UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

Marcos Figueiredo Pereira

Comparação terapêutica entre o ácido hialurônico e o plasma rico em plaquetas em potros brasileiro de hipismo com osteocondrose dissecante em crista intermedia da tíbia submetidos a vídeo artroscopia.

Pirassununga

2017

Marcos Figueiredo Pereira

Comparação terapêutica entre o ácido hialurônico e o plasma rico em plaquetas em potros brasileiro de hipismo com osteocondrose dissecante em crista intermédia da tíbia submetidos a vídeo artroscopia.

“Versão Corrigida”

Defesa de dissertação de mestrado
apresentada a Faculdade de Zootecnia
e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo,
como parte dos requisitos para obtenção do título
De Mestre em Biociência Animal.

Área de concentração : Biociência Animal

Orientadora: Prof. Dra. Renata Gebara Sampaio Dória

Pirassununga

2017

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F736c Figueiredo Pereira, Marcos
Comparação terapêutica entre o ácido hialurônico e o plasma rico em plaquetas em potros brasileiro de hipismo com osteocondrose dissecante em crista i / Marcos Figueiredo Pereira ; orientadora Renata Gebara Sampaio Dória. -- Pirassununga, 2017.
86 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Osteocondrose Dissecante. 2. Vídeo Artroscopia. 3. Plasma Rico em Plaquetas. 4. Ácido Hialurônico. I. Gebara Sampaio Dória, Renata, orient. II. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Comparação Terapêutica entre o Ácido Hialurônico e o Plasma Rico em Plaquetas em Potros Brasileiro de Hipismo com Osteocondrose Dissecante em Crista Intermedia da Tibia Submetidos a Vídeo Artroscoopia", protocolada sob o CEUA nº 1310211116, sob a responsabilidade de **Renata Gebara Sampaio Dória** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo - FZEA/USP (CEUA/FZEA) na reunião de 25/01/2017.

We certify that the proposal "Therapeutic Comparison between hyaluronic acid and platelet rich plasma in Brasileiro de Hipismo Show Jumpers Yearling Horses with Osteochondrosis Dissecans in Tibial Intermediate Ridge submitted to Video Arthroscopy Surgery", utilizing 12 Equines (males and females), protocol number CEUA 1310211116, under the responsibility of **Renata Gebara Sampaio Dória** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Animal Science and Food Engineering - (São Paulo University) (CEUA/FZEA) in the meeting of 01/25/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **01/2015** a **05/2016**

Área: **Medicina Veterinária**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Machos e Fêmeas**

Idade: **3 a 3 anos**

N: **12**

Linhagem: **BH**

Peso: **500 a 500 kg**

Resumo: Animais da rotina cirúrgica do Hospital Veterinário de Gonzales e Pereira SS LTDA serão submetidos a cirurgia de vídeo artroscopia, e submetidos a três diferentes tratamentos intra articulares no período pós operatório recente. Serão avaliados parâmetros quantitativos e qualitativos para avaliação destes três diferentes tratamentos.

Local do experimento: Hospital Veterinário Gonzales e Pereira SS LTDA; Haras Agromen

Pirassununga, 25 de janeiro de 2017

Prof. Dra. Daniele dos Santos Martins
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo - FZEA/USP

Prof. Dra. Cristiane Gonçalves Titto
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo - FZEA/USP

DEDICATÓRIA

A meu amor, amiga e companheira Alê,
e aos meus pais Moisés e Célia.
Com muito amor dedico este trabalho!!

AGRADECIMENTOS:

A Prof. Dra. Renata Gebara Sampaio Dória por toda a paciência de ter um orientado com muitos vícios, e pela oportunidade que me deu.

A Carol Caetano que sempre com um sorriso organiza e cuida de todo fluxograma do Hospital para mim.

Ao Pedro Henrique Pina pela disposição, e por ser meu braço direito no dia a dia dos nossos clientes.

A Mayra Lyssoni Aguiar pela dedicação e amor com os animais.

Ao Carlão por deixar os animais e a estrutura sempre em ordem.

Aos meus grandes amigos Thais, Bia, Shaine e André que fizeram a diferença na minha pós graduação....obrigado!!!!

Aos residentes do Hospital de Equinos da FZEA/USP pela preocupação e apoio sempre.

Ao Neimar pela amizade!!!!

EPÍGRAFE

“Ando devagar porque já tive pressa,
levo este sorriso porque já chorei demais.
Hoje me sinto mais forte e mais feliz,
mas com a certeza de que muito pouco sei...”

Almir Sater

RESUMO

Pereira, M.F. **Comparação terapêutica entre o ácido hialurônico e o plasma rico em plaquetas em potros brasileiro de hipismo com osteocondrose dissecante em crista intermédia de tíbia submetidos a vídeo artroscopia.** 2017. 86f. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

Enfermidade muito observada nas articulações dos equinos, o processo degenerativo articular crônico na articulação tibio-társica pode ser de origem primária, ou secundária à osteocondrose dissecante. A confirmação diagnóstica é feita por avaliação radiográfica. Importantes aliados diagnósticos são a avaliação do líquido sinovial, a avaliação ultrassonografia e a cirurgia de video-artroscopia, sendo esta última o tratamento para a enfermidade. Por sua evolução crônica e às vezes assintomática, a osteocondrose dissecante causa alterações no ambiente articular, como a perda de matriz cartilágnea, o que limita o potencial atlético do animal, acarretando em queda na performance e perdas econômicas. É comum o uso terapêutico intra-articular no período pós operatório recente de substâncias autólogas como o plasma rico em plaquetas (PRP), bem como o uso ácido hialurônico (HA), como adjuvante para o tratamento cirúrgico. O presente trabalho objetiva comparar e avaliar estes tratamentos. Foram utilizados 18 equinos, com idade variando entre 2 a 6 anos de idade, da raça Brasileiro de Hipismo, com peso corpóreo entre 400 e 650 kg, oriundos do mesmo criatório, com osteocondrose dissecante, na crista intermédia do osso tíbia. Estes animais no décimo dia pós operatório são divididos em três grupos experimentais: grupo AH, grupo PRP e grupo RCL como controle. Dados clínicos, ultrassonográficos e laboratoriais foram coletados em tempos definidos. Os resultados demonstraram que os animais do grupo controle – grupo RCL, que receberam solução de ringer com lactato intra-articular, apresentaram respostas clínicas e laboratoriais que indicaram menor indução do processo inflamatório ao ambiente articular quando comparado aos grupos PRP e AH. Os animais que receberam PRP apresentaram maior efusão sinovial e resposta positiva ao teste de flexão quando comparados aos animais que receberam AH; ao passo que a administração intra-articular de AH induziu maiores

alteração citológica do líquido sinovial quando comparadas aos animais que receberam PRP.

Palavras-chaves: Osteocondrose Dissecante, Vídeo Artroscopia, Plasma Rico em Plaquetas, Ácido Hialurônico.

