FERNANDA DE CASTRO STIEVANI

Desenvolvimento de protocolo de reabilitação no período pós-
operatório inicial de artroscopia em equinos

São Paulo

2014

FERNANDA DE CASTRO STIEVANI

Desenvolvimento de protocolo de reabilitação no período pós-operatório inicial de artroscopia em equinos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Luis Cláudio Lopes Correia da Silva

São Paulo
2014

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.3015
FMVZ

Stievani, Fernanda de Castro
Desenvolvimento de protocolo de reabilitação no período pós-operatório inicial de
artroscopia em equinos / Fernanda de Castro Stievani. -- 2014.
91 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2014.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Luis Cláudio Lopes Correia da Silva.

1. Reabilitação. 2. Crioterapia. 3. Marcadores inflamatórios. 4. Artroscopia. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Desenvolvimento de protocolo de reabilitação no período pós-operatório inicial de artroscopia em equinos", protocolado sob o nº 2580/2012, utilizando 20 (vinte) cavalos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luis Claudio Lopes Correa da Silva, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 11/4/2012.

We certify that the Research "Development of a rehabilitation protocol for initial postoperative period of arthroscopy in horses", protocol number 2580/2012, utilizing 20 (twenty) horses, under the responsibility Prof. Dr. Luis Claudio Lopes Correa da Silva, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 4/11/2012.

São Paulo, 1º de julho de 2014.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fone: + 55 11 3091-7671/7676/0904
Fax: +55 11 3032-2224
E-mail: ceuvet@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: STIEVANI, Fernanda de Castro

Título: Desenvolvimento de protocolo de reabilitação no período pós-operatório inicial de artroscopia em equinos

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Clínica Cirúrgica Veterinária da
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São
Paulo para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha família que sempre, em cada encontro, me encheu de amor, esperança e confiança de que com meu esforço eu chegaria lá.

Aos equinos que participaram desse estudo, que mesmo tão jovens e desconfiados colaboraram para que eu aplicasse todas as técnicas e medidas necessárias com êxito. Que eles possam desfrutar dos resultados deste trabalho.

E aos grandes amigos, que estão ao meu lado, há anos, a cada conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me proteger e me iluminar em cada escolha que faço.

Aos meus pais, Mara e Alexandre, que se mostraram ainda mais presentes na minha vida, nesta etapa, e por torcerem tanto por mim. Obrigada, por cada palavra de incentivo e por festejarem em todos os pequenos passos que dou rumo aos meus sonhos. Amo vocês!!

Aos meus irmãos que tanto amo. À minha irmã, Marcela, por insistir em me mostrar que a vida pode ser mais leve e por encher minha vida de alegria. E ao meu irmão Conrado, que não pode estar aqui, mas sei que torce por mim e sente tanto a minha falta quanto eu sinto a dele. Obrigada Con, pela complicidade, amor sem fim e amizade. Ah e por tantos abstracts corrigidos, muitos ainda virão!

À minha avó Hilda (em memória), que com certeza representou com maestria todos os avós que não conheci, com a sua sabedoria e carinho. Obrigada por ser um exemplo de mulher na minha vida. Que eu consiga ter o entusiasmo que teve para ensinar!

Aos meus tios, Melânia e Mauro, por manterem vivas as memórias da família. Obrigada pelos elogios, incentivos, cartas e as inúmeras demonstrações de carinho. Eu os amo muito!

Ao Professor Luis, meu orientador, por me conceder essa oportunidade ímpar. Poder acompanhar a rotina do HOVET-USP e o senhor operando, me ensinou muito mais do que a pesquisa. O senhor é um grande e admirável exemplo de cirurgião.

À Professora Raquel, por me ceder o laboratório de Lípidos para os testes laboratoriais, pela análise estatística e por sempre saber como resolver um problema.

Aos Prof. Wilson, André, Carla e Rodrigo pela gostosa convivência no Hospital e por sempre me atenderem quando necessitei.

À Thais, por me ajudar com todos os testes laboratoriais e por me inserir no gigante e desconhecido mundo dos biomarcadores. Obrigada, querida, por me ensinar, incentivar e ajudar com tanto bom-humor e otimismo.

Aos funcionários do Hovet-USP, Marcos, Henrique, Cícero, Gervásio e Rosendo por se desdobrarem para me ajudar com alegria, sempre que precisei.

Aos Professores da Universidade Estadual de Londrina, Cezar Dearo e Julio Lisbôa, por serem grandes exemplos de profissionais e educadores. Obrigada por me iniciarem no mundo da clínica e cirurgia de grandes animais e na pesquisa.

À amiga Ana Carol, que torce tanto pelas minhas conquistas e se mostra presente, mesmo a muitas milhas de distância.

À amiga Priscilla, por manter minha sanidade mental com as ligações de domingo. E à amiga Danielle, pelas consultas homeopáticas em cinco minutos.

Às amigas, Cristina e Marilene, que formaram, comigo e com os outros barbas, uma família muito alegre, unida e cúmplice, sentirei saudades! E à querida amiga, Fernanda pela incrível dedicação em me ajudar com o projeto inclusive em finais de semana e feriados. Sem a sua ajuda não teria sido possível, obrigada!

Ao Kaio, por ser um grande amigo, do começo ao fim do mestrado. Obrigada, por me ajudar a passar por cada etapa com mais confiança, companhia e diversão. Estarei aqui para o que precisar.

Aos queridos, Paulo, Maria Letícia, Talissa, Júlio, Henrique, Mailson, Daiane, André e Cynthia. Amigos que fiz durante esses anos de mestrado, mas que permanecerão comigo. Obrigada por tornarem minha rotina prazerosa, divertida, alegre, com muito trabalho, mas com muitos momentos de descontração.

Aos residentes do HOVET-USP (2012, 2013, 2014), por me ajudarem tanto com as colheitas, jejuns, cirurgias e afins...

À FAPESP pela bolsa e pelo auxílio pesquisa, sem os quais não seria possível realizar um trabalho de qualidade.

**“ Jovem, e vai para um mundo
de luta, horror e maldade,
deixando um outro, profundo,
da sua ausência – a saudade!”**

[João da Ega – 1972]

RESUMO

STIEVANI, F.C. **Desenvolvimento de protocolo de reabilitação no período pós-operatório inicial de artroscopia em equinos.** [Development of a rehabilitation protocol for inicial postoperative period of arthroscopy in horses]. 2014. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

O presente estudo teve por objetivo avaliar protocolo de reabilitação para o período pós-operatório inicial de artroscopias visando diminuir a inflamação no local operado e aumentar a mobilidade articular. Foram utilizados 12 equinos (total de 20 articulações) encaminhados para artroscopia com diagnóstico de osteocondrite dissecante. Dessas, dez articulações receberam protocolo de reabilitação nos primeiros cinco dias do período pós-operatório. O protocolo consistiu em crioterapia, movimentação passiva da articulação e exercício controlado de baixa intensidade, além de uso sistêmico de anti-inflamatório. O outro grupo, também composto por dez articulações, recebeu apenas a terapia utilizada rotineiramente no HOVET-USP, consistido de repouso em baia e anti-inflamatório. As articulações foram avaliadas quanto à circunferência em centímetros, ângulo de flexão, termografia, grau de claudicação. Amostras de líquido sinovial foram coletadas imediatamente antes do procedimento cirúrgico (D1), após 48h (D3) e após 96h (D5) para análise física, qualidade do coágulo de mucina, e quantificação de biomarcadores (IL-1, IL-6 e IL-10, PGE₂ e SAA). As análises de exame de claudicação, circunferência articular, ângulo de flexão articular e termografia não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, nem entre os diferentes dias do mesmo grupo. Na análise do líquido sinovial, a cor e o aspecto apresentaram piora do D1 para o D3, de amarelo claro para avermelhado e de límpido para turvo, respectivamente, nos dois grupos. No entanto, no grupo tratado houve melhora do D3 para o D5, tanto para cor (de avermelhado para maioria xantocrômica e amarela) como aspecto (de maioria turva para ligeiramente turva). No grupo controle os líquidos permaneceram sem alteração em cor e aspecto de D3 para D5, e nas comparações entre os grupos não houve diferença para D1, D3 e D5. A viscosidade do líquido sinovial no grupo controle diminuiu significativamente quando comparados D1, D3 e D5. Já no grupo tratado a diminuição da

viscosidade só foi observada quando comparados D1 e D5. O coágulo de mucina apresentou piora de D1 para D3 no grupo controle, com elevação não significativa de D3 para D5, enquanto que para o grupo tratado não houve diferença significativa de D1 para D3 e de D3 para D5, quando comparados o D5 dos dois grupos, o tratado obteve melhor qualidade. As concentrações de interleucina nas amostras não forneceram dados suficientes para análise. Na análise das concentrações de PGE2 não houve diferença entre os grupos nos diferentes momentos, ocorrendo elevação de D3 para D5 em ambos os grupos, porém, no grupo tratado não há diferença entre D1 e D5. Já para SAA os grupos apresentaram comportamento similar de resposta, com elevação de D1 para D3 e queda de D3 para D5, porém menos acentuado no grupo tratado, o que levou a diferença entre os grupos em D3. Pode-se concluir, que o protocolo de reabilitação, apesar de não gerar diferença significativa para as avaliações de exame físico dos animais, proporcionou melhor qualidade de líquido sinovial quanto a cor, aspecto, viscosidade e precipitado de mucina, além de evidenciar menores elevações nas concentrações de marcadores inflamatórios no líquido sinovial durante o período estudado.

Palavras-chave: Reabilitação. Crioterapia. Marcadores inflamatórios. Artroscopia.

ABSTRACT

STIEVANI, F.C. **Development of a rehabilitation protocol for initial postoperative period of arthroscopy in horses** [Desenvolvimento de protocolo de reabilitação no período pós-operatório inicial de artroscopia em equinos]. 2014. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

The purpose of this study was to evaluate a rehabilitation protocol for the initial postoperative period of metatarsophalangeal, metacarpophalangeal and tarsocrural's arthroscopies, which seeks to, minimize local inflammation, diminish swelling, promote better joint range of motion and pain relief during such period. Twelve horses participated in this study - amounting to 20 joints - with disseminated osteochondritis diagnosis. The first group was formed by ten joints, which were treated under rehabilitation protocol for the first 5 days as from the surgery (Treated group). The rehabilitation protocol consisted of cryotherapy, passive range of motion, low intensity exercise and non-steroidal anti-inflammatory drug. The second group – also formed of ten joints – received the standard HOVET-USP therapy, which consists of rest and non-steroidal anti-inflammatory drug. Both groups were treated with the same non-steroidal anti-inflammatory drugs. The joints were measured for circumference, maximal flexion angle, thermography, and lameness score on the day before the surgery (D0) and during the first four days after the surgery. Synovial fluid samples were collected immediately before surgery (D1), within 48 hours (D3), and within 96 hours from the surgery (D5). The analysis evaluated gross appearance (color and aspect), viscosity and mucin clot quality, as well as biomarkers (IL-1, IL-6, IL-10, PGE2, and SAA) quantification. Lameness examination, joint circumference, flexion angle and thermography evaluation were not significantly different between groups. In synovial fluid analyses de color and aspect have worsen from D1 (clear light yellow) to D3 (turbid hemorrhagic) in both groups. On treated group color and aspect improved from D3 (turbid hemorrhagic) to D5 (xanthochromic and yellow slightly turbid). On treated group there was no difference between D3 and D5. When the groups were compared, none significant differences was seen. The fluid viscosity of control group had

significant decrease from D1, to D3 and from D1 and D5. In treated group this viscosity decrease was only seen between D1 and D5. The mucin clot formation worsened when D1 e D3 of control group was compared and remains similar from D3 to D5. In treatment group there were no differences when compared D1 with D3 and D3 with D5. The comparison between groups of D5 has shown treated group improved clot. The interleukin couldn't be measured on sufficient number of samples for the statistics method. There were no differences between groups on all moments. The PGE₂ response was similar in both group with a rise on concentration from D3 to D5. In treated group D1 was similar to D5. This results suggests more evident inflammatory response in the control group. For the SAA the groups have shown similar responses, with an increase from D1 to D3 and decrease from D3 to D5. The response on treated group was less intense and demonstrates lower values in D3 when compared with D3 control group. It was concluded with this study that rehabilitation protocol improved synovial fluid analyses for, color, aspect, viscosity and mucin clot. It even had promoted lower concentrations of inflammatory biomarkers for the treated group during the period.

Keywords: Cryotherapy. Rehabilitation. Arthroscopy. Inflammatory biomarkers.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OCD	osteocondrite dissecante
SAA	amilóide Sérica A
PGE ₂	prostaglandina E ₂
IL-1 β	interleucina - 1 β
IL-6	interleucina - 6
IL-10	interleucina - 10
MMP	metaloprotease
TNF- α	fator de necrose tumoral - α
IV	intravenoso
TO ₂	tensão de oxigênio
h	horas
nm	nanômetro
pg	picogramas
mL	mililitros
μ g	microgramas
Kg	kilogramas
mg	miligramas
g	força centrífuga
cm	centrímetros
LPS	lipopolissacarídeo
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
Anti-igG	Anti-imunoglobulina - G
FC	frequência cardíaca
FR	frequência respiratória
TR	temperatura retal
L S	líquido sinovial
MCF	metacarpofalangeana
MTF	metatarsofalangeana
TT	tibiotársica
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
SCGA	Serviço de Cirurgia de Grandes Animais
USP	Universidade de São Paulo
HOVET	Hospital Veterinário
CS	condroitin sulfato
HA	ácido hialurônico
Méd	média
Máx	máxima
Mín	mínima
MP	movimentação passiva
Crio	crioterapia

LISTA DE SÍMBOLOS

°	graus
%	porcentagem
α	alfa
β	beta
>	maior que
<	menor que
°C	graus <i>Celsius</i>
/	por
μ	micro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	FISIOLOGIA DO AMBIENTE ARTICULAR.....	19
2.2	RESPOSTA ARTICULAR À INJÚRIA.....	21
2.3	BIOMARCADORES ARTICULARES.....	22
2.3.1	Citocinas	24
2.3.2	Eicosanóides	25
2.3.3	Ácido hialurônico	26
2.3.4	Condroitin sulfato.....	26
2.3.5	Amilóide sérica A (SAA).....	27
2.4	OSTEOCONDRITE DISSECANTE.....	28
2.4.1	Classificação.....	28
2.4.2	Incidência	28
2.4.3	Etiopatogenia	29
2.4.4	Diagnóstico	31
2.4.5	Tratamento	33
2.5	REABILITAÇÃO DE CIRURGIAS ARTICULARES.....	34
2.5.1	Crioterapia.....	36
2.5.2	Movimentação passiva.....	37
2.5.3	Exercício controlado	38
3	OBJETIVOS	40
4	MATERIAL E MÉTODO	41
4.1	ARTICULAÇÕES ESTUDADAS	41
4.2	PROCEDIMENTOS ANESTÉSICO, CIRÚRGICO E PÓS-OPERATÓRIO.....	41
4.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	43
4.4	PROTOCOLO PARA TERAPIA E REABILITAÇÃO	45
4.4.1	Crioterapia.....	45
4.4.2	Movimentação passiva.....	46
4.4.3	Exercício controlado	47
4.5	MÉTODO DE AVALIAÇÃO.....	47

4.5.1	Grau de claudicação	48
4.5.2	Circunferência da articulação	48
4.5.3	Ângulo de flexão	48
4.5.4	Avaliação termográfica	49
4.5.5	Análise física do líquido sinovial	50
4.5.6	Análise da qualidade do precipitado de mucina	53
4.5.7	Quantificação de PGE₂	54
4.5.8	Quantificação da SAA	54
4.5.9	Quantificação de IL-1β	55
4.5.10	Quantificação de IL-6	56
4.5.11	Quantificação de IL-10	56
4.6	TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS	57
5	RESULTADOS	58
5.1	GRAU DE CLAUDICAÇÃO	59
5.2	CIRCUNFERÊNCIA DA ARTICULAÇÃO	60
5.3	ÂNGULO DE FLEXÃO	60
5.4	ANÁLISE TERMOGRÁFICA	61
5.5	ANÁLISE FÍSICA DO LÍQUIDO SINOVIAL	62
5.5.1	Cor	62
5.5.2	Aspecto	64
5.5.3	Viscosidade	65
5.6	QUALIDADE DO PRECIPITADO DE MUCINA	66
5.7	QUANTIFICAÇÃO DE PGE₂	67
5.8	QUANTIFICAÇÃO DE SAA	68
5.9	QUANTIFICAÇÃO DE IL-1β, IL-6 E IL-10	69
6	DISCUSSÃO	70
7	CONCLUSÃO	79
	REFERÊNCIAS	80
	APÊNDICES	90

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a indústria do esporte equestre movimenta elevados investimentos, tanto pessoais quanto de instituições. Os equinos são considerados atletas por natureza, apresentando capacidade pulmonar, cardíaca e musculoesquelética muitas vezes superior do que sua necessidade em repouso. Há anos, estudos objetivam melhorar resultados de desempenho atlético e prevenir o aparecimento de lesões e, se houver, instituir o tratamento mais efetivo para o retorno ao esporte.

As lesões musculoesqueléticas são as que mais acometem o cavalo atleta, e elas apresentam longos períodos de convalescência até que o animal retorne à atividade esportiva. Do sistema locomotor, as doenças articulares são largamente estudadas, por apresentarem alta incidência em equinos. A cartilagem articular ainda é a estrutura que gera maior número de publicações, mas também maior dúvida a cada publicação. Almeja-se encontrar um meio de, mesmo com presença de doença articular, minimizar a lesão na cartilagem, e se esta for inevitável, instituir uma terapia e reabilitação adequadas para a formação de tecido cicatricial com boa qualidade.

