996; 21:415-20.
41. Stokes IA, Iatridis JC. Mechanical conditions that accelerate intervertebral disc degeneration: overload *versus* immobilization. Spine. 2004; 29:2724-32.
42. Setton LA, Chen J. Mechanobiology of the intervertebral disc and relevance to disc degeneration. J Bone Joint Surg Am. 2006; 88(Suppl 2):52-7.
43. Adams MA, McNally DS, Wagstaff J, Goodship AE. Abnormal stress concentrations in lumbar intervertebral discs following damage to the vertebral bodies: a cause of disc failure? Eur Spine J. 1993; 1:214-21.

44. Lotz JC, Ulrich JA. Innervation, inflammation, and hypermobility may characterize pathologic disc degeneration: review of animal model data. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(Suppl 2):76-82.
45. Lotz JC. Animal models of intervertebral disc degeneration: lessons learned. *Spine.* 2004; 29:2742-50.
46. Key J, Ford L. Experimental intervertebral-disc lesions. *J Bone Joint Surg Am.* 1948; 30:621-30.
47. Alini M, Eisenstein SM, Ito K, *et al.* Are animal models useful for studying human disc disorders/degeneration? *Eur Spine J.* 2008; 17:2-19.
48. Iatridis JC, MacLean JJ, Roughley PJ, Alini M. Effects of mechanical loading on intervertebral disc metabolism *in vivo*. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(Suppl 2):41-6.
49. Hoogendoorn RJ, Wuisman PI, Smit TH, Everes VE, Helder MN. Experimental intervertebral disc degeneration induced by Chondroitinase ABC in the goat. *Spine.* 2007; 32:1816-25.
50. Hoogendoorn RJ, Helder MN, Kroeze RJ, Bank RA, Smit TH, Wuisman PI. Reproducible long-term disc degeneration in a large animal model. *Spine.* 2008; 33:949-54.
51. Kim KS, Yoon T, Li J, Park JS, Hutton WC. Disc degeneration in the rabbit: a biochemical and radiological comparison between four disc injury models. *Spine.* 2005; 30:33-7.
52. Colloca CJ, Keller TS, Moore RJ, Harrison DE, Gunzburg R. Validation of a noninvasive dynamic spinal stiffness assessment methodology in an animal model of intervertebral disc degeneration. *Spine.* 2009; 34:1900-5.
53. Rousseau MA, Ulrich JA, Bass EC, Rodriguez AG, Liu JJ, Lotz JC. Stab incision for inducing intervertebral disc degeneration in the rat. *Spine.* 2007; 32:17-24.

54. Fazzalari NL, Costi JJ, Hearn TC, *et al.* Mechanical and pathologic consequences if induced concentric anular tears in an ovine model. *Spine*. 2001; 26:2575-81.
55. Masuda K, Aota Y, Muehleman C, *et al.* A novel rabbit model of mild, reproducible disc degeneration by an anulus needle puncture: correlation between the degree of disc injury and radiological and histological appearances of disc degeneration. *Spine*. 2005; 30:5-14.
56. Sobajima S, Kompel JF, Kim JS, *et al.* A slowly and reproducible animal model of intervertebral disc degeneration characterized by MRI, X-Ray, and histology. *Spine*. 2004; 30:15-24.
57. Han B, Zhu K, Li F, *et al.* A simple disc degeneration model induced by percutaneous needle puncture in the rat tail. *Spine*. 2008; 33:1925-34.
58. Kroeber MW, Unglaub F, Wang H, *et al.* New *in vivo* animal model to create intervertebral disc degeneration and to investigate the effects of therapeutic strategies to stimulate disc regeneration. *Spine*. 2002; 27: 2684-90.
59. Omlor GW, nerlich AG, Wilke HJ, *et al.* A new porcine *in vivo* animal model of disc degeneration. *Spine*. 2009; 34:2730-39.
60. Silberberg R. Histologic and morphometric observations on vertebral bone of aging sand rats. *Spine*. 1988; 13:202-8.
61. Smith J, Walmsley R. Experimental incision of the intervertebral disc. *J Bone Joint Surg Br*. 1951; 33:612-25.
62. Sowa G, Vadalà G, Studer R, *et al.* Characterization of intervertebral disc aging: longitudinal analysis if a rabbit model by magnetic resonance imaging, histology, and gene expression. *Spine*. 2008; 33:1821-8.
63. Vialle EN, Vialle LR, Arruda AO, Riet RN, Krieger AB. Análise radiológica da degeneração discal experimental em coelhos. *Rev Bras Ortop*. 2009; 44:313-9.

64. Smit TH. The use of a quadruped as an *in vivo* model for the study of the spine - biomechanical considerations. *Eur Spine J.* 2002; 11:137-44.
65. Wilke HJ, Neller RS, Claes GL, Bergmann G. ISSLS Prize Winner: a novel approach to determine trunk muscle forces during flexion and extension. *Spine.* 2003; 28:2585-93.
66. Whitesides TE. Letter to the editor re: the effect of an interspinous implant on intervertebral disc pressures. *Spine.* 2003; 28:1906-7.
67. Jeevan D, Das K. Interspinous process devices for the treatment of lumbar degenerative disease. *Curr Orthop Prac.* 2009; 20:232-7.
68. Anderson PA, Tribus CB, Kitchel SH. Treatment of neurogenic claudication by interspinous decompression: application of the X STOP device in patients with lumbar degenerative spondylolisthesis. *J Neurosurg Spine.* 2006; 4:463-71.
69. Richards JC, Majumdar S, Lindsey DP, Beaupré GS, Yerby SA. The treatment mechanism of an interspinous process implant for lumbar neurogenic intermittent claudication. *Spine.* 2005; 30:744-9.
70. Wilke HJ, Drumm J, Häussler K, Mack C, Steudel WI, Kettler A. Biomechanical effect of different lumbar interspinous implants on flexibility and intradiscal pressure. *Eur Spine J.* 2008; 17:1049-56.
71. Lafage V, Gangnet N, SÉNÉgas J, Lavaste F, Skalli W. New interspinous implant evaluation using an *in vitro* biomechanical study combined with a finite-element analysis. *Spine.* 2007; 32:1706-13.
72. Miller MD. *Review of Orthopedics.* 4^a ed. Philadelphia: Saunders; 2004. p. 129.
73. Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas.* 1960; 20:37-46.
74. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977; 33:159-74

75. Pritzker KP. Animal models for osteoarthritis: processes, problems and prospects. *Ann Rheum Dis.* 1994; 53:406-20.
76. Goel VK, Panjabi MM, Patwardhan AG, Dooris AP, Serhan H. Test protocols for evaluation of spinal implants. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88:103-9
77. Kroeber M, Unglaub F, Guehring T, *et al.* Effects of controlled dynamic disc distraction on degenerated intervertebral discs. *Spine.* 2005; 30:181-7.
78. Guehring T, Omlor GW, Lorenz H, *et al.* Disc distraction shows evidence of regenerative potential in degenerated intervertebral discs as evaluated by protein expression, magnetic resonance imaging, and messenger ribonucleic acid expression analysis. *Spine.* 2006; 31:1658-65.

9 APÊNDICE