ABSTRACT

Therapeutic comparison between hialuronic acid and platelet rich plasma in brasileiro de hipismo show jumpers young horses with osteochondrosis dissecans in tibial intermediate ridge submitted to video arthroscopy surgery. Master Science Degree, 2017. 86 p. Faculdade Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

One of the most common diseases in the equine joint, the degenerative joint disease in the tibio tarsal joint could be a primary disease, or secondary to osteochondrosis dissecans. The diagnosis is made by radiographic study. Allies in diagnosing this disease includes sinovial fluid evaluation, ultrasonographic evaluation and video arthroscopy surgery, which is the way to treat this disease. The osteochondrosis dissecans has a chronic evolution, and several times asymptomatic, which causes an alteration on articular environment that contributes to a loss in the cartilage matrix. Resulting in the limited development of the athletic potential of the animal, poor performance and economic losses. Is common to use therapeutical autolog substances intra articular as the platelet rich plasma, and hialuronic acid, in the early post surgical treatment as an adjuvant therapy to the surgical treatment. This study reaches to compare and evaluate those treatments. Were used 18 horses, with ages between 2 to 6 years old, Brasileiro de Hipismo breed, weighting between 400 and 650 kg, from the same breeding center, with osteochondrosis dissecans fragments from the intermediate tibial crest. Those patients, 10 days after the video arthroscopy surgery, were divided in three experimental groups: AH group, PRP group, and RCL group as control group. Laboratorial data, clinical signs and ultrasonographic exam were performed. The results proved that RCL group had show less induction of inflammatory process on articular environment, when we compare with PRP group and AH group. The PRP group had shown more synovial effusion, and more sensibility to the flexion test when we compare to AH group; but the AH group had shown more laboratorial alterations when we compare to the PRP group.

Key words: Osteochondrosis Dissecans, Video Arthroscopy, Platelet Rich Plasma, Hyaluronic Acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estudo Radiológico - Fragmento de Osteocondrose Dissecante - Crista Intermédia do Osso Tíbia.....	21
Figura 2 - Cirurgia de Vídeo Artroscopia.....	23
Figura 3 – Fluxograma do delineamento experimental.....	33
Figura 4 – Fragmento de Osteocondrose Dissecante em Crista Intermédia do Osso Tíbia.....	37
Figura 5 – Área de degeneração causada pelo Fragmento de Osteocondrose Dissecante.....	38
Figura 6 – Kit PRP comercial da Artrex ^{R 1}	39
Figura 7 – Líquido Sinovial – Aspecto Normal do Líquido Sinovial em D0.....	41
Figura 8 - Estudo Radiológico D0 – Fragmento de Osteocondrose Dissecante.....	44
Figura 9 – Estudo Radiológico D30 – Avaliação Radiológica Satisfatória.....	45
Figura 10 – Determinação da Espessura da Cápsula Articular em D0.....	54
Figura 11 – Determinação da Espessura da Cápsula Articular em D30.....	55

1. Kit Comercial PRP Arthrex – www.arthrex.com

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 - Leucócitos Totais do Líquido Sinovial (leucócitos/mm ³).....	49
Gráfico 2 - Neutrófilos Totais do Líquido Sinovial (neutrófilos/mm ³).....	50
Gráfico 3 - Neutrófilos Segmentados do Líquido Sinovial (segmentados/mm ³).....	50
Gráfico 4 - Monócitos Totais do Líquido Sinovial (monócitos/mm ³).....	50
Gráfico 5 - Proteína Total do Líquido Sinovial (g/dL).....	51
Gráfico 6 - Linfócitos Totais do Líquido Sinovial (linfócitos/mm ³).....	52
Gráfico 7 - Espessura da Cápsula Articular (mm).....	54
Tabela 1 – Média de idade dos animais experimentais.....	42
Tabela 2 - Média de idade dos animais do grupo AH.....	43
Tabela 3 - Média de idade dos animais do grupo PRP.....	43
Tabela 4 - Média de idade dos animais do grupo RCL.....	43
Tabela 5 – Avaliação visual do líquido sinovial dos animais do grupo RCL.....	46
Tabela 6 – Avaliação visual do líquido sinovial dos animais do grupo AH.....	46
Tabela 7 – Avaliação visual do líquido sinovial dos animais do grupo PRP.....	47
Tabela 8 - Medianas (mínimo e máximo) da contagem de leucócitos (leucócitos/mm ³), neutrófilos segmentados (segmentados/mm ³), neutrófilos (neutrófilos/mm ³) e monócitos (monócitos/mm ³) do líquido sinovial animais com osteocondrose dissecante tratados com solução de Ringer com Lactato (RCL), ácido hialurônico (AH), e plasma rico em plaquetas (PRP).....	49
Tabela 9 – Média ± desvio padrão da concentração de proteína (g/dL), e linfócitos (linfócitos/mm ³), do líquido sinovial de animais com osteocondrose dissecante tratados com solução de Ringer com Lactato (RCL), ácido hialurônico (AH) e plasma rico em plaquetas (PRP).....	51
Tabela 10 – Mediana (mínimo e máximo) do teste de efusão do líquido sinovial (pontos), e do teste de flexão articular dos animais com osteocondrose dissecante tratados com solução de Ringer com Lactato (RCL), ácido hialurônico (AH), e plasma rico em plaquetas (PRP).....	53

Tabela 11 – Média $\pm$ desvio padrão da espessura da cápsula articular (mm) de animais com osteocondrose dissecante tratados com solução de Ringer com Lactato (RCL), ácido hialurônico (AH), e plasma rico em plaquetas (PRP).....53

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

AH	Ácido Hialulônico
ANOVA	Análise de Variância
D0	Dia Zero do Experimento
D10	Dia Dez do Experimento
D30	Dia Trinta do Experimento
D60	Dia Sessenta do Experimento
EGF	Fator de Crescimento Epidermal
FGF	Fator de Crescimento Fibroblástico
g/L	Gramas por Litro
g/dL	Gramas por Decilitro
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante a Insulina 1
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-15	Interleucina 15
LS	Líquido Sinovial
mm	Milímetros
mm ³	Milímetros Cúbicos
PDEGF	Fator de Crescimento Epidermal Derivado de Plaqueta
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaqueta
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
RCL	Solução de Ringer com Lactato
TGF- β	Fator de Crescimento Transformante Beta
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
VEGF	Fator de Crescimento Vascular Endotelial

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. Osteocondrose	18
2.2. Diagnóstico da Osteocondrose Dissecante	20
2.2.1. Estudo Radiológico	20
2.2.2. Líquido Sinovial	21
2.2.3. Ultrassonografia	22
2.2.4. Vídeo Artroscopia	23
2.3. Tratamentos Adjuvantes Intraarticulares	24
2.3.1. Plasma Rico em Plaquetas	24
2.3.2. Ácido Hialurônico	27
3. JUSTIFICATIVA	29
4. OBJETIVOS GERAIS	30
4.1. Objetivos Específicos	30
5. MATERIAL E MÉTODOS	31
5.1. Animais Experimentais	31
5.2. Delineamento Experimental	31
5.2.1. Procedimento Experimental	33
5.2.2. Resposta ao Teste de Flexão e Avaliação da Efusão Sinovial	34
5.2.3. Procedimento Anestésico	35
5.2.4. Cirurgia de Vídeo Artroscopia	36
5.2.5. Aplicação do PRP comercial, AH ou RCL	38
5.2.6. Estudo Radiológico	39
5.2.7. Estudo Ultrassonográfico	40
5.2.8. Colheita de Líquido Sinovial	40
5.2.8.1 Avaliação Laboratorial do Líquido Sinovial	41
6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
7. RESULTADOS	42
7.1. Avaliação Radiográfica	44
7.2. Exame do Líquido Sinovial	46
7.3. Contagem de Leucócitos e Concentração de Proteínas no LS	48

7.4.	Efusão Sinovial e Teste de Flexão	52
7.5.	Espessura da Cápsula Articular	53
8.	DISCUSSÃO	56
9.	CONCLUSÃO	62
10.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
	ANEXOS	72

1. INTRODUÇÃO

A osteocondrose, em equinos, comumente conhecida como doença ortopédica de desenvolvimento, pode ocorrer de duas formas. A mais comum é a Osteocondrose Dissecante, na qual ocorre uma subfragmentação, com ou sem envolvimento do Osso Subcondral; e a outra manifestação é a formação de Cistos no Osso Subcondral (MCILWRAITH & FOERNER, 1991; WATKINS, 1999). Esta lesão apresenta alta prevalência, e mesmo sem sintomas clínicos muito pode levar a perda de rendimento, redução acentuada do valor comercial destes animais, sem considerar os gastos com veterinário, resultando em perdas econômicas (STOCK ET AL., 2005a).