Algumas doenças articulares possuem a indicação de tratamento cirúrgico, como é o caso da osteocondrite dissecante. Nesses casos pode haver maior ou menor comprometimento das estruturas articulares, e o procedimento cirúrgico pode ser mais invasivo, sendo necessária curetagem de osso subcondral e até realização de microfraturas no local da lesão.

Em humanos que são submetidos ao tratamento cirúrgico das articulações, institui-se invariavelmente um protocolo de fisioterapia para promover melhor cicatrização da lesão, em um menor período de tempo. A reabilitação objetiva minimizar a inflamação e a perda da função temporária ou permanente da estrutura operada, além disso, proporcionar maior conforto ao paciente, com a diminuição da dor durante o período de reabilitação. Em equinos, esta prática ainda é subutilizada, sendo mais empregada de forma preventiva durante treinamento ou na reabilitação de lesões musculares e tendíneas.

O uso de técnicas de reabilitação em cirurgias articulares ainda carece de informações científicas sobre a aplicação em equinos. Por esse motivo, o presente estudo buscou avaliar um protocolo de reabilitação a ser aplicado durante o período pós-operatório inicial de cirurgias artroscópicas em equinos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Serão abordados temas indispensáveis à interpretação dos resultados e da discussão do presente trabalho como fisiologia articular, resposta articular à injúria, biomarcadores articulares, osteocondrite dissecante e reabilitação de cirurgias articulares.

2.1 FISIOLOGIA DO AMBIENTE ARTICULAR

As articulações do tipo diartroses são sinoviais e móveis, o que permite a movimentação do rígido esqueleto. São compostas pelo osso subcondral, cartilagem articular, líquido sinovial, membrana sinovial, cápsula articular fibrosa e ligamentos adjacentes. O ambiente articular permanecerá saudável enquanto seus componentes estiverem em equilíbrio (FRISBIE, 2006).

A membrana sinovial é uma estrutura celular, vascularizada e innervada. A princípio acreditava-se que a inervação da articulação estivesse apenas na cápsula articular, porém Bowker et al. (1993) encontraram inúmeras fibras nervosas reativas, por imunohistoquímica, na membrana sinovial de equinos. Houve imunorreatividade para os neuropeptídeos, substância P, neuroquinina A e neuropeptídeo Y, principalmente próximo aos vasos sanguíneos. Esta proximidade com a circulação pode ter interferência direta no processo inflamatório e na estimulação da migração de substâncias inflamatórias para a articulação.

As funções da membrana sinovial são nutrir a articulação através do líquido sinovial, realizar fagocitose de materiais estranhos à articulação através dos sinoviócitos tipo A, e secretar proteínas através dos sinoviócitos tipo B. A membrana sinovial exerce um importante papel para o equilíbrio articular, pois através da secreção de proteínas, ela influenciará no metabolismo ou catabolismo das estruturas articulares (FRISBIE, 2006). Na presença de inflamação, devido a um trauma, ou doença articular, a permeabilidade vascular da membrana sinovial aumenta, e permite maior entrada de proteínas

na articulação, o que causará o desequilíbrio do ambiente articular e principalmente da cartilagem articular (MCILWRAITH, 2006).

O líquido deve ser amarelo claro, translúcido, e com alta viscosidade. Sua viscosidade é medida pelo tamanho em centímetros do filamento que se forma na extremidade da seringa ou nas pontas dos dedos. O filamento normal possui de cinco a sete centímetros, antes que se separe (JONES et al., 1993). A qualidade do líquido sinovial também pode ser estimada pelo teste de lubrificação, medindo-se a μ_{statica} e a $\mu_{\text{cinética}}$ do fluido, quando comprimido entre duas estruturas, o resultado desse teste é comparado a substâncias controle, como soro bovino (SCHMIDT, et.al. 2007). O ácido hialurônico é o maior responsável pela lubrificação articular, essa função pode ser prejudicada, se as concentrações de ácido hialurônico estiverem baixas, ou se estiver com baixo peso molecular (ANTONACCI et al. 2012).

Outra análise fácil que permite quantificar, a grosso modo, a quantidade de ácido hialurônico polimerizado no LS é a qualidade do precipitado de mucina, podendo ser avaliado em um bom coágulo, até totalmente deficiente. Em articulações com artrite a qualidade diminui (STEEL, 2008).

A cartilagem articular é responsável por parte da absorção do impacto que decairá sobre a articulação durante o movimento, sendo do tipo hialina. A fibra de colágeno mais importante da cartilagem articular, que representa cerca de 90% do valor total, é tipo II. As fibras e fibrilas de colágeno se entrelaçam por toda a matriz cartilaginosa, e entre essas fibras encontram-se os proteoglicanos e o ácido hialurônico (MCILWRAITH, 2006).

Os proteoglicanos são formados por um núcleo proteico, e por cadeias laterais de glicosaminoglicanos (GAG). Os proteoglicanos formam grandes agregados que se chamam agregcan. Os GAG mais presentes no monômero agregcan são o condroitin-sulfato e keratan-sulfato, que possuem cargas negativas.

Nas regiões do agregcan onde os GAG se encontram em grande quantidade, há uma força de repulsão entre eles. Essa força de repulsão, devido às cargas negativas, gera a capacidade da cartilagem articular de se expandir, o que possibilita a entrada de água na matriz e permite que a cartilagem articular receba carga durante o movimento sem sofrer lesão (FRISBIE, 2006).

Em um ambiente articular saudável, a síntese de proteoglicanos, pelos condrócitos, e sua quebra pelas proteases (influenciadas por citocinas), está em perfeito equilíbrio. A interação entre quebra e reposição é chamada *turnover*, e nos proteoglicanos ela ocorre a cada 300 dias, em média. O *turnover* do colágeno ocorre a cada 120 anos, em cães (MCILWRAITH, 2005; FRISBIE, 2006). Com base nesses dados, alguns autores afirmam que lesões iniciais em proteoglicanos são reversíveis, porém quando o dano atinge as fibras de colágeno, ele é irreversível (CATTERALL et al., 2010).

2.2 RESPOSTA ARTICULAR À INJÚRIA

Quando a articulação sofre alguma injúria mecânica, seja um trauma externo, uma fragmentação da cartilagem ou um procedimento cirúrgico, ocorre resposta biológica intra-articular, tanto tecidual, quanto celular e molecular (SCHENKER et al., 2014). Após trauma agudo a articulação passa por três fases que se sobrepõem e que podem durar até duas semanas após a injúria (Figura 1). A fase inicial é caracterizada por morte celular, inflamação e degradação da cartilagem. Na fase intermediária ocorre um equilíbrio entre os processos catabólicos e anabólicos e, em seguida, na fase tardia, com limitada formação de matriz e reparo, há ativação dos fatores de crescimento (ANDERSON et al., 2011).

Figura 1 - Esquema de resposta articular à injúria

Fonte: Adaptado (ANDERSON et al., 2011)

Nota: Esquema mostra a resposta articular à lesão aguda (dia zero). A fase inicial (em vermelho) é a do processo catabólico, inflamação, apoptose celular e degradação cartilágnea. A fase tardia, em azul, é quando ocorre o processo anabólico da articulação, com redução no catabolismo e aumento na síntese de matriz cartilágnea. Entre elas há uma fase intermediária em que ocorre o equilíbrio entre os processos catabólico e anabólico.

Com o aumento da permeabilidade vascular da membrana sinovial, na fase inicial após a injúria, ocorrerá migração intra-articular de células inflamatórias, mediadores inflamatórios periféricos e proteínas que interferirão no metabolismo. Os sinoviócitos têm capacidade de produzir uma variedade de substâncias, tanto catabólicas quanto anabólicas. Ainda na fase inicial ocorre a produção de substâncias pró-inflamatórias, como as citocinas, eicosanóides e metaloproteases (MMP) (MCILWRAITH, 2006).

A presença de citocinas em níveis elevados (IL-1 β) funciona como um sinalizador molecular para aumentar o recrutamento de células inflamatórias para o local. Outras substâncias pró-inflamatórias são o fator de necrose tumoral (TNF α), as enzimas de degradação de matriz cartilaginosa e de proteoglicanos (metaloproteases (MMP) e as agrecanases), e os radicais livres (óxido nítrico) (FLUGGE; MILLER; PETILLO, 1999; OLSON et al., 2014). Todos eles juntos contribuem para perpetuar o processo inflamatório intra-articular, e se não for estabelecido tratamento adequado, a inflamação pode levar à

degeneração permanente da cartilagem e consequentemente à osteoartrite (ANDERSON et al., 2011).

Quando há lesão à matriz cartilágnea, ela é capaz de promover um reparo tecidual, porém acredita-se que o novo tecido formado tenha qualidade inferior à cartilagem intacta. Kulmala et al. (2012) compararam por microtomografia a cartilagem intacta à cartilagem de reparo espontâneo, após um ano da lesão osteocondral experimental, observando a diminuição da concentração de glicosaminoglicanos, orientação anormal da rede de fibrilas de colágeno e diminuição da densidade do osso subcondral no tecido de reparo.

Assim como as MMP, moléculas que degradam a cartilagem, o ácido hialurônico, o condroitin sulfato e o colágeno se encontram em maiores concentrações em articulações com artrite. Fatores indicam que nas articulações doentes, as metaloproteases, juntamente com radicais livres são capazes de despolimerizar o ácido hialurônico e destruir os constituintes da cartilagem. Acredita-se que a degradação do ácido hialurônico seja a maior causa de artrite (FLUGGE et al., 1999).

Os componentes que chegam pela vascularização da membrana sinovial, ou que são produzidos pelos sinoviócitos, irão para o líquido sinovial, e por difusão chegarão a todas as estruturas articulares. O líquido sinovial de uma articulação inflamada apresentará aumento da sua celularidade ($>1 \times 10^9/L$) e diminuição da viscosidade, devido à quebra do ácido hialurônico. A precipitação do coágulo de mucina se apresentará deficiente quanto maior for a despolimerização do ácido hialurônico. Quando a artrite é traumática há hemartrose, portanto, o aspecto do líquido sinovial será avermelhado. Se a lesão traumática for crônica, o aspecto tende a estar de xantocrômico (alaranjado) para amarelo, indicando um sangramento prévio. A xantocromia do líquido sinovial é a presença de pigmentos advindos da quebra da hemoglobina (STEEL, 2008).

Apesar de muitas análises do líquido sinovial já serem consagradas, atualmente, muitos estudos estão sendo conduzidos para investigar a função das biomoléculas na articulação. O intuito é utilizá-las como novos e mais específicos marcadores de inflamação, degradação ou síntese da cartilagem articular (GRAUW et al., 2009; CONNOLLY et al., 2012; CATTERALL et al., 2010).

2.3 BIOMARCADORES ARTICULARES

Mesmo com a melhora na qualidade e facilidade de acesso aos diferentes métodos diagnósticos em equinos, muitas vezes ainda faltam instrumentos para se identificar precocemente a doença articular, ou ainda para estabelecer em que fase da evolução da doença a articulação se encontra. Apenas pelo exame clínico, exame físico e celular do líquido sinovial e exames de imagem é difícil estabelecer um tratamento adequado e prognóstico preciso (BERTONE; PALMER; JONES, 2001).

Por esse motivo, existe a necessidade crescente de estabelecer quais componentes articulares têm potencial para serem biomarcadores, ou seja, através das suas concentrações, serem capazes de informar o grau de inflamação e comprometimento das estruturas articulares (MCILWRAITH, 2005).

2.3.1 Citocinas

As citocinas pró-inflamatórias de maior importância são o fator de necrose tumoral (TNF α), a interleucina 1 (Il-1) e a interleucina 6 (Il-6). Elas são classificadas como marcadores indiretos, ou seja, não derivam primariamente das estruturas da articulação, mas estão diretamente envolvidas em seu metabolismo (MCILWRAITH, 2005). Essas citocinas estimulam a liberação de MMP, enzimas responsáveis pela quebra da matriz cartilágnea (KOBAYASHI et al., 2005).

Estudos mostram que o TNF α esteve presente em maiores concentrações nas articulações com artrite aguda grave. Essa citocina e as demais pró-inflamatórias estiveram altamente relacionadas ao aumento de leucócitos no líquido, sugerindo que essas células tenham papel importante na

liberação de citocinas para o ambiente articular (BERTONE; PALMER; JONES, 2001).

A Il-1 exerce múltiplos efeitos sobre o condrócito. Um deles é diminuir a síntese de importantes componentes da matriz, como o agrecan e o colágeno tipo II. Outro importante efeito é que induz a expressão de enzimas responsáveis pela degradação da matriz, como a collagenase 1 (MMP-1), estromelisina 1 (MMP-3), agrecanase (ADAMTS-4) e collagenase 3 (MMP-13). Contribui ainda para a manutenção da inflamação, por estimular a produção de outra citocina inflamatória, a Il-6 (AIGNER et al., 2006).

Um estudo conduzido por Bertone et. al. (2001) sugeriu que a Il-6 seja um bom marcador para doença articular, uma vez esteve presente apenas nas articulações doentes, independente do estágio da doença. Esta citocina não foi encontrada nas articulações saudáveis.

As citocinas pró-inflamatórias também estão relacionadas à indução de apoptose dos condrócitos após injúria aguda na articulação. Quanto maior a concentração desses componentes após a lesão, maior é o número de condrócitos não viáveis ao redor da lesão, aumentando as chances de desenvolver degeneração da cartilagem e consequentemente osteoartrite da articulação (OLSON et al., 2014).

Em estudos com artrite reumatoide em humanos, foram encontradas citocinas com poder anti-inflamatório na articulação, são elas interleucina 10 (IL-10), interleucina 4 (IL-4) e interleucina 13 (IL-13). Acredita-se que a IL-10 iniba a liberação dos fatores pró-inflamatórios comentados acima. (NEUMANN, et al., 2002).

2.3.2 Eicosanóides

Dentre os eicosanoides, o mais estudado nas artrites é a PGE₂. Acredita-se que tenha potencial pró-inflamatório e pró-nociceptivo nas articulações (GRAW; LEST; WEEREN, 2011). Foi denominada como excelente marcador em um estudo conduzido por Bertone, Palmer e Jones (2001). Concentrações de PGE₂, no líquido sinovial, acima de 63,5 pg/mL sugerem

doença articular aguda. Concentrações acima de 22,5 pg/mL indicaram qualquer doença articular. Foi considerado um marcador fraco para doença articular crônica.

2.3.3 Ácido hialurônico

Quando a membrana sinovial está inflamada, há maior produção desse componente pelos sinoviócitos e consequentemente maior liberação no líquido sinovial (MCILWRAITH, 2005). Por outro lado, com a inflamação, o aumento de radicais livres, óxido nítrico e oxigênios reativos, há despolimerização do ácido hialurônico estrutural da cartilagem articular, culminando na destruição e desintegração da matriz cartilaginosa (FLUGGE, 1999).

2.3.4 Condroitin sulfato

É um importante biomarcador para síntese de agrecan. Em equinos com osteocondrite dissecante, o epítipo CS-846 do condroitin sulfato, que é marcador de degradação, está significativamente aumentado em relação a articulações saudáveis. Foi possível, neste estudo, classificar como contendo fragmentação osteocondral, pelo aumento de CS-846, 79% das articulações doentes. (FRISBIE et al., 1999)

Machado et. al. (2012), demonstraram haver alteração no condroitin sulfato em articulações doentes de animais assintomáticos, diagnosticados com osteocondrite dissecante, sugerindo ser um bom biomarcador para avaliação e monitorização das doenças articulares.

2.3.5 Amilóide sérica A (SAA)

É uma proteína inflamatória de fase aguda. Quando há uma lesão, as citocinas produzidas pelas células do tecido lesionado estimularão os hepatócitos e outras células extra-hepáticas a produzirem uma série de proteínas, que são também responsáveis pela maioria dos sinais da inflamação e infecção. Dessas proteínas, a mais difundida e utilizada na medicina equina é o fibrinogênio. Porém, a SAA vem sendo estudada, por apresentar vantagem em relação ao fibrinogênio no diagnóstico da inflamação. A SAA apresenta rápida resposta à injúria e tem grande amplitude de concentração. Pode aumentar de 10 a 1000 vezes sua concentração sérica durante a fase aguda (JACOBSEN; ANDERSEN, 2007).

Jacobsen et al. (2009) comprovaram diferentes concentrações dessa proteína dependendo da extensão do procedimento cirúrgico realizado. Os procedimentos variaram de uma artroscopia unilateral para retirada de fragmento articular, até uma celiotomia para retirada de neoplasia ovariana. Participaram do experimento animais com parâmetros clínicos e hematológicos normais antes do procedimento. Nos dois grupos em que o procedimento cirúrgico gerou maior lesão tecidual, a SAA foi mais elevada do que o grupo das artroscopias. Em todos os grupos houve significativo aumento dessa proteína no primeiro dia de pós-operatório.

Outro estudo demonstrou o potencial da SAA como biomarcador articular. Após indução de sinovite aguda pela infiltração intra-articular de LPS foram mensurados os valores de leucócitos e SAA tanto no soro quanto no líquido sinovial. Observou-se um pico de liberação de SAA às 48 horas da aplicação, tanto no soro quanto no líquido sinovial, e ao quinto dia após a aplicação, os valores se aproximaram dos valores basais. As concentrações de SAA foram maiores quanto maior a dose de LPS infiltrado na articulação. Também foi observado que as concentrações de SAA no líquido sinovial não aumentaram em decorrência das artrocenteses. Todos esses fatores corroboraram a indicá-lo como um bom biomarcador articular de inflamação (JACOBSEN et al., 2006).

2.4 OSTEOCONDRITE DISSECANTE

A OCD é uma doença com elevada importância na medicina equina, pontos mais recentes e relevantes foram abordados sobre essa doença nos itens a seguir.