A osteocondrose dissecante na articulação tíbio társica representa um processo ativo com degradação da matriz cartilágnea, independente dos sintomas clínicos, indicando o tratamento cirúrgico como fator determinante para o retorno da carreira atlética (MACHADO, 2010).

Tanto em humanos, quanto em equinos, o tratamento de lesões crônicas ou de lenta evolução clínica, como a osteocondrose, se tornou um desafio, principalmente, pela inadequada reorganização tecidual do tecido lesado, bem como pela alta taxa de recidiva da lesão, determinando o encerramento da carreira do atlética, ou a sua inadequada performance no retorno ao esporte (ZILTENER et al. 2012). Tradicionalmente, em casos de osteoartrite, o ácido hialurônico (AH) tem sido utilizado no tratamento intra-articular. Possui a capacidade de lubrificar a articulação, além da função de nutrição da cartilagem articular; e apesar de sua meia vida ser de apenas 13 horas, os benefícios clínicos de seu uso se mantêm por semanas a meses (CORONADO et al., 2015).

Atualmente, na espécie equina, tem-se estudado o uso do plasma rico em plaquetas (PRP) para o tratamento de diferentes enfermidades, dentre elas a osteoartrite (CARMONA et al., 2009).

Considerando a osteocondrose dissecante na crista intermédia da tíbia de equinos uma enfermidade que afeta o desempenho atlético de animais de esporte, este estudo visa comparar os efeitos terapêuticos da utilização de PRP comercial e do ácido hialurônico, como adjuvantes no tratamento intra-articular no período pós operatório recente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. OSTEOCONDROSE

Uma das enfermidades muito observada nas articulações dos equinos é a osteocondrose, também chamada de discondroplasia. A osteocondrose pode ocorrer de duas formas; a mais comum é a osteocondrose dissecante, na qual ocorre uma subfragmentação, com ou sem envolvimento do osso subcondral, e a outra manifestação é a formação de cistos no osso subcondral (WATKINS, 1999). Tem por definição a falha na ossificação endocondral, sendo que, quando esta falha chega à superfície articular pode formar fragmentos intra-articulares, originando, então, a osteocondrose dissecante (DYSON & ROSS, 2003).

Os termos osteocondrite e osteocondrose se confundem e são utilizados como sinônimos; mas alguns autores sugerem osteocondrose dissecante pelos fragmentos não apresentarem componentes inflamatórios na enfermidade (YTREHUS et al., 2007).

O osso terminal é formado pela metáfise e epífise; entre estas duas regiões temos a placa epifisária ou cartilagem fisária, aonde ocorre o crescimento longitudinal dos ossos longos, dado pela multiplicação dos condrócitos que posteriormente, formarão tecido ósseo, denominada de ossificação endocondral (JEFFCOTT, 1991; VAN WEEREN, 2006). Este processo confere apoio e sustentação ao membro durante o crescimento vertical do animal (YTREHUS et al., 2007).

A primeira lesão de osteocondrose dissecante em equinos foi descrita em 1947 (REJNO & STROBERG, 1978), e desde então, uma série de estudos foram realizados para determinar suas causas e possíveis tratamentos (MCILWRAITH, 2013).

As causas genéticas podem contribuir em cerca de 25% na progressão desta enfermidade (VAN WEEREN, 2006). O fator predisponente mais citado é o biomecânico (MCILWRAIGHT, 1987; JEFFCOTT, 1991; YTREHUS; CARLSON; EKMAN, 2007), e umas das evidências é que as lesões de osteocondrose estão sempre em regiões anatômicas bem definidas, como acontece na articulação tíbio társica (VAN WEEREN, 2006).

Citam-se causas nutricionais em animais submetidos à dietas com altos níveis de carboidratos que apresentam aumento na resposta glicêmica, causando hiperinsulinemia. Este quadro ocasiona alterações nos fatores de crescimento derivados da insulina 1 e 2, que afetam a maturação dos condrócitos e, por consequência, um processo de mineralização ineficiente (PAGAN, 2005). Dentre os microelementos, sabe-se que o Zinco e o Cádmio podem antagonizar o Cobre. Dietas ricas em Cobre revelaram menor incidência de animais com problemas ortopédicos (VAN WEEREN, 2006).

Em equinos adultos, o aumento da atividade metabólica das metaloproteinases pode causar a perda da integridade da cartilagem nas regiões mais profundas, com perda da resistência física, promovendo fissuras no osso subcondral e liberação de fragmentos intraarticulares (AL HIZAB et al., 2002).

Epidemiologicamente, a osteocondrose, com ou sem fragmentos articulares é um achado radiográfico comum em raças europeias de salto, também chamados de “Warmbloods” (HOPPE, 1984; SANDGREN, 1988; STOGAARD et al., 1997; STOCK et al., 2005a, 2005b, 2006). Na Europa, há uma estimativa de que 20 a 25 % dos potros irão apresentar fragmentos de osteocondrose dissecante; e no noroeste europeu este número representa 20.000 a 25.000 potros, anualmente (BARNEVELD & VAN WEREEN, 1999), sendo comumente conhecida como doença ortopédica de desenvolvimento (MCILWRAITH & FOERNER, 1991). Um estudo realizado no estado de São Paulo, com garanhões da raça Brasileiro de Hipismo, de 3 anos de idade, revelou a incidência de 7,7% de lesões de osteocondrose dissecante como achados radiográficos (GALLO, 2010).

As articulações mais acometidas pela osteocondrose são a articulação tíbio-társica, seguidas pela fêmuro-tíbio-patelar, escápulo-umeral, e metacarpo/tarso-falangeana (HARRISON & EDWARDS, 1996).

Um dos locais de maior incidência de osteocondrose dissecante em equinos é a crista intermédia do osso tíbia, podendo ocorrer unilateral ou bilateralmente (MCILWRAITH, 2013; BUTTLER et al., 1993; HARRISON & EDWARDS, 1996; OLSTAD et al., 2006), seguidos pela tróclea lateral do osso talus, e o maléolo medial do osso tíbia (BUTTLER et al., 1993; HARRISON & EDWARDS, 1996; OLSTAD et al., 2006). Um estudo realizado na Irlanda em 1231 animais assintomáticos, 118 animais apresentaram fragmento de osteocondrose dissecante na crista

intermediária do osso tíbia, e destes, 53 animais apresentaram a lesão bilateral (VOZ, 2008).