2.4.1 Classificação

A OCD é uma doença articular que se desenvolve durante o processo de ossificação endocondral. Sua etiologia ainda é pouco conhecida, mas muito se estuda a respeito. Essa afecção se enquadra no grupo das Doenças Ortopédicas do Desenvolvimento (DOD) e também no grupo de doenças denominado Condições Osteocondrais Juvenis (JOCC). Neste último não entram lesões que estejam relacionadas ao colapso osteocondral, como síndrome de wobbler, deformidades flexurais e deformidades angulares (DENOIX et al., 2013).

O termo osteocondrose na medicina veterinária representa um distúrbio no processo de ossificação endocondral. Quando esse distúrbio culmina em formação de fragmentos articulares livres ou parcialmente livres, a doença passa a denominar-se osteocondrite dissecante (WEEREN, 2006).

2.4.2 Incidência

A OCD apresenta elevada importância na medicina equina, pois sua prevalência pode chegar próxima a 35% em algumas raças, e levar a muitos prejuízos econômicos (WEEREN, 2006). Geralmente ocorre em equinos jovens, e muitas vezes as lesões são simétricas e bilaterais, podendo acometer várias articulações em um mesmo animal (YETHRUS; CARLSON; EKMAN, 2007). Em um estudo conduzido por Vos (2008), em cavalos alemães com

média de 4,5 anos de idade, a incidência de lesão radiográfica compatível com osteocondrite dissecante foi de 44,3%, sendo que 19% dos animais apresentaram alterações em mais de uma articulação.

As articulações tibiotársica (crista da tíbia, maléolo medial e cristas trocleares), femoropatelar (trócleas lateral e medial do fêmur e faceta lateral da patela), metacarpofalangeanas e metatarsofalangeanas (eminência dorsal da primeira falange e côndilos do terceiro metacarpiano ou metatarsiano) são as mais comumente acometidas pela doença (DOUGLAS, 2003).

A ocorrência é maior em raças de equinos que possuam taxas de crescimento maiores quando potros. Animais de uma mesma raça mais pesados ao nascimento, e com altas taxas de crescimento do terceiro ao quinto mês de vida, apresentam maiores chances de desenvolverem a doença (GEE et al., 2005).

2.4.3 Etiopatogenia

A etiopatogenia da doença ainda não é bem conhecida. Acredita-se que seja de origem multifatorial e que tanto a genética quanto fatores externos influenciem para o seu desenvolvimento. Devido à ocorrência em certos locais anatômicos específicos, sugere-se que a carga biomecânica juntamente com a junção osteocondral e osso subcondral imaturos estejam envolvidos para o aparecimento dessas lesões (DENOIX et al., 2013).

A hipótese é que as lesões são manifestações de fragilidade da junção osteocondral de algumas regiões, em animais jovens submetidos à carga. O impacto biomecânico interfere negativamente na ossificação endocondral, resultando em retenção de fragmentos de cartilagem que levarão às lesões osteocondrais. Os animais jovens apresentam uma camada profunda de cartilagem em proliferação e uma zona de ossificação pobre, incapaz de receber forças mecânicas de alta intensidade (Figura 2) (DENOIX et al., 2013).

Figura 2 - Corte histológico da junção osteocondral de um potro de 20 dias

Fonte: (DENOIX et al., 2013)

Nota: Lâmina fixada com hematoxilina e eosina, mostrando ao topo da imagem a cartilagem (roxo) e abaixo na imagem o osso subcondral (rosa). A camada mais profunda da cartilagem, caracterizada por condrócitos hipertróficos e a camada de ossificação com finas trabéculas ósseas formam uma zona mecanicamente fraca. 1. Cartilagem formada, 2. Zona de transformação, presença de condrócitos hipertróficos, 3. Zona de ossificação, 4. Zona de remodelamento ósseo.

Por ser uma doença com etiologia aparentemente multifatorial, existem outros fatores que podem influenciar no seu desenvolvimento. Acredita-se que possa haver perda de parte dos canais da cartilagem, responsáveis pelo suprimento sanguíneo e nutrição da cartilagem em desenvolvimento. Essa diminuição no suprimento sanguíneo, devido a ações biomecânicas locais, pode ajudar no desenvolvimento do fragmento articular (WEEREN, 2006).

A intensidade e regularidade do exercício realizado até o primeiro ano de vida também é um fator importante. Potros que receberam exercícios de alta intensidade até os 24 meses, apresentaram 14% mais chances de

desenvolverem a doença (WEEREN, 2006). Potros que permanecem em pastos muito amplos nos primeiros meses de vida, também apresentam maiores riscos de desenvolverem a doença, isso porque a intensidade de exercício é maior e os riscos de acidentes também são maiores. Já os potros que permanecem presos em baia e são soltos ocasionalmente em piquete também apresentam maiores chances de desenvolverem a doença. Este estudo demonstrou a importância de regularidade de exercício de moderada intensidade do nascimento aos seis meses de idade (LEPEULE et al., 2009).

Outros fatores, como dieta rica em energia, baixas concentrações de cobre, alta taxa de crescimento de algumas raças (genética) e hiperinsulinemia pós-prandial são associados ao desenvolvimento da doença em diversos estudos (MOHAMMED, 1990; REZENDE et al., 2000; WEEREN; KNAAP; FIRTH, 2003; STOCK; HAMANN; DISTL, 2006).

As lesões osteocondrais são muito dinâmicas até que o animal complete um ano de idade. Em um estudo conduzido com nove potros foi possível identificar, por meio de microtomografia computadorizada, diminuição da vascularização nos pontos onde houve ossificação endocondral deficiente e formação de novo centro de ossificação para reparo, após a ocorrência da lesão (OLSTAD et al., 2008).

2.4.4 Diagnóstico

Os sinais clínicos da doença muitas vezes demoram a aparecer, e os animais permanecem assintomáticos por anos, até que se inicie a vida esportiva. Os sinais clínicos, quando aparecem, podem ser apenas efusão da articulação acometida, com ou sem presença de claudicação (WEEREN, 2006). Por esse motivo, a OCD, muitas vezes, é diagnosticada nos exames pré-compra, em que são realizadas radiografias das articulações comumente mais acometidas por alterações. Em um estudo com cavalos alemães de salto, em que se pesquisou a incidência de OCD nos exames pré-compra, observou-se que 44,3% dos animais aparentemente saudáveis (sem sinais clínicos)

apresentaram alterações radiográficas compatíveis com OCD (VOS, 2008). Isso demonstra a importância do exame radiográfico no diagnóstico da doença.

A ultrassonografia também pode ser utilizada no auxílio ao diagnóstico de lesões osteocondrais. É possível avaliar, além do osso subcondral, demais estruturas articulares, como a linha de cartilagem articular, membrana sinovial, inserções de ligamentos e líquido sinovial. Em estudo que se comparou a radiografia com a ultrassonografia no diagnóstico de lesões osteocondrais na articulação femoropatelar, encontrou-se melhor sensibilidade e especificidade com o diagnóstico ultrassonográfico de lesões que se encontravam no terço final das trócleas medial e lateral do fêmur (BOURZAC et al., 2009).

A termografia pode auxiliar no diagnóstico de lesões do sistema musculoesquelético. Ela consiste em uma representação gráfica em escala de cores da radiação emitida por alguma superfície. A energia térmica ou radiação infravermelha são ondas eletromagnéticas cujo comprimento as torna imperceptíveis ao olho humano. Existem câmeras portáteis, capazes de captar o calor da superfície de um corpo e produzir imagens térmicas que são utilizadas no diagnóstico de lesões. Isso ocorre porque a temperatura da superfície do corpo reflete a intensidade do metabolismo que ocorre no interior. Se há aumento metabólico nos tecidos, como na inflamação, com aumento da vascularização no local e maior suprimento sanguíneo, consequentemente a temperatura da superfície estará aumentada (REDAELLI et al., 2013).

Çetinkaya e Demirutku (2012) utilizaram a termografia em um estudo para localizar lesões ortopédicas em equinos. Após a localização de um ponto de maior calor, com a termografia, foram realizadas radiografias e ultrassonografias em busca de lesão. A termografia foi eficaz para encontrar lesões de coluna, articulares, tendíneas e infecções de tecido conjuntivo. O autor alerta para a importância dos artefatos nessa técnica. O animal deve estar com o pelo limpo, seco, em local sem correntes de vento e luz solar direta. Os animais devem permanecer no local do exame por pelo menos 15 minutos antes do procedimento. É uma técnica que traz bons resultados na localização de lesões e no acompanhamento evolutivo, com a vantagem de não ser invasiva (WESTERMANN et al., 2013).

Soroko et al. (2013) demonstraram que esse método pode ter grande valor no diagnóstico inicial de inflamação de animais em treinamento. Acredita-

se que até duas semanas antes do aparecimento dos sinais clínicos de uma lesão ortopédica, a termografia tenha sido capaz de detectar 1,25 graus de diferença em relação ao membro sadio. O autor atribuiu o aumento de temperatura à inflamação subclínica.

Apesar da análise do líquido sinovial (físico, mucina e citológico) ser um método diagnóstico muito importante para as doenças articulares, ele não tem grande valia para o diagnóstico de OCD. Nesses casos as alterações são poucas e inespecíficas, como ligeiro aumento na turbidez e ligeira diminuição de viscosidade. Ainda assim é um importante meio para excluir condições sépticas ou traumáticas agudas (STEEL, 2008).

2.4.5 Tratamento

Atualmente o tratamento da doença articular deve almejar o tratamento da lesão inicial, a diminuição da resposta inflamatória à injúria, diminuição da apoptose dos condrócitos, limitar a degradação da matriz e estimular maior produção de componentes da matriz cartilágnea (OLSON et al., 2014). Para alcançar esses objetivos, é necessário um diagnóstico preciso e precoce, tratamento cirúrgico adequado, associado a alguma terapia regenerativa, e a reabilitação adequada do animal.

O tratamento de eleição para osteocondrite dissecante é a artroscopia para retirada do fragmento osteocondral. Esta é descrita na medicina veterinária de equinos desde meados de 1975 como ferramenta tanto diagnóstica quanto terapêutica (OMMERT, 1981). A retirada do fragmento, atualmente, é realizada mesmo se o animal não apresentar sinais clínicos, pois se sabe que existem alterações no ambiente articular mesmo em animais assintomáticos (MACHADO, 2012).

Esta técnica apresenta inúmeras vantagens sobre a artrotomia, como diminuição da lesão dos tecidos moles, melhor retorno à função e diminuição do período de recuperação. Mesmo sendo uma técnica com menor trauma tecidual, haverá inflamação do tecido operado sendo necessária a reabilitação da articulação e do animal após a artroscopia (WEEREN, 2006).

2.5 REABILITAÇÃO DE CIRURGIAS ARTICULARES

A reabilitação do paciente ortopédico deve andar sempre ao lado das terapias médicas e cirúrgicas para sucesso do tratamento e retorno à função. Atualmente, a fisioterapia tem exercido importante papel na medicina equina, por ser a única terapia aceita durante os campeonatos pela Federação Equestre Internacional (FEI) (KANEPS, 2013).

A Associação Norte Americana de Fisioterapia define a função do fisioterapeuta de:

Promover o diagnóstico e tratamento de limitações funcionais e físicas do movimento, restaurando e mantendo a função. Também a promoção de não só a ótima função física, mas também ótimo bem-estar, saúde e qualidade de vida quando relacionadas ao movimento; Ainda é responsável pela prevenção do início dos sintomas e progressão das limitações funcionais e falta de função que possam resultar de doenças ou lesões.

A fisioterapia pode ser a aplicação de métodos físicos, não invasivos e não-farmacológicos sistêmicos, para o tratamento e prevenção de lesões musculoesqueléticas e a cinesioterapia é o uso do movimento para o tratamento dessas lesões. Normalmente o termo fisioterapia é utilizado para os dois métodos (KANEPS, 2004). Dentre as práticas empregadas encontram-se os tratamentos térmicos (calor e frio), os campos magnéticos, luz, som e eletricidade. Na cinesioterapia o que se utiliza são os exercícios controlados, a movimentação passiva da estrutura envolvida e a massagem (PORTER, 2009).

Os objetivos da terapia física para reabilitação são controle da dor, restauração e manutenção da função do órgão lesionado e tecidos adjacentes (DI DOMENICA et.al. 2004; MCGOWAN, STUBBS, JULL, 2007). Embora exista em livros de clínica médica, clínica cirúrgica e medicina esportiva de equinos, um capítulo destinado à reabilitação das enfermidades, poucos são os artigos científicos publicados a respeito (MCGOWAN, STUBBS, JULL, 2007).

Em humanos o sucesso da fisioterapia é indiscutível, e atualmente os protocolos se iniciam antes mesmo do procedimento cirúrgico. Jones et al. (2011) demonstraram que o programa de educação pré-operatório para cirurgia articular foi benéfico em comparação ao programa que se iniciava apenas no

período pós-operatório. O programa pré-cirúrgico era composto por informações sobre a cirurgia e por exercícios de mobilização da articulação, e os pacientes que dele participaram, permaneceram hospitalizados por menos tempo e começaram os exercícios de movimentação da articulação mais precocemente após a cirurgia.

A reabilitação de um procedimento cirúrgico pode ser dividida em fases de acordo com as fases de cicatrização, em que o sucesso de um estágio interferirá no sucesso do próximo e assim por diante até a cura da lesão. O primeiro estágio ocorre ainda na recuperação anestésica e dura por aproximadamente 48 horas, consistindo na formação do coágulo. É demarcado por hemorragia e migração de células inflamatórias para o local operado. Nesse estágio os objetivos da terapia são controlar a hemorragia, evitar esforços que possam danificar os tecidos e proteger o coágulo formado (PAULEKAS; HAUSSELER, 2009).

O primeiro dia pós-operatório até o quinto dia compreende a fase inflamatória. Esta fase é demarcada por dor e aumento de volume local, causada pela vasodilatação e liberação dos mediadores da inflamação. Nessa fase os objetivos são controlar a inflamação, aliviar a dor e manter a função da articulação lesionada por meio da diminuição do edema e prevenindo a formação de aderências sinoviais. Após essas duas primeiras etapas do pós-operatório inicia-se a fase de fibroplasia e reparação (Até 21º dia), na qual os objetivos são estimular a circulação e perfusão no local e prevenir aderências. E a última fase, de maturação e remodelamento, que se estende por mais de um ano nela a nova rede de colágeno está formada, porém com baixa qualidade, portanto é necessário estresse por meio de exercícios de força, flexibilidade e coordenação, para promover o alinhamento dessas fibras. O retorno ao esporte deve ser progressivo (PAULEKAS; HAUSSELER, 2009).

2.5.1 Crioterapia

Dos métodos utilizados, a crioterapia pode ser iniciada no pós-operatório imediato (GRANT, 1996). É indicada para quaisquer problemas agudos que gerem dor, calor e aumento de volume, e deve ser empregada nas primeiras 48 a 72 horas após a lesão ainda na fase da formação do coágulo. Passado esse período inflamatório a diminuição metabólica que o gelo causa já não é desejada (PORTER, 2005).

Os efeitos descritos da terapia com gelo são de diminuição da dor pela menor velocidade de transmissão dos sinais nos nervos pela substância P, diminuição do edema, da hemorragia e do extravasamento das células inflamatórias por meio da vasoconstrição (KANEPS, 2004; PORTER, 2005; SÁNCHEZ-INCHAUSTI; VIDAL-FERNANDEZ; VAQUERO-MARTIN, 2005). Alguns autores acreditam ainda que o gelo diminua os espasmos musculares e consequentemente a dor no local (DI DOMENICA et. al. 2004).

Fang et al. (2011), afirmaram em um estudo de crioterapia após artroscopia em humanos, que o grupo tratado apresentou maior alívio da dor com o passar das horas de pós-operatório. Esses pacientes receberam 50 minutos de crioterapia, com intervalo de 10 minutos entre as três aplicações. A crioterapia pode ser aplicada por meio de bolsas de gelo, bolsas de água gelada e imersão em água gelada, ou ainda por meio de aparelhos comerciais que fazem a compressão da articulação e liberação de frio ao mesmo tempo (PORTER, 2005; MARTIN et. al. 2001). Um estudo, comparando dois métodos de crioterapia em humanos, a compressa de gelo e o aparelho de gelo e compressão (Cryocuff® Aircast, Inc., Summit, New Jersey), comprovou melhores resultados com o método convencional de compressa de gelo, já que este proporcionou menores temperaturas intra-articulares. No entanto, o aparelho também causou diminuição das temperaturas intra-articulares. (WARREN et al., 2004).

Sanchez-Inchausti, Vidal-Fernandez e Vaquero-Martín (2005) realizaram um estudo com crioterapia contínua, também em humanos, pelo período de uma hora após artroscopia. Uma probe intra-articular como termômetro foi utilizada e as temperaturas mensuradas a cada 30 segundos. Observou-se

queda de quase 4°C da temperatura intra-articular nos 60 minutos de aplicação. Nos primeiros 20 minutos houve diminuição de aproximadamente 2°C. O autor conclui que a crioterapia com bolsas de gelo superficiais foram capazes de diminuir o aporte sanguíneo para a articulação.

Martin et al. (2001) demonstraram em um estudo após artroscopia do joelho, que a crioterapia é capaz de reduzir a temperatura intra-articular, mesmo se não aplicada imediatamente após o procedimento cirúrgico. Porém, a temperatura articular tende a aumentar, nas primeiras horas, devido ao processo inflamatório gerado pela cirurgia. No grupo que se iniciou a crioterapia uma hora mais tarde, a temperatura foi sete graus acima da temperatura do grupo que estava recebendo a crioterapia desde o término da cirurgia. A autora concluiu que a crioterapia possui efeitos benéficos na articulação mesmo se não iniciada prontamente, porém a temperatura articular estará mais alta, quanto mais tarde for iniciada.