Mesmo sem sintomas clínicos, muito se discute sobre a perda de performance, redução acentuada do valor venal destes animais, sem falar nos gastos com o médico veterinário, resultando em perdas econômicas em todos os níveis (STOCK et al., 2005a). Machado (2010) concluiu que as lesões de osteocondrose dissecante na articulação tíbio-társica, em equinos com idade acima dos 18 meses, representam um processo ativo com degradação da matriz cartilágnea, independente dos sintomas clínicos, indicando o tratamento cirúrgico como fator determinante para a continuidade da carreira atlética (MACHADO, 2010).

A osteoartrite na articulação tíbio-társica pode ser de origem primária ou secundária à osteocondrose dissecante. A apresentação clínica desta afecção é variável, desde ausência de claudicação até claudicação leve, moderada ou severa; da mesma forma pode apresentar pouca, discreta, moderada ou grave efusão sinovial (DYSON & ROSS, 2003). Sheley & Dyson (1984) caracterizaram a osteocondrose da crista intermédia do osso tíbia como lesões de possível significado clínico. Cavalos com lesões nas trócleas do talus, secundárias à lesão de osteocondrose dissecante da crista intermédia da tíbia, apresentam normalmente claudicação leve e variáveis graus de efusão sinovial; entretanto, animais que apresentam alterações cartilágneas focais ou extensas nas superfícies articulares entre o osso talus e osso tíbia podem apresentar claudicação grave. Durante exame clínico, o bloqueio intra-articular com lidocaína 2%, normalmente, torna ausente a claudicação (DYSON & ROSS, 2003).

2.2. DIAGNÓSTICOS DA OSTEOCONDROSE DISSECANTE

2.2.1. ESTUDO RADIOLÓGICO

Se o quadro clínico é resultante de uma osteoartrite na articulação tíbio-társica secundária à osteocondrose dissecante, o dos métodos para diagnóstico definitivo é a avaliação radiológica (MCILWRAITH, 2013), por ser direto e prático (VAN WEEREN, 2006). O estudo radiológico completo da articulação deve conter as incidências dorso-palmar; látero-medial, dorso lateral plântaro medial oblíqua e

dorso medial plântaro lateral oblíqua (Figura 1), sendo que, esta última projeção é a melhor para avaliação da crista intermédia do osso tíbia (BUTTLER et al., 1993).

Figura 1. Estudo Radiológico - Fragmento de Osteocondrose Dissecante - Crista Intermédia da Tíbia

Fonte: autor

2.2.2. LÍQUIDO SINOVIAL

Um importante aliado no diagnóstico de osteoartrite é a avaliação do líquido sinovial, que pode ser realizada pela mensuração das características físicas e citológicas do mesmo. O líquido sinovial normal deve ser límpido, amarelo citrino e

viscoso. Trata-se de ultrafiltrado plasmático que além do ácido hialurônico, que está presente em altas concentrações, possui proteínas de alto peso molecular (TODHUNTER, 1996; VAN PELT, 1974).

O total de células nucleadas tem que ser menor do que 1×10^9 g/l, com menos que 10% de neutrófilos e proteína total menor que 20 g/l (SMITH, 2010). A contagem total e diferencial dos leucócitos não permitem um diagnóstico preciso, mas auxiliam na confirmação de um processo patológico (VAN PELT, 1974). Cerca de 2% da proteína do líquido sinovial é originada do plasma, sendo que nos processos inflamatórios ocorre um aumento de permeabilidade vascular, com a entrada de proteínas para o meio intra-articular (VAN PELT, 1974; KORENEK et al., 1992; TROTTER & McILWRAITH, 1996).

Um aspecto importante da análise do líquido sinovial é a possibilidade de avaliação de novas terapias para o tratamento de enfermidades articulares nos equinos. Esta análise permite examinar os efeitos de medicações comumente empregadas, e novos tratamentos propostos, sobre a função da membrana sinovial, e sobre os processos de degeneração da cartilagem articular (TEW; HOTCHKISS, 1981).

2.2.3. ULTRASSONOGRAFIA

A ultrassonografia é outra técnica diagnóstica auxiliar nos casos de osteocondrose dissecante. Tem sido muito utilizada para avaliar o aspecto do líquido sinovial antes de sua colheita, alterações de silhueta óssea, bem como para determinar espessura da cápsula articular. Primeiramente foi proposto por pesquisadores Belgas para avaliar alterações nos tecidos moles da articulação, mas sempre em conjunto com o exame radiológico. Num grupo com 100 animais submetidos à avaliação ultrassonográfica e radiológica, 100% apresentaram alterações no exame ultrassonográfico, enquanto 69,7% destes animais apresentaram alterações radiológicas (RAES ET AL., 2010). A cápsula articular é formada por uma parte externa fibrosa rica em colágeno com função estrutural (McILWRAITH, 2001). Possui rica vascularização e inervação sensorial (CAOLA, 2003). Na parte interna temos uma membrana sinovial, também rica em vascularização, com funções fagocíticas, controle da proteína articular e de produção do ácido hialurônico do líquido sinovial. Danos a esta estrutura induzem à

liberação de metaloproteinases, prostaglandinas, radicais livres e citocinas pelos sinoviócitos do tipo B (McILWRAITH, 2001), caracterizando um processo inflamatório, com aumento da espessura capsular e efusão sinovial (JONHANSEN & REJNO, 1976).

2.2.4. VÍDEO ARTROSCOPIA

O método diagnóstico definitivo e o tratamento da osteocondrose dissecante é a vídeo-artroscopia (Figura 2) da articulação tíbio-társica. Técnica pouco invasiva, não causando lesões extensas à cápsula articular, além de ser eficiente na retirada dos fragmentos, limpeza dos tecidos degenerados e na inspeção de todas as estruturas anatômicas da articulação tíbio-társica. Quando a osteocondrose dissecante da crista intermédia de tibia é diagnosticada e tratada por meio da vídeo artroscopia de maneira precoce, a afecção tem bom prognóstico, permitindo o animal retornar à sua função atlética normalmente. Evita-se a evolução do processo para osteoartrite e as consequentes lesões crônicas e/ou irreversíveis da articulação tíbio-társica (MCILWRAITH, 2013).

Figura 2. Cirurgia de Vídeo Artroscopia

Fonte: autor

Alguns animais podem apresentar fragmentos intra-articulares grandes e/ou com grande mobilidade, assim, como alguns destes fragmentos podem se desprender para o interior da articulação, podendo causar maiores lesões aos tecidos adjacentes, como cartilagem hialina, osso subcondral e membrana sinovial, podendo tornar-se um quadro de osteoartrite secundária crônica, com prognóstico de retorno atlético dependente das lesões instaladas (MCILWRAITH, 2013). Na articulação tíbio társica, o principal sinal clínico das osteocondroses dissecantes é a efusão sinovial, e a cirurgia de vídeo artroscopia é recomendada em 100% dos casos para a remoção dos fragmentos, visto que o tratamento conservativo para esta enfermidade não é efetivo para o principal sintoma clínico, que é a efusão sinovial. Da mesma forma, não impede a evolução do processo de osteoartrose, uma vez que o estímulo negativo do fragmento articular permanece presente (McILWRAITH, 2013).

2.3. TRATAMENTOS ADJUVANTES INTRAARTICULARES

2.3.1. PLASMA RICO EM PLAQUETAS

Tanto em humanos, quanto em equinos, o tratamento de lesões crônicas ou de lenta evolução clínica se tornou um desafio, principalmente pela inadequada reorganização tecidual do tecido lesado, bem como pela alta taxa de recidiva da lesão, determinando o encerramento da carreira do atleta, ou a seu inadequado desempenho no retorno ao esporte (ZILTENER et al., 2012).

Em animais de esporte as principais lesões ortopédicas envolvendo ligamentos, tendões e articulações são decorrentes do aumento de exigência atlética, e normalmente respondem apenas parcialmente às terapias convencionais (BROSSI et al., 2015).

Neste contexto, o uso de material autólogo como adjuvante no auxílio do processo de cicatrização vem sendo amplamente estudado. Dentre eles, tem-se estudado muitos produtos derivados do sangue, como o plasma rico em plaquetas (PRP) ou plasma rico em fatores de crescimento, o soro condicionado autólogo, preparações de sangue autólogo, e concentrados de proteína autólogas (CHEVALIER, 2010).

Preparações ricas em plaquetas derivadas do sangue são o grande foco de estudos nas últimas 3 décadas por possuírem grande quantidade de fatores de crescimento, e outros componentes que auxiliam na melhora do processo cicatricial, como a fibrina e os leucócitos (BOSWELL et al., 2012). Alguns autores sugerem que a melhor definição para este produto é a de concentrado de plaquetas, pois não há um consenso em relação à técnica laboratorial empregada ou o melhor kit de coleta a ser usado (CARMONA et al., 2013).

Muito critério deve ser empregado na interpretação dos resultados clínicos do uso do PRP. Em um estudo sistemático realizado, comparou-se o uso terapêutico do PRP em lesões ortopédicas em 60 estudos clínicos; sendo 11 estudos realizados em cavalos, e 49 estudos realizados em humanos. Destes 60 estudos, em 28 estudos (46,7%), o PRP apresentou resultados positivos, já em 26 estudos (43,3%), resultados negativos. Quando separadas as espécies, observou-se que nos 11 estudos em equinos, 7 estudos (63,6%) apresentaram resultados positivos, 3 (27,3%) resultados parcialmente positivos e apenas 1 (9,1%) resultado negativo. Ao passo que em humanos, 21 estudos (42,8%) apresentaram resultados positivos, 25 (51%) apresentaram resultados negativos, e 3 (6,1%) resultados parcialmente positivos. Nestes 7 estudos clínicos realizados em equinos, foi constatado que não havia presença de um grupo controle. Conclui-se que o bom delineamento experimental está diretamente relacionado à veracidade dos resultados finais, bem como a padronização da técnica de coleta e produção do PRP (BROSSI et al., 2015).

O processo de reparação tecidual é ativo quando temos uma osteoartrite e é liderado por alguns fatores de crescimento (CHEVALIER, 1998). Mas quando esta articulação apresenta um processo inflamatório associado, os condrócitos falham nesta resposta em relação ao fator de crescimento semelhante a insulina 1, e apresentam uma resposta não convencional ao fator de crescimento transformante beta. Na espécie equina, o plasma rico em plaquetas (PRP) é estudado para o tratamento de diferentes enfermidades, dentre elas a osteoartrite (CARMONA et al., 2009). As plaquetas possuem fatores de crescimento, como fator de crescimento transformante β (TGF- β), fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento

epidermal (EGF) e fator de crescimento epidermal derivado de plaquetas (PDEGF) (KON, 2011). Estes fatores de crescimento promovem aumento da transcrição gênica, proliferação e diferenciação celular (VENDRUSCOLO et al., 2012).

Hipotetiza-se que estes fatores de crescimento contidos no PRP possam contribuir para a regeneração da cartilagem articular, uma vez que o TGF- β aumenta a expressão fenotípica dos condrócitos, diferenciação condrogênica das células tronco mesenquimais, disposição de matriz extracelular, além de diminuir os efeitos supressivos do mediador inflamatório interleucina 1 na síntese do proteoglicano na cartilagem. O PDGF aumenta a proliferação de condrócitos e síntese de proteoglicanos e o IGF-1 estimula síntese de proteoglicanos, ao mesmo tempo que atrasa seu catabolismo (KON et al., 2011).

O PRP é obtido a partir do sangue não coagulado, pois quando no coágulo, as plaquetas já foram ativadas e degranuladas (FOSTER et al., 2009). Para obtenção de PRP faz-se necessária a colheita de sangue e centrifugação do mesmo, em velocidades e tempos pré-definidos, o que determina maiores ou menores concentrações de plaquetas, além da necessidade de adição de fator de ativação das mesmas (PEREIRA, 2012). Outro método existente para obtenção de PRP é por aférese, no qual o sangue é coletado em bolsa apropriada e passa pelo dispositivo Pall's. Textor et al. (2011) constataram que, apesar do número de plaquetas ser maior nos métodos de centrifugação, os níveis de PDGF e TGF- β foram maiores pelo método de aférese, explicado pela ativação prematura das plaquetas na centrifugação. Atualmente, é possível encontrar kits comerciais para administração de PRP obtidos por aférese.

Os relatos de eficácia do PRP na articulação, seus efeitos anabólicos e catabólicos no ambiente sinovial ainda precisam ser melhor esclarecidos (MORAES ET AL, 2015). Apesar de haver estudos promissores, com o uso do PRP intra-articular, em um estudo de 2013 mostrou que a administração de PRP em articulações saudáveis em equinos revelou uma resposta inflamatória de leve e moderada, por até 24 horas (TEXTOR & TABLIN, 2013).

Estudos clínicos bem delineados que provem a eficácia terapêutica em equinos com artropatias ainda são escassos, bem como as respostas do ambiente articular a aplicação *in situ* do PRP (MORAES ET AL, 2015).

Como citado por Textor (2013) temos o efeito inflamatório do uso do PRP por até 24 horas da aplicação. Da mesma maneira estudos com modelo animal e em humanos sugerem resultados positivos do uso intra-articular do PRP, atribuindo isso as suas propriedades antiinflamatórias (LIPPROSS, 2011), e não aos efeitos anabólicos dos fatores de crescimento, principalmente na cartilagem articular (TEXTOR ET AL, 2013). Esta contradição é refletida pela falta de total compreensão dos fatores bio-ativos do PRP (MORAES ET AL, 2015).

2.3.2. ÁCIDO HIALURÔNICO

O ácido hialurônico (AH) é responsável pelas propriedades visco elásticas do líquido sinovial. Além de lubrificar, e proteger a articulação contra choques mecânicos; possui a função de formar um filme sobre a cartilagem, mantendo a estrutura da matriz cartilagínea, impedindo a perda dos proteoglicanos, e prevenindo a entrada de células inflamatórias na matriz (BALAZS, 1982).

Trata-se um glicosaminoglicano linear sintetizado pelos sinoviócitos do Tipo B, pela ação da hialuronan sintetase (PHILIPSON & SCHWARTZ, 1984; PREHM, 1984); além de ser componente da cartilagem articular (HOLMES et al., 1988), é utilizado como tratamento intra-articular em casos de osteoartrite.

Possui a capacidade de lubrificar a articulação, além da função de nutrição da cartilagem articular; e apesar de sua meia vida ser de apenas 13 horas, os benefícios clínicos de seu uso terapêutico se mantém por semanas a meses (CORONADO et al., 2015).