Na prática equina, preconiza-se tempo de permanência de no mínimo 10 minutos para que haja diminuição da temperatura dos tecidos a quatro centímetros de profundidade para 19°C a 15°C. Esta temperatura é a adequada para queda do metabolismo tecidual. Porém, a terapia não pode se estender por mais de 30 minutos, quando a baixa temperatura passa a ser deletéria à pele e aos nervos. Pode ser repetida a cada 2 a 4 horas até 72 horas no período pós-operatório (PAULEKAS; HAUSSELER, 2009). A bandagem compressiva na fase inflamatória é indicada em associação com a crioterapia por auxiliar na redução do edema e da dor (PORTER, 2005).

2.5.2 Movimentação passiva

Quando não há instabilidade articular, o exercício passivo da articulação submetida ao procedimento cirúrgico também pode começar no primeiro dia do período pós-operatório. Afirma-se que tal conduta melhora a distribuição de nutrientes pela articulação, diminui a formação de aderências sinoviais, melhorando a cicatrização. O exercício passivo também impede que o membro perca sua elasticidade e seu grau de flexão, possibilitando um retorno mais

rápido à função normal (GRANT, 2003; PAULEKAS; HAUSSELER, 2009). Em humanos os exercícios passivos também foram responsáveis pela redução da dor de pacientes portadores de osteoartrite e submetidos a um estudo de reabilitação (DI DOMENICA et. al., 2004).

Há tempos se discute o emprego da movimentação na cirurgia articular. Estudos em cobaias demonstram que a imobilização da articulação lesionada causa efeitos deletérios, como degeneração da cartilagem articular, atrofia da membrana sinovial, aderência intra-articular e eventualmente anquilose da articulação em questão. Por outro lado, a movimentação articular mantém a estrutura, função e nutrição articular, facilitando a cicatrização da cartilagem e impedindo a formação de aderências da membrana sinovial. Também proporciona diminuição do edema intra-articular e dos tecidos peri-articulares (PAULEKAS; HAUSSELER, 2009).

Kannus et al. (1994) observaram que ocorreu rarefação óssea e diminuição da densidade com uma imobilização de três semanas do fêmur e tíbia de cobaias. Na maioria das vezes os efeitos da imobilização são reversíveis com o exercício. Porém, após oito semanas de remobilização do membro ainda houve 5% de perda óssea.

Os movimentos passivos devem ser efetuados até o limite de flexão e extensão de cada articulação, sem causar danos à mesma (PORTER, 2005). Preconiza-se a repetição por 12 a 20 vezes até duas vezes por dia (GRANT, 2003; KANEPS, 2004).

2.5.3 Exercício controlado

O exercício controlado é uma modalidade terapêutica muito questionada no pós-operatório imediato. A movimentação da articulação é benéfica, mas há controvérsia quanto à intensidade do exercício na reabilitação. Alguns autores defendem que a caminhada conduzida pelo cabresto, a passo, por 5 a 15 minutos por dia, não vale o risco de que um mau comportamento do animal acabe por lesionar a articulação e retirar o coágulo formado no local da cirurgia (GRANT, 2003). French et al. (1989) apresentaram um estudo em que foram

induzidos defeitos na articulação intercarpiana de 12 cavalos. Seis deles foram submetidos a exercícios de intensidade moderada a partir do 5º dia pós-operatório, com intensidade progressiva dos exercícios por 13 semanas. Na 13ª semana avaliou-se que não houve efeito deletério do exercício quando comparado ao grupo controle. Este mesmo autor sugere que exercícios leves possam ser benéficos à recuperação.

Em um estudo realizado com cobaias, em que foi criada a instabilidade da articulação femoropatelar, os animais foram submetidos a três modalidades de exercícios. Um grupo foi submetido a exercícios leves, um a moderado e outro grupo foi submetido a exercícios extenuantes. Concluiu-se, por análise histológica e imunohistoquímica, que o exercício leve e o moderado tiveram efeito benéfico sobre a progressão da doença, enquanto que o grupo que se exercitou em alta intensidade não apresentou tais benefícios (GALOIS et al., 2004).

A utilização de esteiras para o exercício controlado é indicada, já que se realiza movimento com menor concussão, porém o animal deve estar acostumado à esteira para que seja seguro o seu uso. A natação também é indicada para promover a movimentação articular sem que haja cargas sobre ela, porém, os grupos musculares utilizados na natação são diferentes do que ao passo, o que pode gerar dores musculares (KANEPS, 2004).

3 OBJETIVOS

Propor e avaliar, por meio de exame físico e análise do líquido sinovial, um protocolo de reabilitação, constituído de crioterapia, movimentação passiva e exercício controlado, para o período pós-operatório inicial de equinos portadores de osteocondrite dissecante submetidos à artroscopia.

4 MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados, 12 animais adultos, encaminhados para o HOVET-USP onde receberam o diagnóstico de presença de fragmento osteocondral, associado a osteocondrite dissecante, nas articulações metacarpofalangeana, metatarsofalangeana e/ou tíbiotársica.

4.1 ARTICULAÇÕES ESTUDADAS

Totalizaram-se 20 articulações. Todas as articulações foram submetidas à cirurgia artroscópica para retirada do fragmento osteocondral. As articulações foram direcionadas para cada grupo de forma que os dois grupos ficassem homogêneos entre si, cada um com 10 articulações. Apesar de todas as articulações estarem acometidas pela mesma afecção, existem entre elas diferentes lesões de cartilagem e diferentes graus de sinovite, que foram classificados, durante a artroscopia, por meio de escores estabelecidos e validados por Silva (2014) (Apêndice 1). Dessa forma, foi possível distribuir as articulações em dois grupos homogêneos, para que não houvesse um dos grupos com maior número de alterações secundárias ao processo primário. O delineamento experimental está demonstrado no organograma a seguir.

4.2 PROCEDIMENTOS ANESTÉSICO, CIRÚRGICO E PÓS-OPERATÓRIO

Todos os animais receberam o mesmo protocolo anestésico de rotina do hospital, constituído por sedação com detomidina (10 µg/Kg) ou xilazina (0,5 a 0,8 mg/Kg), indução com cetamina (2 mg/Kg) e diazepam (0,05 mg/Kg) e a manutenção anestésica inalatória com isoflurano. Todos os animais foram preparados da mesma maneira para o procedimento cirúrgico, com tricotomia e antisepsia com clorexidine degermante e clorexidine alcoólico no local do campo operatório. O procedimento cirúrgico foi realizado sempre no período da

manhã, porém a duração do procedimento variou conforme a dificuldade e o número de articulações operadas, sendo finalizado no máximo até o início da tarde.

Durante o período pós-operatório, que se iniciou logo após a recuperação anestésica, o grupo controle permaneceu em repouso em baia com medicação anti-inflamatória não esteroide (fenilbutazona 4,4 mg/Kg, uma vez ao dia, por 3 dias) e terapia antimicrobiana (amicacina, 15 mg/Kg, uma vez ao dia, por 5 dias), ambas administradas ainda no período pré-operatório. Durante cinco dias o grupo tratado recebeu o protocolo de reabilitação, além das mesmas medicações anti-inflamatória e antimicrobiana descritas no grupo controle. Todos os animais permaneceram com curativo sobre o membro operado, constituído de compressa de gaze, algodão ortopédico e bandagem elástica coflex[®]. No grupo controle esse curativo era trocado todos os dias pela manhã para que fosse possível fazer as mensurações necessárias. Os animais do grupo tratado permaneciam durante o dia com uma bandagem que permitisse a retirada para aplicação das terapias, e durante a noite, a bandagem definitiva com algodão era aplicada (figura 3).

Como rotina do hospital, os animais foram examinados duas vezes ao dia, através da avaliação de FC, FR, TR, TPC, coloração de mucosas, motilidade intestinal, presença de dor, apetite, aspecto da ferida cirúrgica, frequência de defecação e micção.

Figura 3 - Bandagem

Nota: A - bandagem definitiva, aplicada com algodão e atadura elástica. B - Bandagem provisória, aplicada nos animais tratados durante o dia.

Fonte: (SCGA, FMVZ-USP, 2014)

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Ao D0 foram realizadas as medidas para avaliação, na região a ser operada previamente tricotomizada. As medidas foram, circunferência articular, ângulo de flexão máximo, termografia e exame de claudicação. A partir do dia do procedimento cirúrgico (D1), iniciou-se o protocolo de reabilitação. Os animais do grupo controle receberam apenas as avaliações (exame físico, termografia, claudicação e coleta de líquido sinovial), enquanto que o grupo tratado recebeu o protocolo de reabilitação e avaliações, os procedimentos estão marcados no quadro 1 a seguir.

Quadro 1 – Esquema com os métodos de avaliação e os procedimentos realizados em determinada hora, durante os dias do experimento

D1	PROCEDIMENTOS/ HORAS	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
	COLHEITA DE L.S.													
	ARTROSCOPIA													
	CRIOTERAPIA													
	BANDAGEM													
D2	PROCEDIMENTOS/HORAS	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
	RET. DA BANDAGEM													
	TERMO/AF/CLAUD													
	CRIOTERAPIA													
	MOVIMENTO PASSIVO													
	BANDAGEM													
D3	PROCEDIMENTOS/HORAS	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
	RET. DA BANDAGEM													
	TERMO/AF/CLAUD													
	CRIOTERAPIA													
	MOVIMENTO PASSIVO													
	COLHEITA L.S.													
	EXERCÍCIO													
	BANDAGEM													
D4	PROCEDIMENTOS/HORAS	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
	RET. DA BANDAGEM													
	TERMO/AF/CLAUD													
	CRIOTERAPIA													
	EXERCÍCIO													
	MOVIMENTO PASSIVO													
	BANDAGEM													
D5	PROCEDIMENTOS/HORAS	7	8	9	10	11	12	13						
	RET. DA BANDAGEM													
	TERMO/AF/CLAUD													
	EXERCÍCIO													
	MOVIMENTO PASSIVO													
	COLHEITA L.S.													
	BANDAGEM													

Nota: D1 a D5: Correspondem aos dias do experimento, de um a cinco; Colheita de L.S: colheita de líquido sinovial; Ret. da bandagem: retirada da bandagem; Termo: termografia; A.F.: avaliação física (circunferência e ângulo de flexão); Exercício: Exercício controlado.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

4.4 PROTOCOLO PARA A TERAPIA DE REABILITAÇÃO

O protocolo teve início imediatamente após a recuperação anestésica, e se estendeu até o quinto dia do período pós-operatório. As técnicas foram aplicadas sempre pela mesma pessoa, com duração das 7h00 às 19h00. Os métodos utilizados foram: crioterapia, movimentação passiva da articulação e exercício controlado.

4.4.1 Crioterapia

Foi realizada com auxílio de bolsas de gelo em gel, recicláveis, aplicadas sobre a articulação operada, nas primeiras 72 duas horas do período pós-operatório (Figura 9). No primeiro dia aplicou-se por 20 minutos a cada duas horas, e nos dias subsequentes a frequência diminuiu para a cada 4 horas. Antes da crioterapia, a ferida cirúrgica foi protegida por curativos resistentes à água (Nexcare®) e uma camada de filme plástico (figura 10), para evitar contaminação e complicações com a ferida cirúrgica. Enquanto aplicava-se a crioterapia os animais puderam permanecer soltos na baia.

Figura 9 - Aplicação de crioterapia na região da articulação metacarpofalangeana, durante o período pós-operatório

Fonte: (SCGA, FMVZ- USP, 2014)

Figura 10 - Proteção colocada sobre a ferida cirúrgica na região do tarso de equino, para posterior aplicação da crioterapia.

Fonte: (SCGA, FMVZ-USP, 2014)

4.4.2 Movimentação passiva

A partir do segundo dia do período pós-operatório foram realizadas 15 repetições de movimento passivo das articulações tratadas, duas vezes ao dia, no início da manhã e final da tarde, precedendo a crioterapia, até o quinto dia. A movimentação passiva consistiu em manter imóvel a estrutura mais proximal (Tíbia, metacarpo ou metatarso) enquanto se flexionava e estendia a estrutura mais distal (metatarso ou falange proximal). As flexões foram realizadas até o limite confortável para o animal, sem causar dor (Figura 11).

Figura 11 - Realização de movimentação passiva da articulação metatarsofalangeana

Fonte: (SCGA, FMVZ-USP, 2014)

4.4.3 Exercício Controlado

A partir do terceiro dia de pós-operatório até o quinto dia os animais que participaram do grupo tratado foram conduzidos pelo cabresto por dez minutos de exercício ao passo duas vezes ao dia, uma no período da manhã e outra no período da tarde.

Das 19h00 às 7h00 do dia seguinte todos os animais permaneceram em repouso na baia e sem manipulação.

4.5 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO

Todas as medidas de avaliação eram realizadas no primeiro horário da manhã (às 7h00), para que diminuísse a interferência da temperatura do dia.

No grupo tratado todas as medidas eram realizadas antes de qualquer intervenção do protocolo de reabilitação. A claudicação sempre foi a última avaliação, para não aumentar o metabolismo nos membros, o que pode gerar aumento da temperatura superficial.

4.5.1 Grau de claudicação

Antes do procedimento cirúrgico (D0) e nos dias 2, 3 e 5 (D2, D3, D5) do período pós-operatório todos os animais foram filmados para posterior avaliação do grau de claudicação. O processo de avaliação ficou a cargo de um avaliador cego que desconhecia a que grupo o animal pertencia. A classificação foi de 0 a 5 graus, apenas ao trote, de acordo com Stashak, (2006).

4.5.2 Circunferência da articulação

A circunferência da articulação operada foi mensurada em centímetros no D0 e nos dias seguintes ao procedimento cirúrgico (D2, D3, D4, D5), com o intuito de avaliar o grau de formação de edema e/ou efusão sinovial. Nas articulações metacarpofalangeanas e metatarsofalangeanas, o local de mensuração foi exatamente sobre a linha articular, e nas articulações tibiotársicas, a fita passou abaixo dos maléolos medial e lateral da tíbia e sobre o calcâneo.

4.5.3 Ângulo de flexão

O ângulo de flexão das articulações foi medido com auxílio do goniômetro. O instrumento utilizado nesse projeto foi o goniômetro Universal,

composto por duas réguas, uma fixa e uma móvel, que são unidas por um eixo. Ao redor do eixo existe um transferidor, com as medidas em graus (Figura 12). Neste estudo cada articulação foi submetida à flexão máxima para medida do ângulo formado, nos dias zero, dois, três, quatro e cinco (D0, D2, D3, D4, D5).

A régua fixa foi colocada sobre a superfície lateral da tíbia, metacarpo ou metatarso, dependendo da articulação mensurada, enquanto que a outra régua foi posicionada sobre a superfície lateral do metatarso ou falange proximal, o transferidor foi posicionado exatamente sobre a articulação que se desejou medir (tibiotársica, metacarpofalangeana ou metatarsofalangeana). O ângulo que se formou foi mensurado, sendo que quanto menor o ângulo, maior a capacidade de flexão da articulação.

Figura 12 - Demonstração da mensuração do ângulo de flexão da articulação metacarpofalangeana de um equino utilizando-se o goniômetro universal.

Fonte: (SCGA, FMVZ-USP, 2014)

4.5.4 Avaliação termográfica

Foram realizadas imagens termográficas, com a câmera Flir 440, da região das articulações estudadas, anteriormente ao procedimento cirúrgico, e nos dias subsequentes ao procedimento. A avaliação termográfica, em todos

os casos, foi realizada no início da manhã, 40 minutos após a retirada do curativo do membro. O ambiente de realização não apresentava entrada de luz solar direta, nem correntes de vento, para diminuir os artefatos na imagem, decorrentes dessas condições. As imagens termográficas foram obtidas a 1 metro de distância, o mais perpendicular possível ao membro. Todas as imagens foram tratadas no programa FLIR R&D software, com mensuração em área das temperaturas. Nas articulações metacarpofalangeanas e metatarsofalangeanas, a área foi circular e nas articulações tibiotársicas a área selecionada foi retangular, de maneira que abrangesse maior parte da superfície estudada. Dentro da área selecionada o programa forneceu os dados de temperatura máxima, mínima e média, foi utilizada a paleta de cores "rainbow" (figura 13).

Figura 13 - Imagens termográficas dos dias 0,3 e 5 de duas articulações

Nota: A, B e C - Imagens termográficas de região da articulação metacarpofalangeana, demonstrando as áreas circulares selecionadas. D, E e F – Imagens termográficas de região da articulação tibiotársica, demonstrando as áreas retangulares selecionadas.

Fonte: (SCGA, FMVZ-USP, 2014)

4.5.5 Análise física do líquido sinovial

Imediatamente antes do início do procedimento cirúrgico (D1), após 48 horas (D3) e depois de 96 horas (D5), foram colhidas amostras de líquido sinovial das articulações estudadas (Figura 14). Foram utilizadas agulhas de tamanho 40x10mm, e o líquido foi aspirado com seringa de 10 ml. O local da artrocentese da articulação tibiotársica foi dorsomedial, evitando a veia safena. Já o local de punção das articulações metacarpofalangeana e metatarsofalangeana foi próximo à base do sesamóide, no aspecto lateral do membro, com a articulação semiflexionada. A análise física ocorreu antes de qualquer processamento, e após essa etapa o líquido foi centrifugado refrigerado a 4°C, a 4000G de rotação, o sobrenadante foi aliquotado e armazenado em freezer a -80°C (Figura 15).