Quando administrado por via intravenosa, promove diminuição da claudicação, melhora do aspecto da membrana sinovial e diminuição da concentração articular de proteínas e de prostaglandinas (KAWCAK et al., 1997). Seu uso intra-articular modula resposta quimiotática, reduzindo a migração celular das células inflamatórias (FORRESTER & BALAZS, 1980; HOWARD & McILWRAITH, 1993).

Em teoria sua administração exógena repõem o AH degradado pelo processo inflamatório, reestabelece a viscosidade do líquido sinovial, e faz manutenção da matriz cartilagínea; além de diminuir a liberação pelos macrófagos

da prostaglandina, durante a fase se fagocitose (HOWARD & McILWRAITH, 1993), e age na diminuição da liberação de radicais livres (SATO et al., 1988).

3. JUSTIFICATIVA

Considerando a osteocondrose dissecante na crista intermédia da tíbia de equinos uma afecção que afeta o desempenho atlético de animais de esporte; este estudo visa avaliar a real necessidade de utilização, e comparar os efeitos terapêuticos da utilização de PRP comercial, e do AH como adjuvante no tratamento intra-articular no período pós operatório recente.

4. OBJETIVOS GERAIS

Comparar a resposta terapêutica do plasma rico em plaquetas comercial e do ácido hialurônico comercial, como adjuvantes no tratamento intra-articular pós-operatório, em equinos com lesão de osteocondrose dissecante na crista intermédia da tíbia.

4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em potros diagnosticados com osteocondrose dissecante na crista intermédia da tíbia:

- Realizar o tratamento cirúrgico por vídeo artroscopia com a remoção do fragmento de osteocondrose dissecante e debridamento do tecido osteocondral degenerado.
- Dez dias após o procedimento cirúrgico administrar o tratamento adjuvante com PRP, AH e RCL.
- Comparar as características do líquido sinovial, a espessura da cápsula articular por ultrassonografia, avaliar a silhueta ósseas por radiologia, e avaliar a recuperação clínica após os diferentes tratamentos.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto de pesquisa foi desenvolvido no Hospital Veterinário Gonzales e Pereira SS LTDA, Batatais/SP, juntamente com a Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo – Campus Fernando Costa em Pirassununga –SP.

5.1. ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados 18 equinos, com idade variando entre 2 a 6 anos de idade, machos e fêmeas, da raça Brasileiro de Hipismo, com peso corpóreo entre 400 e 650 kg. Estes animais foram oriundos do mesmo criatório, ou seja, criados no mesmo ambiente, com a mesma manipulação e cuidados, no mesmo sistema de doma, com o mesmo manejo nutricional, e com o mesmo manejo sanitário.

Os animais que apresentaram fragmentos de osteocondrose dissecante na crista intermédia do osso tíbia foram escolhidos para fazer parte deste estudo.

Uma vez selecionados, estes animais foram encaminhados para o Hospital de Equinos de Batatais, para o tratamento cirúrgico por vídeo artroscopia.

5.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

No Dia 0 (D0), dia da cirurgia de vídeo artroscopia, o animal foi primeiramente avaliado em relação ao teste de flexão da articulação tíbio tarso metatársica (Stashak, 1987), e avaliado em relação aos graus de efusão sinovial. Em seguida, o animal foi preparado para o procedimento de sedação e anestesia geral. Uma vez posicionado na mesa cirúrgica o animal foi tricotomizado na região da articulação tíbio tarso metatársica, e foi realizado o estudo radiológico da lesão pré cirúrgica, com a incidência dorso lateral plântaro medial oblíqua, que é a projeção que melhor evidencia a enfermidade. Logo em seguida, foi realizado o exame ultrassonográfico no aspecto medial da articulação tíbio társica para determinar a espessura da cápsula articular.

Após a avaliação ultrassonográfica foi realizada a antissepsia da região, e logo antes do início do procedimento cirúrgico foi feita a colheita do líquido sinovial da articulação acometida para avaliação.

Por fim, foi realizada a cirurgia de vídeo artroscopia na qual retirou-se o fragmento de osteocondrose dissecante. Os animais se recuperaram do procedimento de anestesia geral, e fizeram o período pós-operatório de 5 dias quando foi dada alta hospitalar para retornar ao centro hípico.

No dia 10 (D10), os animais foram avaliados em relação à efusão sinovial. Em seguida, na região medial à veia safena da articulação tíbio-társica, foi realizada a antissepsia para a colheita do líquido sinovial. Neste momento, por sorteio, os animais recebem o tratamento intra-articular de plasma rico em plaquetas (PRP), ou ácido hialurônico (AH), ou 4 ml de Solução de Ringer com Lactato como controle (RCL). Desta maneira formamos um grupo PRP formado por 6 animais; um grupo HA formado por 6 animais; e um grupo LRS também formado por 6 animais.

No D10, não foram realizados o teste flexão, o estudo radiológico e a avaliação ultrassonográfica, pois como ainda existia uma ferida cirúrgica patente, obteriam-se resultados falsos positivos ao teste de flexão, não identificariam-se alterações radiológicas pertinentes, pelo curto período em relação ao D0, e não se obteria uma avaliação adequada da espessura da cápsula articular, pois ainda havia ferida cirúrgica patente e edema de subcutâneo.

No dia 30 (D30), os animais foram avaliados em relação à efusão sinovial e ao teste flexão. Foi realizado o estudo radiológico, no qual procurou identificar alterações da silhueta óssea. Foi realizada a medida da espessura da cápsula articular pelo exame ultrassonográfico. E, por último, na região medial à veia safena, da articulação tíbio-társica, foi realizada a antissepsia para a colheita do líquido sinovial.

No dia 60 (D60), logo antes da alta médica para início da atividade esportiva, os animais foram avaliados em relação à efusão sinovial e ao teste flexão pela última vez.

Figura 3. Fluxograma do Delineamento Experimental.

Fonte: autor

5.2.1. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os animais que apresentam lesão de osteocondrose dissecante, diagnosticados por exame radiológico, foram encaminhados para o Hospital de Equinos de Batatais para o tratamento cirúrgico por vídeo artrosopia.

Os animais chegaram em média 24 horas antes do procedimento cirúrgico. Foram alojados em cocheiras de 4m x 4m, com água limpa a vontade e feno de Tifton do tipo A, em poucas quantidades, repostos a cada duas horas. Uma hora após a chegada foi coletado sangue para exame de hemograma completo, proteína total e contagem de plaquetas. Um exame clínico completo foi realizado para identificação de qualquer alteração clínica que pudesse comprometer o procedimento anestésico e ou cirúrgico, e uma inspeção minuciosa da região manipulada foi realizada em

busca de pontos de perda de continuidade da pele, que pudessem abrigar infecção do tecido subcutâneo, o que comprometeria o procedimento cirúrgico.

Os animais que não apresentaram quaisquer alterações clínicas, e os valores do exame de hemograma completo, da proteína total e da contagem de plaquetas estavam dentro dos limites normais foram preparados para procedimento cirúrgico. Foi feito um jejum alimentar de doze horas, sem jejum hídrico.

Duas horas antes do procedimento cirúrgico, juntamente com o veterinário responsável foi feita a graduação do teste de flexão (Stashak, 1987) e da efusão sinovial, e o animal retornou para a cocheira.