Figura 14 - Colheita do líquido sinovial

Nota: (A) Colheita do líquido sinovial da articulação tibiotársica imediatamente antes do procedimento cirúrgico (D1). (B) Colheita do líquido sinovial da articulação metacarpofalangeana no período pós-operatório.

Fonte: (SCGA, FMVZ – USP, 2014)

A avaliação física consistiu de Cor (amarelo claro, amarelo, xantocrômico e avermelhado), Aspecto (Límpido, ligeiramente turvo e turvo) e viscosidade (> 5 cm, entre 2 e 5 cm e menor que 2 cm). Para que fosse possível realizar a análise estatística atribuíram-se números às avaliações qualitativas, sendo que 1 foi a melhor avaliação, 2 foi avaliação intermediária, 3 foi a pior avaliação para viscosidade (< 2 cm) e aspecto (turvo). Para cor a

graduação foi de 1 a 4, sendo 4 a pior coloração do líquido (avermelhado) (Tabela 1).

Tabela 1. Escores atribuídos a cada avaliação física do líquido sinovial

Análise física Liq. Sinovial			
	Cor	Aspecto	Viscosidade
1	Amarelo claro	Límpido	> 5 cm
2	Amarelo	Lig. Turvo	entre 2 e 5 cm
3	Xantocrômico	Turvo	< 2 cm
4	Avermelhado	-	-

STIEVANI, 2014

Figura 15 - Análise do líquido sinovial

(A) – Líquido sinovial após colheita com coloração 1- Amarelo claro e aspecto 1 – límpido; (B) Análise da viscosidade do líquido sinovial considerada 2 – Entre 2 e 5 cm; (C) Centrifuga refrigerada, utilizada para centrifugar as amostras.

Fonte: (SCGA, FMVZ-USP, 2014)

4.5.6 Análise da qualidade do precipitado de mucina

O método de obtenção do coágulo de mucina foi a união de 100 microlitros de líquido sinovial em 2 ml de ácido acético a 2% previamente adicionado em tubo de ensaio de vidro. A avaliação foi de 1 a 4, sendo 1 a formação de coágulo estável e bem definido (bom), que permaneceu na superfície do líquido mesmo com leve agitação, e 4 a formação de um filamento de mucina, flácido e que se deslocou para o fundo do tubo, mesmo sem agitação do líquido (muito deficiente) (VAN PELT, 1962) (Figura 16).

Figura 16 - Exame da formação do precipitado de mucina do líquido sinovial

Nota: A- Precipitado de mucina considerado com qualidade 1 (Bom); B – Precipitado de mucina considerado com qualidade 2 (Regular); C – precipitado de mucina considerado com qualidade (deficiente); D – Precipitado de mucina considerado com qualidade 4 (muito deficiente).

Fonte: (STIEVANI, 2014)

4.5.7 Quantificação de PGE₂

Para quantificação de PGE₂ no LS, foi realizado o método ELISA, com o *kit* adquirido da empresa Cayman Chemical Company (EUA). O LS utilizado estava acondicionado em microtubos sem anticoagulante, à temperatura de -80°C. Após pipetagem da curva padrão foram adicionados 50µL da amostra em duplicata em cada poço previamente sensibilizado com anticorpo anti-IgG de rato. Em seguida foram adicionados 50 µL do conjugado PGE₂-acetilcolinesterase e 50 µL de anticorpo monoclonal de PGE₂. O método utilizado foi um ensaio baseado na competição entre PGE₂ e um conjugado de PGE₂-acetilcolinesterase (PGE tracer) por uma quantidade limitada de anticorpo monoclonal de PGE₂. O conjugado PGE₂-acetilcolinesterase é constante, enquanto que a concentração de PGE₂ variou de acordo com a amostra.

Portanto, a concentração de conjugado disponível para ligar ao anticorpo monoclonal de PGE₂ foi inversamente proporcional à concentração de PGE₂ na amostra. Esse complexo PGE₂-anticorpo ligou-se ao anticorpo policlonal de caprino anti-IgG de rato que já estavam nos poços da placa. Após incubação de 14 horas a 4°C a placa foi então lavada e 100 µl de reagente Ellman (que contém substrato para acetilcolinesterase) foi adicionado ao meio. Após incubação de 60 a 90 minutos em proteção da luz, o reagente se ligou ao conjugado formando uma reação enzimática com coloração amarela, que foi lida à 412nm em leitor de ELISA e correlacionada à concentração pelo uso de uma curva padrão com variação de 9,11 a 936,82 pg/mL.

4.5.8 Quantificação de SAA

Para a quantificação de SAA foi utilizado o kit de ELISA sandwich multi-espécies da Tridelta. A placa disponibilizada com o kit já possui nos poços anticorpos monoclonais específicos para SAA. As amostras de líquido sinovial que estavam armazenadas a -80°C foram, em sua maioria, diluídas 1:2000 como recomendação do kit. As que não apresentaram leitura com essa diluição

foram diluídas em 1:10000 e 1:20000. Foram adicionados nos poços 50µl de conjugado Anti-SAA/HRP e 50µl de amostra de líquido sinovial diluída, em duplicata. A placa foi então coberta para proteção dos poços e permaneceu a 37°C por uma hora. Após a incubação a placa foi lavada pela lavadora automática com o solução de lavagem específica, depois foi adicionado 100µl de substrato TMB e foi coberta por mais 15 minutos, por fim, foi adicionado 100 µl de solução para parar a reação enzimática. As placas foram lidas a uma absorbância de 450nm. A curva padrão foi realizada também em duplicata em todas as placas, sendo o ponto mais alto 30,752 pg/ml e o mais baixo de 0,397 pg/ml.

4.5.9 Quantificação de IL-1β

Para a quantificação da IL-1β utilizou-se 100µL de líquido sinovial acondicionado em microtubos sem anticoagulante, à temperatura de -80°C. O método utilizado para dosagem foi o ELISA *sandwich* (Uscn Life Science®) para equinos. Foram adicionados 100µL de padrão, branco e das amostras em duplicata aos poços da placa, já sensibilizada com o anticorpo específico para IL-1β de equino, e esta foi incubada por duas horas a 37°C. Após incubação, o líquido foi removido e então adicionados 100µL de reagente de detecção (avidina com peroxidase) em cada poço. Após incubação por uma hora a 37°C, o líquido foi aspirado e a placa lavada por três vezes com solução de lavagem diluída em água ultrafiltrada. Adicionou-se 100µL de outro reagente de detecção e a placa foi incubada a 37°C por 30 minutos. A placa então foi lavada por cinco vezes e adicionou-se 90µL de solução de substrato a cada poço e a placa foi incubada a 37°C por 20 minutos, protegida da luz. Apenas os poços contendo anticorpos biotina-conjugado e avidina-conjugado sofreram alteração de cor com o substrato. Por fim, adicionou-se 50µL de solução de ácido sulfúrico para parar a reação entre enzima-substrato e a absorbância foi lida em 450nm em leitor de ELISA6 correlacionada à concentração pelo uso de curva padrão com variação de 15.92 a 1000,0 pg/mL. Foram utilizadas duas amostras de LS de articulações com artrite séptica para validação do teste.

4.5.10 Quantificação de IL-6

Para a quantificação da IL-6 utilizou-se 100µL de líquido sinovial acondicionado em microtubos sem anticoagulante, à temperatura de -80°C. O método utilizado para dosagem foi o ELISA *sandwich* (Uscn Life Science®) para equinos. Foram adicionados 100µL de padrão, branco e das amostras em duplicata aos poços da placa, já sensibilizada com o anticorpo específico para IL-6 de equino, e esta foi incubada por duas horas a 37°C. Após incubação, o líquido foi removido e então adicionados 100µL de reagente de detecção A em cada poço. Após incubação por uma hora a 37°C, o líquido foi aspirado e a placa lavada por três vezes com solução de lavagem diluída em água ultrafiltrada. Adicionou-se 100µL de reagente de detecção B e a placa foi incubada a 37°C por 30 minutos. A placa então foi lavada por cinco vezes e adicionou-se 90µL de solução de substrato a cada poço e a placa foi incubada a 37°C por 20 minutos, protegida da luz. Adicionou-se 50µL de solução de ácido sulfúrico para parar a reação entre enzima-substrato e a absorbância foi lida em 450nm em leitor de ELISA6 correlacionada à concentração pelo uso de curva padrão com variação de 0 a 500 pg/mL. Foram utilizadas duas amostras de LS de articulações com artrite séptica para validação do teste.

4.5.11 Quantificação de IL-10

Para a quantificação da IL-10 utilizou-se 100µL de líquido sinovial acondicionado em microtubos sem anticoagulante, à temperatura de -80°C. O método utilizado para dosagem foi o ELISA *sandwich* (R&D systems®) para equinos. Foram adicionados 100µL de padrão, branco e das amostras em duplicata aos poços da placa, já sensibilizada com o anticorpo específico para IL-10 de equino, e esta foi incubada por duas horas em temperatura ambiente. A placa foi lavada, e adicionou-se 100µL de anticorpo de detecção. Novamente ficou em temperatura ambiente por mais 2 horas. Após esse período houve

nova lavagem e aspiração da placa, adicionou-se 100µL de Streptavidina-HRP, a todos os poços. A placa foi coberta e protegida de luz direta e permaneceu em temperatura ambiente por 20 minutos. Após lavagem, 100µL de solução substrato foi adicionada aos poços. A placa permaneceu por 20 minutos, protegida de luz direta. Adicionou-se 50µL de solução de ácido sulfúrico para parar a reação entre enzima-substrato e a absorbância foi lida em 450nm em leitor de ELISA6 correlacionada à concentração pelo uso de curva padrão com variação de 91,33 a 5.012 pg/ml.

4.6 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS

Os resultados foram tratados pelos métodos de análise de variância (ANOVA), Tukey e teste T não pareado, e demonstrados por gráficos e tabelas através de medidas de posição (média, mediana, mínima e máxima) e escala (desvio-padrão). Os testes foram feitos em função do efeito do grupo (controle ou tratado), e em função do tempo dentro dos dois grupos, sendo possível avaliar a dinâmica das variáveis nos diferentes momentos (D0 – D5). Comparações basais para as variáveis idade e escore das articulações foram realizadas pelo teste *t-student* e entre variáveis categóricas como tipo da articulação pelo teste Qui-quadrado (BUSSAB; MORETTIN, 2006). Os resultados considerados diferentes entre si apresentaram $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Os dados foram colhidos de junho de 2012 a março de 2014. Foram utilizados 12 equinos com diagnóstico de osteocondrite dissecante, encaminhados ao Serviço de Cirurgia de Grandes Animais do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (HOVET, FMVZ-USP). As articulações estudadas foram metacarpofalangeana, metatarsofalangeana e tibiotársicas, totalizando 20 articulações, 10 em cada grupo estudado. Dos 12 animais utilizados no experimento, cinco trataram pelo menos uma articulação por cada método, por ter mais de uma acometida. Os outros sete cavalos utilizaram apenas um dos métodos de tratamento.

O escore das lesões articulares variou de menor lesão, com valor igual a quatro, até a considerada com maior número e gravidade de lesões, com escore de 15. As articulações foram distribuídas entre os grupos de acordo com os escores, para que houvesse homogeneidade entre as amostras. A média de escores foi de 7,8 ($\pm 2,35$) para o grupo controle e de 7,0 ($\pm 3,25$) para o grupo tratado, não havendo diferença de escores entre os grupos ($P = 0,532$). Também houve homogeneidade das amostras para o tipo de articulações em cada grupo. Foram, no total, sete articulações metacarpofalangeanas (35%), sendo três no grupo controle (30%) e quatro no grupo tratado (40%), sete articulações metatarsofalangeanas (35%), sendo quatro no grupo tratado (40%) e três no grupo controle (30%), e seis articulações tibiotársicas (30%), sendo três em cada grupo (30%) (Tabela 2).

Tabela 2 - Proporção de articulações estudadas em relação ao valor total e distribuição em cada grupo estudado.

cada grupo estudado.								
Variável	Fator	Grupo						Valor p ¹
		Controle		Tratado		Total		
		N	%	N	%	N	%	
Articulação	MCF	3	30	4	40	7	35	0,867
	MTF	4	40	3	30	7	35	
	TT	3	30	3	30	6	30	

Nota: (1) Teste Qui-quadrado MCF – Metacarpofalangeana; MTF – Metatarsofalangeana; TT – Tibiotársica; N – número de articulações.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

Os animais foram em sua maioria adultos jovens, com idades variando entre 1,5 e 9 anos de idade. A média das idades entre os grupos foi de 3,0 ($\pm 1,25$) anos no grupo controle e 3,2 ($\pm 2,25$) anos no grupo tratado, sendo que a média total da idade dos animais foi de 3,1 ($\pm 1,77$) anos de idade. Não houve diferença de idade entre os grupos (Tabela 3).

Tabela 3 - Média e desvios-padrão das idades dos animais estudados em cada grupo.

Variável	Grupo						Valor p ¹
	Controle		Tratado		Total		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Idade	3,0	1,25	3,2	2,25	3,1	1,77	0,809

Nota: Teste *t-student* – DP- desvio-padrão da amostra.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

5.1 GRAU DE CLAUDICAÇÃO

Para avaliação de claudicação não houve diferença significativa ao longo dos dias do grupo tratado, nem do grupo controle. Também não houve diferença quando comparados os graus de claudicação entre os grupos (Gráfico 1). Os resultados da avaliação de claudicação variaram de zero a dois em um intervalo de zero a cinco graus.

Gráfico 1 - Porcentagem dos graus de claudicação atribuídos em cada dia para cada grupo

Nota: D0 a D5 – Dias 0 a 5; Na legenda, os valores 0, 1 e 2 são os graus de claudicação dos animais e suas proporções de acordo com o dia.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

5.2 CIRCUNFERÊNCIA DAS ARTICULAÇÕES

Para as circunferências articulares não houve diferença entre os grupos ou entre os diferentes momentos de um mesmo grupo. O valor médio da circunferência foi próximo a 35 centímetros, em todos os momentos, havendo apenas variação no desvio padrão (Tabela 4).

Tabela 4 - Médias e desvios-padrão da circunferência das articulações, medidas em centímetros, nos dois grupos, nos diferentes momentos

	Circunferência (cm)									
	D0		D2		D3		D4		D5	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Controle	34,98	9,11	33,88	8,18	35,02	8,90	35,24	9,14	35,04	8,6
Tratado	35,11	8,85	34,90	8,90	34,54	8,70	34,60	8,55	34,60	8,6

Nota: D0 a D5 correspondem aos dias de zero a cinco; DP – Desvio-padrão em relação à média de cada dia.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

Os resultados demonstram que não houve indução de efusão articular ou formação de edema periarticular significativo, e detectável por esse meio de mensuração física, em ambos os grupos.

5.3 ÂNGULO DE FLEXÃO

Para o ângulo de flexão máximo das articulações também não houve variação significativa entre os diferentes momentos de um mesmo grupo ou entre os grupos. No grupo controle a variação do ângulo foi de 72° a 131°. No grupo tratado, a variação foi de 45° a 135° (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Médias e desvios-padrão dos ângulos de flexão máximo em graus (°) dos grupos ao longo dos dias

Nota: D0 a D5 representam os dias em que foi mensurado o ângulo de flexão, de zero a cinco; A linha em azul representa a variação no grupo controle e a linha vermelha representa a variação no grupo tratado. O desvio-padrão do grupo controle é representado por linha contínua preta e o desvio-padrão do grupo tratado é representado por linha vermelha tracejada. Fonte: (STIEVANI, 2014)

Apesar de não apresentar alteração significativa para o tratamento estatístico, pode-se observar que ao terceiro dia, houve queda no ângulo da flexão no grupo tratado, o que indica uma tendência desse grupo para maior mobilidade articular.

5.4 ANÁLISE TERMOGRÁFICA

As temperaturas superficiais geradas pela câmera termográfica também não apresentaram diferença significativa ao longo do tempo, nem entre os grupos (Tabela 5).

Tabela 5 - Representa as médias e desvios-padrão das temperaturas superficiais mínima, média e máxima das áreas em estudo, em graus *Celsius*

	Grupo	Tempo	N	Médias temp Mín	Médias temp. Med.	Médias temp Máx
1	Controle	D0	10	32 ± 1,4	33 ± 1,3	34 ± 1,2
2	Controle	D2	10	32 ± 2,2	34 ± 2	35 ± 1,8
3	Controle	D3	10	32 ± 2	33 ± 1,9	35 ± 1,7
4	Controle	D4	10	32 ± 1,8	33 ± 1,4	35 ± 1,3
5	Controle	D5	10	31 ± 2,8	33 ± 2,3	34 ± 2,1
6	Tratado	D0	10	30 ± 5,4	31 ± 5,4	33 ± 5
7	Tratado	D2	10	31 ± 3,9	34 ± 3,1	35 ± 3,1
8	Tratado	D3	10	30 ± 4,3	32 ± 3,7	34 ± 3,5
9	Tratado	D4	10	31 ± 5	32 ± 5,1	34 ± 5,3
10	Tratado	D5	10	31 ± 3,8	33 ± 3,3	34 ± 3

Nota: D0 a D5 – corresponde aos dias de zero a cinco das avaliações; N número de articulações avaliadas em dado momento; Médias temp Min. – média das temperaturas mínimas; Média temp média – média das temperaturas médias; Médias temp. Máx. – média das temperaturas máximas.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

As temperaturas do grupo tratado tiveram uma tendência a ficarem mais altas no segundo dia, e ao terceiro dia diminuíram e se mantiveram assim até o quinto dia. No grupo controle as temperaturas se mantiveram constantes ao longo dos dias, demonstrando queda ao quinto dia (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Representação gráfica da variação das temperaturas mínima, mediana e máxima ao longo do tempo nos grupos controle e tratado

Nota: D0 a D5 - representam os dias de zero a cinco quando foram mensuradas as temperaturas superficiais; Gráfico A – Representa o comportamento da temperatura mínima ao longo dos dias; Gráfico B – Comportamento das médias da temperatura superficial mediana ao longo dos dias; Gráfico C – Comportamento das médias das temperaturas superficiais máximas ao longo dos dias. O grupo controle é representado pela linha azul e o grupo tratado pela linha amarela.
Fonte: (STIEVANI, 2014)

5.5 ANÁLISE FÍSICA DO LÍQUIDO SINOVIAL

5.5.1 Cor

No grupo controle, a cor do líquido sinovial piorou do D1 (90% - Amarelo claro; 10% amarelo) para D3 (80% avermelhado; 20% xantocrômico) e se manteve sem alteração estatística do D3 para D5 (20% amarelo; 30% xantocrômico e 50% avermelhado). Já no grupo tratado houve piora da coloração do líquido do D1 (80% amarelo claro; 20 % amarelo) para D3 (71% xantocrômico e 29% avermelhado), porém de D3 para D5 (62,5% amarelo;

25% xantocrômico e 12,5% avermelhado) houve melhora significativa na coloração. Pode-se observar na figura abaixo o aumento da coloração amarela no último dia do grupo tratado e a diminuição da coloração xantocrômica ou avermelhada, quando comparado ao D3 (Gráfico 4). Quando realizada a comparação entre os grupos, não houve diferença significativa.