5.2.2 RESPOSTAS AO TESTES DE FLEXÃO E AVALIAÇÃO DA EFUSÃO SINOVIAL

O teste de flexão consiste da flexão forçada, isolada, da articulação a ser avaliada. Pede-se para um auxiliar trotar o animal por 40 metros, ida e volta, em busca de alterações de movimentação, sempre focando no membro acometido pela lesão de osteocondrose dissecante. Logo após este trote inicial, no caso da articulação tíbio társica, a mesma foi mantida em flexão forçada por um minuto e meio e pede-se para o auxiliar trotar o animal novamente; desconsidera-se os 4 a 5 primeiros passos, e compara-se a movimentação com a primeira visualização. No teste de flexão positivo, observa-se a assimetria da musculatura glútea, com aumento do arco de elevação do membro posterior testado, e encurtamento da fase cranial da passada (Stashak, 1987). A resposta ao teste de flexão da articulação tíbio társica, acometida pela lesão de osteocondrose dissecante, foi graduada e classificada em uma escala de cruces, sendo 0 – ausência de resposta dolorosa; uma cruz (+) - resposta dolorosa discreta; ++ - resposta dolorosa moderada; +++ - resposta dolorosa exacerbada.

O teste de flexão da articulação tíbio társica foi realizado no D0 e repetido no D30 e D60.

A articulação tíbio-társica também foi avaliada em todos os equinos para presença de efusão articular, sendo classificada também em uma escala de cruces: sendo 0 – ausência de efusão sinovial; + - efusão sinovial discreta; ++ - efusão

sinovial moderada; +++ - efusão sinovial marcada. Esta avaliação foi realizada em D0 e repetida em D10, D30 e D60.

5.2.3. PROCEDIMENTO ANESTÉSICO

O animal foi pesado para o cálculo das doses dos fármacos a serem utilizados. A boca foi enxaguada para que não ocorra transporte de conteúdo alimentar para a traquéia do animal, que poderia levar a uma falsa via, e a uma pneumonia no período pós-operatório recente. Os cascos foram limpos e lavados para levar o mínimo de sujidades possível para dentro do ambiente cirúrgico.

Foi realizado o acesso venoso no terço médio do pescoço, do lado esquerdo, com um Cateter Longo 14G, de maneira estéril, com antissepsia cirúrgica e uso de material estéril. O animal foi encaminhado para a sala de indução, onde recebeu a dose de 0,01mg/kg de Detomidina como medicação pré-anestésica. Uma vez bem sedado, inicia-se o processo de indução anestésica; o animal recebeu 0,1 mg/kg de Diazepan, e na sequência 2,2 mg/kg de Ketamina.

Uma vez induzido e com relaxamento muscular satisfatório, o animal foi entubado com uma sonda oro-traqueal tamanho variando do 24 ao 30; e ao mesmo tempo recebe as peias de contenção para ser levantado pelo guindaste elétrico para posicionamento em decúbito dorsal na mesa cirúrgica.

O animal foi conectado a um aparelho de anestesia inalatória com ventilação mecânica automática, e com fluxo de isoflurano usando vaporizador calibrado, que faz a manutenção anestésica.

O animal foi monitorado por um monitor multi-paramétricos que nos forneceu os valores de oximetria de pulso, e o padrão eletrocardiográfico. A pressão arterial central foi aferida por meio de esfigmomanômetro calibrado, conectado à artéria facial.

Uma vez terminado o procedimento cirúrgico o animal passa pela transição de ventilação mecânica para ventilação espontânea e foi encaminhado para a recuperação assistida, em sala de recuperação.

5.2.4. CIRURGIA DE VIDEO-ARTROSCOPIA

Após tricotomia com máquina de tricotomia, utilizando a lâmina 0, para evitar lesões de pele pelo uso de lâminas de barbear, foi realizada a antissepsia cirúrgica da articulação Tíbio Társica, com Povidona Iodo Dergermante a 10%, em escovação por 3 minutos e retirada com Álcool 70%; repete-se este procedimento mais uma vez e por fim foi passado Povidona Iodo Tópica e retirada com Álcool 70%.

Terminada a antissepsia, os panos de campo descartáveis estéreis foram posicionados, a fim de isolar a região preparada, e todo material para cirurgia de vídeo artroscopia foi ligado. Neste momento, foi realizada a colheita do líquido sinovial como descrito previamente.

Foi utilizado o acesso dorso medial, usando como referência, 2 cm abaixo do maléolo medial da tíbia, na região lateral à veia safena e medial aos tendões tibial cranial, peroneus tertius e extensor digital longo. Feita a incisão de aproximadamente 2 cm de pele, insufla-se a articulação com solução de ringer com lactato estéril, com o auxílio de uma bomba de insulflação artroscópica. Quando a articulação está bem pressurizada, inicia-se a entrada, com cuidado, com o trocater agudo, e logo que ultrapassa-se a cápsula articular troca-se para o trocater rombo.

Uma vez na articulação, todos os compartimentos da articulação Tíbio Társica, o aspecto lateral, o dorsal, o ventral e o medial foram avaliados para observar e determinar sinais de degeneração. Feita esta avaliação inicial, posiciona-se a lente na crista intermédia do osso tíbia para documentar o tamanho do fragmento de osteocondrose dissecante (Figura 4), e com uma agulha hipodérmica 40x10 foi determinado, lateralmente, o melhor acesso de instrumental, para soltar o fragmento, de forma a permitir sua retirada (Figura 5). A pele e o tecido subcutâneo foram incisados com uma lâmina de bisturi nº 11, e em seguida a cápsula articular também foi incisada. Feito o portal de instrumental, o fragmento foi avaliado com o explorador, solto com um elevador de periósteo, e retirado com uma pinça "Rounger de Ferris Smith". Removido o fragmento, realizou-se o debridamento do tecido degenerado do leito da crista sagital da tíbia, a fim de estabelecer um local adequado para o processo cicatricial de fibrocartilagem. Os instrumentos são retirados e a pele foi suturada com nylon 0, no padrão simples separado. Os animais recebem bandagem compressiva, que foram trocadas a cada 2 dias, e o pontos

retirados com 14 dias. Os animais ficam em repouso, em cocheira, por 60 dias, saindo apenas para uma breve caminhada.

A medicação pós operatória consiste de antibióticoterapia com penicilina procaína 22.000UI/kg, via intramuscular, duas vezes ao dia, por 5 dias; gentamicina 6,6 mg/kg, via intravenosa, diluída em solução de glicose 5%, uma vez ao dia, por 5 dias; flunixin meglumine 1,1 mg/kg, via intravenosa, uma vez ao dia, por 3 dias; e omeprazol 4 mg/kg, via oral, uma vez ao dia, por 10 dias.

Figura 4. Fragmento de Osteocondrose Dissecante em Crista Intermédia do Osso Tíbia.

Fonte: autor

Figura 5. Área de degeneração causada pelo fragmento de Osteocondrose Dissecante.

Fonte: autor

5.2.5. APLICAÇÃO DO PRP COMERCIAL, ÁCIDO HIALURÔNICO OU RINGER LACTATO

No D10, após a avaliação da efusão sinovial, os animais do grupo PRP foram submetidos ao tratamento intra-articular, com a administração de 4 ml de PRP, obtido pelo Kit comercial da Arthrex^{R 2} (Figura 6), após a colheita de líquido sinovial. O grupo AH recebeu tratamento intrarticular, com a administração de 2 ml de ácido hialurônico comercial (Fermathron^{R 3}), após a colheita do líquido sinovial. E os animais do grupo controle (RCL) foram submetidos à administração de 4 ml de solução de ringer com lactato estéril, após a colheita do líquido sinovial.