Gráfico 4 - Frequências de cada coloração dos líquidos sinoviais, nos diferentes dias e grupos

Nota: D1, D3 e D5– São os dias um, três e cinco, dias de coleta de líquido sinovial.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

5.5.2 Aspecto

O aspecto do líquido sinovial tornou-se turvo na maior parte das amostras de D1 (90% límpido; 10% ligeiramente turvo) para D3 (70% turvo e 30% ligeiramente turvo) no grupo controle e no grupo tratado de D1 (70% límpido; 30% ligeiramente turvo) para D3 (71,4% turvo; 28,6 % ligeiramente turvo). Porém, no grupo tratado houve melhora do líquido, com a diminuição da turbidez, de D3 para D5 (87,5% ligeiramente turvo; 12,5% turvo). Essa mudança não foi observada no grupo controle, em que não houve diferença estatística significativa de D3 para D5 (50% turvo, 40% ligeiramente turvo e 10% límpido) (Tabela 6).

Tabela 6 - Indicação da porcentagem das avaliações de aspecto do líquido sinovial, nos grupos, ao longo dos dias

	Aspecto (%)								
	D1			D3			D5		
	Límpido	Lig. Turvo	Turvo	Límpido	Lig. Turvo	Turvo	Límpido	Lig. Turvo	Turvo
Controle	90	10	0	0	30	70	10	40	50
Tratado	70	30	0	0	28,6	71,4	0	87,5	12,5

Nota: D1, D3 e D5 – são os dias um, três e cinco, de coleta de líquido sinovial. Note, que nos dias três e cinco do grupo tratado, existem porcentagens com casas decimais, devido a coletas improdutivas em três e dois animais respectivamente.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

5.5.3 Viscosidade

Para a viscosidade do líquido sinovial não houve diferença significativa, quando feita a comparação entre os grupos. Apesar disso, ela se comportou de maneira diferente ao longo do tempo. No grupo controle houve diminuição do comprimento da viscosidade de D1 (80% > 5 cm; 20% entre 5 e 2 cm) para D3 (20% > 5cm; 80% < 2cm) e se permaneceu igual de D3 para D5 (70% < 2cm; 20% entre 2 e 5cm; 10% > 5cm) . Já no grupo tratado a diferença da viscosidade do líquido só foi significativa quando comparados D1 (70% > 5cm; 20% entre 2 e 5cm; 10% < 2cm) com D5 (12,5% > 5cm; 50% entre 2 e 5cm; e 37,5 < 2cm), ao comparar D1 com D3 e D3 com D5 não houve redução significativa do comprimento da viscosidade, indicando menor variação entre os dias (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Porcentagens de avaliações de viscosidade em cada dia nos dois tratamentos

Nota: D1, D3 e D5 são os dias das coletas e avaliação dos líquidos sinovial; As avaliações são medidas em centímetros.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

5.6 Qualidade do precipitado de mucina

Nos exames de qualidade do precipitado de mucina houve diferença significativa no efeito do tratamento em D5, ou seja, quando comparados os dois grupos, o grupo controle apresentou pior qualidade do precipitado. No grupo controle houve piora progressiva na qualidade do precipitado, ao longo do tempo, já no grupo tratado não houve diferença na piora ao longo dos dias. Pode-se observar, apesar de não significativa estatisticamente, a piora na qualidade no D3 do grupo tratado, seguida por melhora no D5 (Gráfico 6), o que não ocorreu no grupo controle.

Gráfico 6 - Médias e desvios-padrão da qualidade do precipitado de mucina nos líquidos sinoviais ao longo do tempo

Nota: D1, D3 e D5 são os dias de coletas e análises dos líquidos sinoviais. O precipitado de mucina de acordo com a classificação vai da melhor qualidade para a pior qualidade de 1 a 4. Os desvios-padrão adicionados às médias são, do grupo controle (azul pontilhado) e do grupo tratado (preto contínuo).

Fonte: (STIEVANI, 2014)

5.7 Quantificação de PGE₂

A quantificação de PGE₂ não foi diferente na comparação entre os grupos. No entanto, quando observados os valores em cada grupo separadamente, observa-se alteração em função dos dias. No grupo tratado, os valores do D1 (22,82 ± 17,94 pg/mL) foram estatisticamente iguais ao de D5 (47,21 ± 19,47 pg/mL), apesar de ser possível observar ao gráfico a elevação em D5. Isso ocorre porque há uma ligeira diminuição dos valores de PGE₂ em D3. Já no grupo controle, os valores desse eicosanoide subiram desde o D3, e D5 (63,93 ± 73,42 pg/mL) se apresentou estatisticamente mais elevado do que D1 (17,07 ± 28,37 pg/mL) e D3 (25,72 ± 47,85 pg/mL) deste mesmo grupo. Apesar de não ser possível afirmar diferença entre os grupos, observou-se elevação da PGE₂ ao longo do tempo no grupo controle e manutenção deste eicosanoide ao longo dos dias no grupo tratado (Gráfico 7).

Gráfico 7 - Concentrações médias de PGE₂ nos dois grupos, ao longo dos dias de observação

Nota: D1, D3 e D5 representam os dias de colheita e avaliação do líquido sinovial.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

5.8 Quantificação de SAA

A SAA só foi diferente entre os grupos em D3, em que suas concentrações foram maiores no grupo controle, quando comparado ao mesmo dia do grupo tratado. Apesar de ser possível observar ao gráfico a elevação em D3, ao longo dos dias o grupo tratado se manteve sem alterações estatísticas significativas, D1 ($2.243,04 \pm 2.973,25 \mu\text{g/mL}$), D3 ($29.573,43 \pm 53.673,27 \mu\text{g/mL}$) e D5 ($5.091,85 \pm 7.554,77 \mu\text{g/mL}$). Já no grupo controle, houve aumento das concentrações de SAA em D3 ($42.423,80 \pm 52.309,31 \mu\text{g/mL}$) quando comparados a D1 ($1.217,13 \pm 664,47 \mu\text{g/mL}$) e D5 ($7.510,39 \pm 10.385,23 \mu\text{g/mL}$). D1 e D5 não foram diferentes entre si. Apesar de os valores das médias alterarem visivelmente, nos dois grupos, não houve diferença estatística significativa no tratado, pois o desvio-padrão foi muito elevado em

todos os momentos, sendo que em D3 se apresentaram ainda mais elevados (Gráfico 8).

Gráfico 8 - Médias e desvios-padrão da concentração de SAA no líquido sinovial ao longo dos dias

Nota: D1, D3 e D5 são os dias de coletas de líquido sinovial. As médias das concentrações e respectivos desvios-padrão de amiloide sérica A estão representadas em microgramas por mililitro.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

5.9 Quantificação de IL-10, IL-6 e IL-1 β

Não foi possível quantificar esses marcadores em número suficiente de amostras que permitisse realizar análise estatística (Tabela 7).

Tabela 7 - Médias dos valores de interleucina – 10 e interleucina – 6 encontrados nas amostras de líquido sinovial

	IL-10 pg/mL						IL-6 pg/mL					
	D1		D3		D5		D1		D3		D5	
	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média
Controle	1	4,672	4	86,2	1	39,85	0	-	1	32,3	1	15
Tratado	1	3.289,60	3	16,9	1	22,4	0	-	0	-	1	56,7

Nota: D1, D3 e D5 são os dias um, três e cinco das coletas de líquido sinovial; N – é o número de amostras que obtiveram leitura nos testes de ELISA; O traço (-), representa a ausência de valor naquele momento.

Fonte: (STIEVANI, 2014)

Nenhuma amostra apresentou leitura para interleucina - 1 β , com o kit de ELISA utilizado.

6 DISCUSSÃO

A média de idade (3,1 anos) dos animais, encontrada no presente trabalho, foi compatível com a etiopatogenia da osteocondrite dissecante, uma doença que ocorre no desenvolvimento endocondral da articulação e é caracterizada por apresentar sinais clínicos em animais jovens em início de treinamento ou mesmo por ser achado radiográfico de exames pré-compra, como descrito por Vos (2008). Stock, Hamann e Distl (2006) a prevalência de fragmentos osteocondrais em animais de três a oito anos de idade, sendo a grande maioria possuía quatro anos de idade. A menor média de idade encontrada no presente trabalho está relacionada com a idade de preparação de animais para venda direta, leilão ou ainda início de treinamento para hipismo clássico. As articulações mais acometidas foram metacarpofalangeanas, metatarsofalangeanas e tibiotársicas, que foram as mesmas articulações estudadas no presente trabalho.

Como foi testado um protocolo, contendo mais de uma técnica fisioterápica, não foi possível avaliar a efetividade de cada técnica separadamente, e sim o resultado da união das três técnicas (crioterapia, movimentação passiva e exercício controlado). No entanto, durante a discussão serão abordadas alterações que possam estar relacionadas à determinada técnica.

Na avaliação da dor, com o exame de claudicação, os graus variaram de zero a dois em um intervalo de classificação da claudicação de zero a cinco graus, sem diferença entre os grupos. Esses achados foram similares aos encontrados por Dabareiner, Sullins e White (1993) em que os potros com presença de lesões osteocondrais da articulação femoropatelar, encaminhados para cirurgia artroscópica, apresentaram claudicação de 0 a 2 graus. Os resultados encontrados demonstram, também, que a cirurgia artroscópica para retirada do fragmento osteocondral em equinos foi em geral pouco traumática e dolorosa, sem exacerbação da claudicação, quando ocorreu. Foi possível controlar a dor pós-operatória nos dois grupos com a administração de medicação anti-inflamatória (fenilbutazona) nos primeiros três dias.

A circunferência articular já esteve correlacionada positivamente com o aumento da inflamação intra-articular, medido por citocinas inflamatórias em ratos (SZEKANECZ, et al. 2000). No presente estudo, apesar da utilização de articulações de tamanhos bem diferentes (MCF, MTF e TT), houve homogeneidade na distribuição entre os dos grupos, o que não interferiu alteração circunferência média ao longo dos dias após o procedimento cirúrgico. Esses resultados não demonstram falta de inflamação, mas sim a ausência de efusão e edema, uma vez que o procedimento cirúrgico, por si só, é um estímulo inflamatório (JACOBSEN et al., 2009).

Contrastando com os resultados encontrados, Jones; Barber; Doige (1993) relataram aumento da circunferência da articulação radiocárpica no pós-operatório de todos os animais submetidos à artroscopia, com e sem sinovectomia. Essa alteração na circunferência só foi relatada ao oitavo dia do período pós-operatório, sendo que o presente trabalho só apresentou medidas até o quinto dia do período pós-operatório, já que a fase inflamatória, a qual geralmente leva à formação de edema e efusão, dura em média até o quinto dia após a lesão.

O ângulo de flexão máxima foi mensurado para quantificar a mobilidade da articulação operada. Sabe-se que a movimentação passiva da articulação previne a contratura muscular adjacente, diminui a formação de aderência sinovial e mantém a lubrificação das estruturas articulares pelo líquido sinovial (PORTER, 2009). Nossos resultados não demonstraram diferença de amplitude articular entre os grupos, porém, houve uma tendência de maior mobilidade no grupo tratado. Os dados corroboram com os encontrados por Kim et al. (2012), em que não encontrou diferença nos resultados de amplitude articular em humanos tratados com movimentação passiva logo após cirurgia artroscópica quando comparados aos não tratados.

A temperatura superficial, apesar de apresentar variações de mais de um grau ao longo dos dias no mesmo animal, não se divergiu entre os grupos, provavelmente devido ao amplo desvio-padrão das amostras. Diversos estudos demonstram a diminuição da temperatura intra-articular com a crioterapia. Apesar das recomendações de aplicação de crioterapia serem de até 30 minutos (PAULEKAS E HAUSSELER, 2009), os estudos atuais com humanos demonstram o sucesso no controle da inflamação e da dor com o uso da

crioterapia contínua, que permanece por 50 minutos sem interrupção (SÁNCHEZ-INCHAUST; VIDAL-FERNÁNDEZ; VAQUERO-MARTÍN 2005; FANG et al. 2011). Porém, os autores ressaltam que o uso contínuo da crioterapia pode causar efeitos adversos à inervação local e à pele, e eles não sabem informar o risco da técnica que aplicam.

Soroko et al. (2013) afirmaram que alterações de 1,25°C acima das temperatura corpórea, são significativas para diagnóstico de inflamação subclínica com o uso da termografia em membros. No nosso estudo todos os animais foram submetidos a um estímulo inflamatório (procedimento cirúrgico), com consequente aumento da temperatura no dia subsequente ao procedimento cirúrgico (Gráfico 3), principalmente no grupo tratado.

Existem autores que acreditam que as bolsas de gel não congelável chegam a temperaturas muito baixas, gerando lesão à pele do animal, quando aplicadas diretamente (LOPES, 2009). No presente trabalho as bolsas de gel foram colocadas em compartimentos de tecido da liga de aplicação de crioterapia. Espera-se que tal tecido, mais a camada de filme plástico e o tempo (20 minutos) de aplicação tenham evitado algum dano à pele dos animais. Adicionalmente, não houve demonstração de dor na manipulação das regiões que receberam esta terapia, e ao terceiro dia observaram-se normalização das temperaturas do grupo tratado.

Khoshnevis, Craik e Diller (2014), realizou um estudo avaliando, após o término da crioterapia, o retorno à temperatura basal em joelhos e tornozelos de humanos. Após um período mínimo de 45 minutos de crioterapia contínua, observou-se retorno à temperatura basal (superficial e subcutânea) em no máximo 25 minutos após a retirada da terapia. Esses resultados corroboram com os nossos, em que após 12 horas da aplicação da crioterapia as temperaturas superficiais do grupo tratado se mantiveram próximas às do grupo controle. O resultado de ligeiro aumento na temperatura do grupo tratado em D2 pode ter acontecido pelo estímulo da crioterapia à dinâmica vascular, podendo ser uma vasodilatação na pele em decorrência disso.

Através da análise do líquido sinovial é possível recolher importantes informações do que acontece no interior da articulação, como a natureza da afecção e a extensão da lesão. O líquido sinovial é o responsável por carrear nutrientes para toda a articulação, e se sua qualidade estiver prejudicada, irá

refletir na qualidade das demais estruturas articulares (TEW; HOTCHKISS, 1981). Jones, Barber e Doige (1993) observaram alterações na avaliação física do líquido sinovial após artroscopia, compatíveis com os resultados encontrados nas articulações do presente trabalho. Após o procedimento cirúrgico aumentou a turbidez das amostras e a maioria delas apresentou coloração hemorrágica.

O líquido sinovial possui poucas células e sua turbidez aumenta conforme aumenta a celularidade. Em condições inflamatórias, as concentrações de células aumentam (PASCUAL; JIOVANÍ, 2005). No presente estudo a turbidez do líquido aumentou após o procedimento cirúrgico, não foi realizada a contagem de células, mas acredita-se que elas estivessem muito aumentadas principalmente em D3, devido à inflamação e à hemartrose.

Nas coletas de D3 pode-se observar que no grupo controle 80% das amostras se apresentavam avermelhadas, enquanto que no grupo tratado essa porcentagem foi de 30% das articulações. Swärd et al. (2014) concluíram que maiores lesões a tecidos moles articulares, com consequente hemartrose, podem induzir maior degradação da cartilagem e osteoartrite pós-traumática. Apesar de no total não haver diferença entre os grupos, na coloração do D3, a menor ocorrência de hemartrose no grupo tratado demonstra o efeito benéfico da crioterapia na reabilitação, já que se espera que ocorra diminuição do fluxo sanguíneo na região e menor sangramento.

A viscosidade também não foi diferente entre os grupos estudados, porém permaneceu mais estável no grupo tratado. A análise da viscosidade pode trazer informações qualitativas de efusão sinovial, e de inflamação. Se há efusão, maior quantidade de plasma entra para o interior da articulação, o que gera a diluição do ácido hialurônico presente no líquido, diminuindo a viscosidade. Por outro lado, se há sinovite (inflamação), haverá degradação do ácido hialurônico presente, com diminuição do seu efeito de viscosidade (STEEL, 2008; TEW; HOTCHKISS, 1981). Por apresentar elevado desvio padrão, acreditamos que um maior número de amostras talvez possa demonstrar alguma diferença nessa variável, porém o teste de qualidade do precipitado de mucina demonstrou melhor qualidade e quantidade do ácido hialurônico no grupo tratado ao final do período pós-operatório estudado.

Os resultados encontrados com o precipitado de mucina foram contraditórios aos encontrados por Jones; Barber; Doige, 1993, em que após artroscopia e sinovectomia, o precipitado permaneceu bom em todos os animais. No nosso estudo existe um agravante de que os animais estudados apresentavam doença articular, portanto, o ambiente articular pode ter respondido de forma divergente dos animais saudáveis do outro estudo.

Espera-se que com a crioterapia ocorra diminuição do processo inflamatório, e através da movimentação passiva e exercício controlado, aconteça melhor nutrição das estruturas articulares. Os resultados do coágulo de mucina corroboram para essa afirmação, em que no grupo tratado a qualidade do líquido esteve melhor ao quinto dia, ou seja, houve mais rápida recuperação da qualidade do ambiente articular. As outras variáveis do líquido sinovial indicaram através da menor alteração ao longo dos dias, que o ambiente articular do grupo tratado se manteve mais estável e conseqüentemente, neste caso, mais saudável. Essa menor variação nos valores ao longo dos dias, do grupo tratado, foi observada também nos biomarcadores articulares.

Bertone, Palmer e Jones (2001) definiram valores de PGE_2 acima de 22,5 pg/ml como um ótimo marcador para qualquer doença articular, e valores acima de 63,5pg/ml para doença articular aguda. Todos os animais utilizados nesse estudo tinham doença articular (osteocondrite dissecante), e a média das concentrações iniciais de PGE_2 , no líquido, estiveram próximas do que foi encontrado por esses autores. No entanto, apenas o grupo controle atingiu concentrações elevadas na maioria dos animais, ao quinto dia, com médias de 84,03pg/ml, o que se espera em doença articular aguda.

Stålman et al., (2011), afirmaram existir correlação positiva entre a liberação de PGE_2 no líquido sinovial e a temperatura da cápsula articular, apesar de não terem conseguido comprovar a diminuição da PGE_2 quando aplicada a crioterapia. No nosso estudo não foi possível mensurar as temperaturas intra-articulares, porém, acreditamos que a crioterapia tenha causado a diminuição da temperatura articular, no período de aplicação, até o terceiro dia do período pós-operatório e tenha sido responsável por manter os valores de PGE_2 sem alterações quando comparados os dias do grupo tratado. Um estudo com indução de lesão química na musculatura de ratos observou que, com baixas temperaturas, a PGE_2 tende a ser menor. O músculo, que se

encontrava a uma temperatura mais baixa (35°C), apresentou menores concentrações desse eicosanoide, quando comparado ao controle (37°C) (MAJUMDAR, GOWDA e BROOKE, 1995), o que pode justificar a pequena diminuição de concentração de PGE₂ em D3 para o grupo tratado.

Grauw et al. (2009) afirmaram haver pico de liberação de PGE₂, 8 horas após indução de inflamação com lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* (LPS), e com 24 horas as concentrações diminuíram consideravelmente. Nossos resultados contrastam com esse estudo, uma vez que observamos maior aumento desse eicosanoide apenas no quinto dia após artroscopia.

Existem dois fatores a serem considerados, o primeiro é que a infiltração de LPS intra-articular causa uma reação inflamatória aguda de grande proporção, semelhante com os sinais da artrite séptica, com alteração da temperatura retal e frequência cardíaca (Grauw et al. 2009), enquanto que a artroscopia para retirada de fragmento osteocondral, apesar de provocar inflamação articular, gera pouca dor e mínimas alterações no exame clínico. Visto isso, acredita-se que os dois processos inflamatórios levarão a respostas locais de diferentes padrões e proporções.

Outro fator a ser considerado é que em nosso estudo utilizou-se medicação anti-inflamatória não esteroidal (fenilbutazona, 4,4mg/kg, iv) durante os três primeiros dias de pós-operatório. Loon et al. (2013), descreveram importante melhora na dor e claudicação do grupo de animais que receberam essa medicação após a indução da sinovite por LPS. Sabe-se que existe diminuição da liberação de PGE₂ e demais mediadores inflamatórios para o ambiente articular, quando utilizado tratamento com o anti-inflamatório não esteroidal, como o meloxicam (GRAUW; LEST; WEEREN, 2011).

Acredita-se que para avaliação do real efeito do protocolo de reabilitação sobre as articulações, seria necessário manter o animal sem medicação anti-inflamatória no período pós-operatório, pois, como descrito anteriormente, ele diminui concentrações de mediadores inflamatório locais, alivia a dor ao trauma cirúrgico e ainda controla a formação de edema. No entanto, como realizamos um estudo clínico, os animais foram encaminhados para o hospital para receberem o protocolo fisioterápico, adicionalmente ao protocolo do hospital, não seria adequado manter os equinos com dor no período pós-operatório, pois poderia gerar complicações no período pós-operatório. Borja, (2008)

fundamentou nossa escolha, quando comparou o uso de fenilbutazona intravenosa e morfina intra-articular na analgesia de equinos após procedimento artroscópico, percebeu que a fenilbutazona foi mais eficaz no controle da dor. De 10 animais que receberam somente a morfina intra-articular como analgesia, três tiveram que ser retirados das mensurações após quatro horas do fim do procedimento cirúrgico, por apresentarem muita dor, inclusive com alteração do apetite e dificuldade de apoio do membro.

O aumento da liberação da PGE_2 e demais eicosanoides na articulação, em resposta a um processo inflamatório, coincide com o aumento da atividade das metaloproteases (MMP), indicando um papel importante da PGE_2 na degradação da matriz, pela indução da síntese de MMP (GRAUW, et al. 2009). Nos resultados apresentados observa-se uma discreta diminuição das concentrações médias de PGE_2 ao terceiro dia do grupo tratado, sugerindo que a aplicação da crioterapia tenha contribuído para essa diminuição, apesar de não apresentar diferença estatística significativa.

A SAA foi considerada um bom marcador sinovial por Jacobsen, Thomsen e Nanni (2006) utilizando o método imunoturbidométrico de detecção de SAA (LZ test SAA, EIKEN Chemical Co., Tokyo, Japan), encontrando concentrações menores que 0,48mg/L em animais com articulações consideradas saudáveis. Essas concentrações variaram conforme a doença articular, até um animal com fratura aberta envolvendo a articulações que apresentou 1.800 mg/L de SAA no líquido sinovial. Não foram encontrados estudos que obtivessem a SAA do líquido sinovial de animais com osteocondrite dissecante. Também não foram encontrados estudos que obtivessem a SAA do líquido sinovial de equinos utilizando o kit de ELISA – Tridelta. O método empregado no presente estudo foi utilizado baseado em estudos prévios que obtiveram determinações séricas de SAA em equinos (JACOBSEN et al. 2005; POLLOCK et al. 2005)

Nos resultados apresentados, observou-se aumento significativo das concentrações de SAA no líquido sinovial após 48 horas do procedimento cirúrgico, e ao quinto dia os valores já se aproximavam dos basais. Esse resultado corrobora com Lindegaard et al. (2010), que demonstrou pico máximo de amiloide sérica A no líquido sinovial com 48 horas após indução de sinovite . Jacobsen e colaboradores (2009) observaram aumento sérico dessa proteína

no primeiro dia após procedimento cirúrgico, e ao quinto dia os valores retornavam para próximo dos valores basais, pré-cirúrgicos.

Jacobsen et al. (2005) demonstraram a importância da SAA no monitoramento da inflamação. Animais que apresentaram sinais de infecção da ferida cirúrgica tiveram maiores concentrações séricas de SAA e estas permaneceram altas até resposta clínica do animal ao tratamento. Apesar de os desvios-padrão do presente estudo serem altos, observou-se menor aumento de SAA no D3 do grupo tratado. Acredita-se que a resposta à inflamação tenha sido controlada pelo programa de reabilitação instituído.

Ng et al. (2010) correlacionaram o grau de hipóxia de uma articulação (<TO₂) com maior aporte de citocinas pró-inflamatórias para o líquido sinovial, entre elas a IL-1 β . Com esse estudo, sugeriram que a presença de um trauma, que gere sinovite e efusão sinovial, contribua para a hipóxia do ambiente articular. No nosso estudo não foi possível quantificar a interleucina – 1 β nas amostras de líquido sinovial. Nossos resultados são semelhantes a um estudo realizado por Moreira (2013), que não conseguiu detectar a presença dessa interleucina na maioria das suas amostras após realizar a infiltração articular com plasma autólogo condicionado. No estudo de Ng et al. (2010), os líquidos foram obtidos em média após 54 meses da lesão inicial. Provavelmente a resposta encontrada foi tardia em relação ao início da sinovite, o que não aconteceu no presente trabalho, por esse motivo pode ter havido a falha na detecção dessa citocina.

A falha na obtenção da interleucina – 6 pode estar associada, também, ao tempo de lesão até sua liberação. Szekanecz et al. (2000) observaram em um estudo sobre artrite reumatoide, utilizando ratos como modelo experimental, que a IL-6 só se elevou na fase tardia da doença, após 14 dias da indução da lesão, enquanto que o fator de necrose tumoral já estava elevado antes do quinto dia após indução da artrite. Swärd et al. (2014) associaram a presença da IL-6 a lesões no osso subcondral, indicando que esteja associada a reabsorção óssea em joelhos humanos. Nas articulações estudadas, o único procedimento que envolveu o osso subcondral, durante as artroscopias, foi sua curetagem em casos que se apresentava friável. Esse mesmo autor concluiu com seu estudo que quando há envolvimento do osso subcondral a inflamação

no ambiente articular é maior, aumentando as chances de desenvolver osteoartrite pós-traumática.

A interleucina-10 apresenta efeitos protetores à cartilagem articular. Em um estudo *in vitro* conduzido por Meegeren et al. (2012), esse efeito protetor foi demonstrado quando adicionada IL-10 ao tecido cartilagíneo removido de humanos. Ela preveniu a diminuição da síntese de proteoglicanos ao 14º dia após sua aplicação. Além disso, juntamente com a IL-4, causou a diminuição da produção das citocinas pró-inflamatórias (TNF α e IL-1 β). Com os já conhecidos efeitos anti-inflamatórios da crioterapia, esperava-se no presente trabalho que as amostras de líquido sinovial do grupo tratado pudessem apresentar maiores concentrações de IL-10. No entanto, não foi possível obter número adequado de amostras com detecção de IL-10 para realizar o tratamento estatístico.

Não foram realizadas mensurações de biomarcadores diretos, ou seja, que provêm diretamente da matriz cartilagínea, como o CS e o HA. Essas medidas poderão nos trazer mais informações a respeito dos efeitos anti-inflamatórios e de manutenção da nutrição das estruturas articulares, pelo protocolo de reabilitação.

7. CONCLUSÃO

Com o presente trabalho pode-se concluir que apesar de não ter sido possível detectar alterações ao exame físico, o protocolo de reabilitação desenvolvido foi benéfico para o ambiente articular, pois proporcionou melhor qualidade do líquido sinovial, quanto à avaliação da cor, aspecto, viscosidade e precipitado de mucina no grupo tratado. Observou-se também que o grupo tratado apresentou elevações menos acentuadas de biomarcadores inflamatórios ao longo dos dias. Acreditamos que este estudo tenha sido apenas um passo em busca da instituição da terapia reabilitativa em equinos, e que apesar dos resultados terem sido favoráveis à instituição da prática, ainda são necessários mais estudos, com associação de outras técnicas e acompanhamento por maior período pré e pós-operatório.

REFERÊNCIAS

AIGNER, T.; SOEDER, S.; HAAG, J.; Il-1 β and bmps - interactive players of cartilage matrix degradation and regeneration. **European Cells and Materials**, v. 12, p. 49-56, 2006.

AMERICAN PHYSICAL THERAPY ASSOCIATION. Guide to physical therapist practice. 2nd. ed. **Physical Therapy**, v.81, p. 21–55, 2001.

ANDERSON, D. D.; CHUBINSKAYA, S.; GUILAK, F.; MARTIN, J. A.; OEGEMA, T. R.; OLSON, S. A.; BUCKWALTER, J. A. Post-traumatic osteoarthritis : improved understanding and opportunities for early intervention. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 29, p. 802–809, 2011.

ANTONACCI, J. M.; SCHMIDT, T. A.; SERVENTI, L. A.; CAI, M. Z.; SHU, Y. L.; SCHUMACHER, B. L.; MCILWRAITH, C. W.; ROBERT, S. Effects of equine joint injury on boundary lubrication of articular cartilage by synovial fluid: role of hyaluronan. **Arthritis and Rheumatism**, v. 64, n. 9, p. 2917–26, 2012.

BERTONE, A. L.; PALMER, J. L.; JONER, J. Synovial fluid cytokines and eicosanoids as markers of joint disease in horses. **Veterinary Surgery**, n. 30, p. 528-538, 2001.

BORJA, M.C. **Avaliação da dor no pós-operatório de artroscopia em equinos**. 2008. 71 f. Dissertação (Mestrado em ciência). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Univerisidade de São Paulo, São Paulo.

BOWKER, R.M.; ABHOLD, R. H.; CARON, J. P.; SONEA, I. M.; VEX, K.B.; KOTYK, R. Neuropeptidergic innervation of equine synovial. **Joints American Journal of Veterinary Research**, v.54, n.11, p.1831-1839, 1993.

BOURZAC, C. ALEXANDER, K., ROSSIER, Y., LAVERTY, S. Comparison of radiography and ultrasonography for the diagnosis of osteochondritis dissecans in the equine femoropatellar joint. **Equine Veterinary Journal**, v. 41, n. 7, p. 686–692, 2009.

BUSSAB, W. O.; MORETTIN, P. A. **Estatística básica**. 6. ed. São Paulo: Saraiva, 2006.

CATTERALL, J. B.; STABLER, T. V.; FLANNERY, C. R.; KRAUS, V. B. Changes in serum and synovial fluid biomarkers after acute injury. **Arthritis Research & Therapy**, n. 12, p. 1-9, 2010.

CONNOLLY, M.; MULLAN, R. H.; MCCORMICK, J. ; MATTHEWS, C.; SULLIVAN, O.; KENNEDY, A.; FITZGERALD, O.; POOLE, A. R.; BRESNIHAN, B.; VEALE, D. J.; FEARON, U. Acute-phase serum amyloid A regulates tumor necrosis factor and matrix turnover and predicts disease progression in patients with inflammatory arthritis before and after biologic therapy. **Arthritis and Rheumatism**, v. 64, n. 4, p. 1035-1045, 2012.

ÇETİNKAYA, M. A.; DEMİRUTKU, A. Thermography in the assessment of equine lameness. **Turkish Journal of Veterinary Animal Science**, v. 36, n. 1, p. 43–48, 2012.

DENOIX, J. M.; JEFFCOTT, L. B.; MCILWRAITH, C. W.; WEEREN, P. R. van. A review of terminology for equine juvenile osteochondral conditions (JOCC) based on anatomical and functional considerations. **The Veterinary Journal**, v. 197, p. 29-35, 2013.

DI DOMENICA, F.; SARZI-PUTTINI, P.; CAZZOLA, M.; ATZENI, F.; CAPPADONIA, C.; CASERTA, A.; GALLETTI, R.; VOLONTÈ, L.; MELE, G. Physical and rehabilitative approaches in osteoarthritis. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**. v. 3, n. 16, p. 62-69, 2004.

DOUGLAS, J. Pathogenesis of osteochondrosis. In: ROSS, M. W.; DYSON, S. J. **Diagnosis and management of Lameness in the Horse**. St. Louis: [s.n.], 2003, p. 534–543.

EGA, J. d Ensaios, **Tribuna do Norte**, Pindamonhangaba, 5 mar 1972.

FANG, L. HUNG, C.; WU, S.; FANG, S.; STOCKER, J. The effects of cryotherapy in relieving postarthroscopy pain. **Journal of Clinical Nursing**, n. 100, p. 1–8, 2011.

FLUGGE, L. A.; MILLER-DEIST, L.; PETILLO, P. A. Towards a molecular understanding of arthritis. **Chemistry & Biology**, v. 6, p. 157-166, 1999.

FRENCH, D. A.; BARBER, S. M; LEACH, D. H.; DOIGE, C. E. The effect of exercise on the healing of articular cartilage defects in the equine carpus. **Veterinary Surgery**, v. 18, n. 4, p. 312-321, 1989.

FRISBIE, D. D.; RAY, C. S.; IONESCU, M.; POOLE, A. R.; CHAPMAN, P. L.; MCILWRAITH, C. W. Measurement of synovial fluid and serum concentrations of the 846 epitope of chondroitin sulfate and of carboxy propeptides of type II procollagen for diagnosis of osteochondral fragmentation in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 60, n.3, p.306-309, 1999.

FRISBIE, D. D., Synovial joint biology and pathology. In AUER, J.A.; STICK, J.A. **Equine Surgery**, 3.ed. St. Louis: Elsevier , 2006. p. 1036 – 1053.

GALOIS, L.; ETIENNE, S.; GROSSIN, L.; WATRIN-PINZANO, A.; COUNIL-HENRIONNET, C.; LOEUILLE, D.; NETTER, P.; MAINARD, D.; GILLET, P. Dose-response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. **Osteoarthritis and cartilage**. v. 12, p. 779-786, 2004.

GEE, E. K.; FIRTH, E. C.; MOREL, P. C. H.; FENNESSY, P. F.; GRACE, N. D.; MOGG, T. D. Articular / epiphyseal osteochondrosis in thoroughbred foals at 5 months of age : influences of growth of the foal and prenatal copper supplementation of the dam. **New Zealand Veterinary Journal** v. 53, n. 6, p. 448-456, 2005.

GRANT, B. D. Rest, exercise, and physical therapy programs. In: MCILWRAITH C. W.; TROTTER, G. W. **Joint Disease in the Horse**. Saunders Ltda., 1996, 217-223.

GRANT, B Rest and rehabilitation. In: ROSS, M.W; DYSON, S.J. **Diagnosis and Management of Lameness in the Horse**. Saint Louis, Elsevier Saunders: 2003, 788-791.

GRAUW, J. C.; LEST, C. H. A.van de; BRAMA, P. A. J.; RAMBAGS, B. P. B.; WEEREN, P. R. van. *In vivo* effects of meloxicam on inflammatory mediators, MMP activity and cartilage biomarkers in equine joints with acute synovitis. **Equine Veterinary Journal**, v. 41, n. 7, p. 693-699, 2009.

GRAUW, J.C.; LEST, C.H.A. van de; WEEREN, P.R.van; A targeted lipidomics approach to the study of eicosanoid release in synovial joints. **Arthritis Research & Therapy**, v. 13, p. 1-12, 2011.

JACOBSEN, S.; JENSEN, J. C.; FREI, S.; JENSEN, A. L.; THOEFNER, M. B. Use of serum amyloid A and other acute phase reactants to monitor the inflammatory response after castration in horses : a field study. **Equine Veterinary Journal**, v. 37, n. 6, p. 552–556, 2005.

JACOBSEN, S.; THOMSEN, M. H.; NANNI, S. Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 110, p. 325–330, 2006.

JACOBSEN, S.; ANDERSEN, P. H. The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. **Equine Veterinary Education**, v. 19, n. 1, p. 38–46, 2007.

JACOBSEN, S.; NIELSEN, J. V.; KJELGAARD-HANSEN, M.; TOELBOELL, T.; FJELDBORG, J.; HALLING-THOMSEN, M.; MARTINUSSEN, T.; THOEFNER, M. B. Acute phase response to surgery of varying intensity in horses: a preliminary study. **Veterinary Surgery**, v. 38, n. 6, p. 762–9, 2009.

JONES, S.; ALNAIB, M.; KOKKINAKIS, M.; WILKINSON, M.; GIBSON, A.S.C.; KADER, D. Pre-operative patient education reduces length of stay after knee joint arthroplasty. **Annals of the Royal College of Surgeons of England**, v. 93 p. 71–75, 2011.

JONES, D. L.; D. L.; BARBER, S. M.; DOIGE, C. E. Synovial Fluid and Clinical Changes After Arthroscopic Partial Synovectomy of the Equine Middle Carpal Joint. **Veterinary Surgery** p. 524–530, 1993.

KANEPS, A.J. Physical treatment of the equine athlete. IN HINCHCLIFF, K.W.; KANEPS, A.J.; GEOR, R.J. **Equine Sports Medicine and Surgery**, Saunders Ltda, primeira edição, 2004, 532-536.

KANEPS, A. J. Postoperative Physiotherapy for the Orthopedic Patient. In: AUER, J. A.; STICK, J. A. **Equine Surgery**. 4. ed. Saint Louis: Elsevier, 2013. p. 1483–1487.

KANNUS, P.; SIEVÄNEN, H.; JÄRVINEN, T. L. N.; JÄRVINEN, M.; KVIST, M; ÓJA, P.; LASZLO, V. Effects of free mobilization and low to high – intensity treadmill running on the immobilization-induced bone loss in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**. v. 9, p. 1613-1619, 1994.

KHOSHNEVIS, S.; CRAIK, N. K.; DILLER, K. R. Cold-induced vasoconstriction may persist long after cooling ends: an evaluation of multiple cryotherapy units. **Knee Surgery Sports Traumatology Arthroscopy**. DOI 10.1007/s00167-014-2911-y. Disponível em: <http://www.scopus.com/record/display>. Acesso em: 6 ago 2014.

KIM, Y. S.; CHUNG, S. W.; KIM, J. Y.; OK, J.; PARK, I.; OH, J. H. Is early passive motion exercise necessary after arthroscopic rotator cuff repair? **The American Journal of Sports Medicine**, v. 40, n. 4, p. 815–21, abr. 2012.

KOBAYASHI, M.; SQUIRES, G. R.; MOUSA, A.; TANZER, M.; ZUKOR, D. J.; ANTONIOU, J.; FEIGE, U.; POOLE, A. R. Role of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in matrix degradation of human osteoarthritic cartilage. **Arthritis and Rheumatism**, v. 52, n. 1, p. 128-135, 2005.

KULMALA, K. A. M.; PULKKINEN, H. J.; RIEPPO, L.; TIITU, V.; KIVIRANTA, I.; BRUNOTT, A.; BROMMER, H.; WEEREN, VAN. R.; BRAMA, P. A. J.; MIKKOLA, M. T.; KORHONEN, R. K.; JURVELIN, J. S.; TOYRAS, J. Contrast-Enhanced Micro-Computed Tomography in Evaluation of Spontaneous Repair of Equine Cartilage, **Cartilage**, v. 3, n. 3, p. 235-244, 2012.

LEPEULE, J.; BAREILLE, N.; ROBERT, C.; EZANNO, P.; VALETTE, J. P.; JACQUET, S.; BLANCHARD, G.; DENOIX, J. M.; SEEGER, H. Association of growth, feeding practices and exercise conditions with the prevalence of Developmental Orthopaedic Disease in limbs of French foals at weaning. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 89, p. 167–77, 2009.

LINDEGAARD, C.; GLEERUP, K. B.; THOMSEN, M. H.; MARTINUSSEN, T.; JACOBSEN, S.; ANDERSEN, P. H. Anti-inflammatory effects of intra-articular administration of morphine in horses with experimentally induced synovitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 71, n. 1, p. 69-75, 2010.

LOON, J. P. A. M. van de; GRAUW, DE J. C. van; BRUNOTT, A.; WEERTS, E. W. S.; WEEREN, P. R. van. Upregulation of articular synovial membrane μ -opioid-like receptors in an acute equine synovitis model. **Veterinary Journal**, v. 196, n. 1, p. 40–6, 2013.

LOPES, A.D. Crioterapia. In: PEDRO, C.R.; MIKAIL, S. **Fisioterapia Veterinária**. 2. ed. Manole, Ltda. 2009, São Paulo, p. 66-70.

MACHADO, T.S.L.; CORREIA da SILVA, L.C.L.; BACCARIN, R.Y.A.; MICHELACCI, Y.M. Synovial fluid chondroitin sulphate indicates abnormal joint metabolism in asymptomatic osteochondritic horses. **Equine Veterinary Journal**, 2012. DOI:10.1111/j.2042-3306.2011.00539.x

MAJUMDAR, R.; GOWDA, D.; BROOKE, M.H.; Evidence of a Temperature-Sensitive Step in the Release of Prostaglandin E2 in Calcium Ionophore-Stimulated Rat Muscle. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids** v. 53, p.117-122, 1995.

MARTIN, S.S.; SPINDLER, K.P.; TARTER, J.W.; DETWILER, K.; PETERSEN, H.A. Cryotherapy: Na effective modality for decreasing intraarticular temperature after knee arthroscopy. **The American Journal of Sports Medicine**, v.29, n.3, 2001.

MCGOWAN, C.M.; STUBBS, N.C.; JULL, G.A. Equine physiotherapy: a comparative view of science underlying the profession. **Equine Veterinary Journal**, v.39, n.1, p.90-94, 2007.

MCILWRAITH, C. W. Doenças das articulações, tendões, ligamentos e estruturas relacionadas. In: STASHAK, T.S **Claudicação em Equinos Segundo Adams**, 5.ed., São Paulo: Manole, 2006, p. 417-437.

MCILWRAITH, C. W. Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: a review. **Equine Veterinary Journal**, v. 37, n. 5, p. 473-482, 2005.

MEEGEREN, M. E. R. VAN; ROOSENDAAL, G.; JANSEN, N. W. D.; WENTING, M. J. G.; WESEL, C. W. VAN; ROON, J. G. VAN; LAFEBER, F. P. J. G. IL-4 alone and in combination with IL-10 protects against blood-induced cartilage damage. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 20, n.7, p. 764-772, 2012.

MOHAMMED, H. O. Factors associated with the risk of developing osteochondrosis in horses: a case-control study. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 10, n. 1-2, p. 63–71, 1990.

MOREIRA, J. J. **Avaliação dos efeitos da utilização de plasma autólogo condicionado em articulações sinoviais hípidas de equinos**. 2013, 134f Dissertação (Mestrado em ciências veterinárias). – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo – São Paulo, 2013.

NEUMANN, E.; JUDEX, M.; KULLMANN, F.; GRIFKA, J.; ROBBINS, P.D.; PAP, T.; GAY, R. E.; EVANS, C. H.; GAY, S.; SCHOLMERICH, J.; MULLER-LADNER, U. Inhibition of cartilage destruction by double gene transfer of IL-1Ra and IL-10 involves the activin pathway. **Gene Therapy**, v. 9, p. 1508-1519, 2002.

NG, C.T.; BINIECKA, M.; KENNEDY, A.; MCCORMICK, J.; FITZGERALD, O.; BRESNIHAN, B.; BUGGY, D.; TAYLOR, C.T.; O'SULLIVAN, J.; FEARON, U.; VEALE, D.J. Synovial tissue hypoxia and inflammation in vivo. **Annals Rheumatism Disease**. v. 69, p. 1389-1395, 2010

OLSON, S. A.; HORNE, P.; FURMAN, B.; HUEBNER, J.; AL-RASHID, M.; KRAUS, V. B.; GUILAK, F. The Role of Cytokines in Posttraumatic Arthritis. **Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v. 22, n. 1, p. 29-38, 2014.

OLSTAD, K.; CNUUDE, V.; MASCHAELE, B.; THOMASSEN, R.; DOLVIK, N.I.; Micro-computed tomography of early lesions of osteochondrosis in the tarsus of foals. **Bone**, v. 43, n. 3, p. 574-583, 2008.

OMMERT, W. D. Equine arthroscopic surgery. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 1, n. 5, p. 177–182, 1981.

PASCUAL, E.; JOVANÍ, V. Synovial fluid analysis. **Best Practice & Research. Clinical Rheumatology**, v. 19, n.3, p. 371-386, 2005.

PAULEKAS, R.; HAUSSLER, K. K. Principles and practice of therapeutic exercise for horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n. 12, p. 870–893, 2009.

POLLOCK, P. J.; PRENDERGAST, M.; SCHUMACHER, J.; BELLENGER, C. R. EFFECTS of surgery on the acute phase response in clinically normal and diseased horses. **The Veterinary Record**, v. 156, p. 538–542, 2005.

PORTER, M. Rehabilitation therapy. In: ROBINSON, N.E.; SPRAYBERRY, K.A. **Current Therapy in Equine Medicine**. 6. ed. 2009, 593-597.

PORTER, M. Equine Rehabilitation Therapy for Joint Disease. **Equine Veterinary Journal**, v.21, p.599-607, 2005.

REZENDE, A. S. C. et al. Effect of two different nutritional programs on orthopedic alterations in mangalarga marchador foals. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 20, n. 10, p. 651–656, 2000.

REDDAELLI, V.; BERGERO, D.; ZUCCA, E.; FERRUCCI, F.; COSTA, L. N.; CROSTA, L.; LUZI, F. Use of thermography techniques in equines: principles and applications, **Journal of Equine Veterinary Science**, 2013, DOI: 10.1016/j.jevs.2013.07.007 Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0737080613004644>, Acesso em: 10 jan 2014.

REZENDE, A.S.C.; SAMPAIO, I.B.M.; LEGORRETA, G.L.; MOREIRA, D.C.A. Effects of two different nutritional programs on orthopedic alterations in mangalarga marchador foals. **Journal of Veterinary Science**, v. 20, n. 10, p. 651-656, 2000.

SÁNCHEZ-INCHAUST, G. ,VIDAL-FERNÁNDEZ, C. , VAQUERO-MARTÍN, J. Effect of arthroscopy and continuous cryotherapy on the intra-articular temperature of the knee. **Arthroscopy**, v. 21, n. 5, p. 552-556, 2005.

SCHENKER, M. L.; MAUCK, R. L.; AHN, J. ; MEHTA, S. Pathogenesis and prevention of posttraumatic osteoarthritis after intra-articular fracture. **Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v. 22, p. 20-29, 2014.

SILVA, M.M. **Desenvolvimento de protocolo de avaliação, por determinação de escore, das alterações encontradas nas doenças articulares em equinos e sua correlação com evolução após tratamento.** 2014. 94 f. Tese (Doutorado em ciência),– Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

SOROKO, M.; HENKLEWSKI, R.; FILIPOWSKI, H.; JODKOWSKA, E. the effectiveness of thermographic analysis in equine orthopedics. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 9, p. 760–762, 2013.

STÅLMAN, A.; BERGLUND, L.; DUNGNERC, E.; ARNER, P.; FELLÄNDER-TSAI, L. Temperature-sensitive release of prostaglandin E₂ and diminished energy requirements in synovial tissue with postoperative cryotherapy: a prospective randomized study after knee arthroscopy. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 93, n. 21, p. 1961–8, 2011.

STASHAK, T.S. Exame de claudicação. In _____ **Claudicação de Equinos Segundo Adams**. 5. ed.São Paulo, 2006, p.91-151.

STEEL, C. M. Equine synovial fluid analysis. **Veterinary Clinics of North America**, v. 24, p. 437–454, 2008.

STOCK, K. F.; HAMANN, H.; DISTL, O. Factors associated with the prevalence of osseous fragments in the limb joints of Hanoverian Warmblood horses. **Veterinary Journal**, v. 171, n. 1, p. 147–56, 2006

SWÄRD, P.; STRUGLICS, A.; ENGLUND, M.; ROOS, H. P.; FROBELL, R. B. Soft tissue knee injury with concomitant osteochondral fracture is associated with higher degree of acute joint inflammation. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 42, n. 5, p. 1096–102, 2014.

SZEKANECZ, Z.; HALLORAN, M. M.; VOLIN, M. V.; WOODS, J. M.; STRIETER, R. M.; HAINES, G. K.; KUNKEL, S. L.; BURDICK, M. D.; KOCH, A. E. Temporal expression of inflammatory cytokines and chemokines in rat adjuvant-induced arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, v. 43, n. 6, p. 1266–1277, 2000.

TEW, W. P.; HOTCHKISS, R. N. Synovial fluid analysis and equine joint disorders. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 1, n. 5, p. 163–170, 1981.

VAN PELT, R.W. Properties of equine synovial fluid. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.141, n. 9, p. 1051-1061, 1962.

VOS, N.J. Incidence of osteochondrosis (dissecans) in dutch warmblood horses presented for pré-purchase examination. **Irish Veterinary Journal** v.61, p.33-37, 2008.

WARREN, T. A.MCCARTY, E. C.; RICHARDSON, A. L.; MICHENER, T.; SPINDLER, K. P. Intra-articular Knee Temperature Changes Ice Versus Cryotherapy Device. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 32, n. 2, p. 441–445, 2004.

WEEREN, P.R. van Osteochondrosis. In: AUER, J.A.; STICK, J.A. **Equine Surgery**, 3. ed. St. Louis, 2006, p. 1166 – 1178.

WEEREN, P. R. van; KNAAP, J.; FIRTH, E. C. Influence of liver copper status of mare and newborn foal on the development of osteochondrotic lesions. **Equine Veterinary Journal**, v. 35, n. 1, p. 67–71, 2003.

WESTERMANN, S.; STANEK, C.; SCHRAMEL, J. P.; ION, A.; BUCHNER, H. F. The effect of airflow on thermographically determined temperature of the distal forelimb of the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, n. 5, p. 637–41, 2013.

YETHRUS, B.; CARLSON, C.S.; EKMAN, S. Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. **Veterinary Pathology**, v. 44, p. 429-448, 2007.

APÊNDICE 1

Quadro XX: Avaliação artroscópica segundo a cor das vilosidades.

	Escore
Sem alteração.	0
Presença de vasos evidentes	1
Intensa vascularização, com coloração vermelha homogênea	2

Quadro XX: Avaliação artroscópica segundo o volume e número de vilosidades.

	Escore
Sem alteração.	0
Aumento de volume de vilosidades sem alteração em quantidade. +	1
Aumento de volume com discreto aumento em quantidade de vilosidades. ++	2
Aumento evidente de volume e quantidade de vilosidades. +++	3
Impossibilidade de visualização das superfícies articulares em meio líquido. ++++	4

Quadro XX: Avaliação artroscópica segundo a superfície articular.

	Escore
Sem alteração.	0
Fibrilação focal	1
Fissura focal	1
Fibrilação difusa	2
Múltiplas fissuras	2
Presença de fibrina	2
Erosão superficial ou focal	2
Presença de osteófitos	3
Erosão difusa superficial	3
Erosão profunda focal	3
Eburnação focal	3
Osteonecrose focal	3
Erosão profunda difusa	4
Eburnação difusa	4
Osteonecrose difusa	4
Aderência de vilos	4
Pânus	4

Quadro XX: Avaliação artroscópica segundo número de fragmentos.

	Escore
Ausência de fragmentos.	0
Presença de 1 fragmento.	1
Presença de 2 fragmentos.	2
Presença de 3 fragmentos.	3
Presença de mais de 3 fragmentos	4
Presença de fragmento articular livre	4

Quadro XX: Avaliação artroscópica segundo tamanho dos fragmentos.

	Escore
Ausência de fragmentos.	0
Fragmentos com até 5mm	1
Fragmentos de 5 a 10mm	2

Fragmentos maiores que 10 a 15mm	3
Fragmentos maiores que 15mm	4

ESCORE TOTAL	
---------------------	--

Animal:**Articulação:**

Fragmentos número:

Local/is:

fixo (F) livre (L)

(SILVA, 2014)