Figura 6. Kit PRP Comercial Artrex^R

Fonte: www.arthrex.com

5.2.6. ESTUDO RADIOLÓGICO

Previamente ao início da cirurgia vídeo-artroscópica no D0, com o membro estendido, foi realizado o estudo radiológico. A projeção de escolha foi a dorso-medial-plântaro-lateral oblíqua, que permite melhor evidenciar a crista intermédia da tibia. As projeções foram repetidas no D30 de pós-cirúrgico para avaliar possíveis lesões.

2. Kit Comercial PRP Arthrex – www.arthrex.com
3. Fermathron: hialuronato de sódio 20mg/2ml - MERK^R

5.2.7. ESTUDO ULTRASSONOGRÁFICO

Previamente ao início da cirurgia vídeo-artroscópica no D0, foi realizado o estudo ultrassonográfico para mensuração da espessura da cápsula articular, na bolsa medial, da articulação tíbio-társica, medial à veia safena, uma vez que nesta região o espaço articular é grande e não seria local de portais de entrada para a vídeo-artroscopia. As mensurações foram repetidas no D30 de pós-cirúrgico, no mesmo local da primeira avaliação.

5.2.8. COLHEITA DO LÍQUIDO SINOVIAL

Imediatamente antes do início da cirurgia de vídeo-artroscopia, foi realizada antissepsia cirúrgica da articulação tíbio-társica, com povidona iodo dergermante a 10%, em escovação por 3 minutos e retirado com álcool 70%; repetiu-se este procedimento mais uma vez e por fim foi passado povidona iodo tópica e retirado com álcool 70%. A colheita foi realizada em procedimento cirúrgico estéril, com agulha 40x10, na bolsa medial da articulação tíbio-társica, medial à veia safena. Foram colhidos 2 ml de líquido sinovial, e encaminhado imediatamente para avaliação laboratorial (Imagem 7). As colheitas de líquido sinovial foram repetidas com mesmo procedimento de antissepsia no D10 e D30 dias de pós-cirúrgico, mas com animal em estação, com contenção por “cachimbo”.

Figura 7. Líquido Sinovial – Aspecto Normal do Líquido Sinovial em D0

Legenda: líquido sinovial com coloração amarelo palha com aspecto límpido considerado normal.

Fonte: autor

5.2.8.1. AVALIAÇÃO LABORATORIAL DO LÍQUIDO SINOVIAL

O líquido sinovial foi avaliado pelos métodos visual e citológico. O método visual consiste na avaliação de coloração, presença de fibrina, coágulo de mucina, sangue, entre outros. Para realização da avaliação citológica, as amostras foram processadas e analisadas segundo técnica descrita por MAHAFFEY (1992), nas quais as proteínas são determinadas por refratometria e a contagem celular realizada em hemacitômetro. A citologia do líquido sinovial foi analisada em esfregaço do líquido sinovial, obtido do sedimento após centrifugação e corada pelo método panótico de rotina.

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Sminorv. Os dados normais, concentração de proteína e linfócitos, foram analisados em relação ao D0 por meio da análise de variância (ANOVA), seguido do pós-teste de Bonferroni. Já os dados referentes à espessura da cápsula articular foram submetidos ao teste T pareado.

Os valores que não respeitaram a distribuição normal, concentração de leucócitos, neutrófilos, neutrófilos segmentados, monócitos, efusão articular, e teste de flexão foram analisados em relação a D0 por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido da correção de Dunn.

As comparações dos momentos entre os grupos foram realizadas por meio do teste de análise de variância de dois fatores seguido do pós-teste de Tukey. As variáveis normais foram expressas em média $\pm$ desvio padrão, já as variáveis não paramétricas foram expressas em mediana e os valores mínimos e máximos. Para todos os dados foi considerado o nível de significância de $P < 0,05$.

7. RESULTADOS

Todos os animais utilizados neste estudo foram diagnosticados com osteocondrose dissecante na crista intermédia do osso tibia. A idade individual dos potros e média das idade de todos os potros e em cada um dos grupos experimentais estão apresentados nas tabelas a seguir.

Tabela 1. Média de idade dos animais experimentais

Animal	Idade
1	3 anos
2	4 anos
3	4 anos
5	5 anos
6	3 anos
7	2 anos
8	2 anos
9	6 anos
10	2 anos
11	2 anos
12	4 anos

13	3 anos
14	4 anos
15	3 anos
16	4 anos
17	4 anos
18	4 anos
19	6 anos
Média	3,611 anos

Tabela 2. Média de idade dos animais do grupo AH

Animal	Idade
1	3 anos
2	4 anos
3	4 anos
5	5 anos
14	4 anos
16	4 anos
Média	4 anos

Tabela 3. Média de idade dos animais do grupo PRP

Animal	Idade
9	6 anos
10	2 anos
12	4 anos
13	3 anos
15	3 anos
17	4 anos
Media	3,666 anos

Tabela 4. Média de idade dos animais do grupo RCL

Animal	Idade
6	3 anos
7	2 anos
8	2 anos
11	2 anos
18	4 anos
19	6 anos
Média	3,166

7.1. – AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA

O procedimento cirúrgico e as terapias adjuvantes instituídas não causaram alterações radiológicas articulares negativas em D30.

Figura 8. Estudo Radiológico D0 - Fragmento de Osteocondrose Dissecante

Fonte: autor

Figura 9. Estudo Radiológico D30 – Avaliação Radiológica Satisfatória

Fonte: autor

7.2. EXAME DO LÍQUIDO SINOVIAL

As avaliações visuais do líquido sinovial dos animais dos três grupos experimentais estão apresentados no quadro a seguir.

Tabela 5. Avaliação visual do líquido sinovial dos animais do grupo RCL

		Cor	Aspecto	Coagulação de mucina
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
6	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Turvo discreto	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
7	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Avermelhado	Turvo	Bom
	D0	Amarelo palha	Turvo discreto	Bom
8	D10	Avermelhado	Turvo discreto	Regular
	D30	Amarelo	Turvo discreto	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
11	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
18	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
19	D10	Amarelo palha	Límpido	Regular
	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom

Tabela 6. Avaliação visual do líquido sinovial dos animais do grupo AH

		Cor	Aspecto	Coagulação de mucina
1	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom

	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D0	Amarelo palha	Turvo discreto	Bom
2	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
3	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
5	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Avermelhado	Turvo	Regular
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
14	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
16	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom

Tabela 7. Avaliação visual do líquido sinovial dos animais do grupo PRP

		Cor	Aspecto	Coagulação de mucina
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
9	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
10	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Ligeiramente turvo	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
12	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
13	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo	Límpido	Bom

	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
15	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D0	Amarelo palha	Límpido	Bom
17	D10	Amarelo palha	Límpido	Bom
	D30	Amarelo	Límpido	Bom

7.3 CONTAGEM DE LEUCÓCITOS E CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA NO LS

Na análise laboratorial, bioquímica e citológica do líquido sinovial, embora tenham havido alterações, todas permaneceram dentro dos valores considerados fisiológicos normais para a espécie.

No grupo RCL, foi observada, em relação a D0, uma manutenção na contagem de leucócitos totais em relação ao tempo. Houve uma elevação significativa de neutrófilos segmentados, e D30, de 275%. Em contrapartida, houve uma redução significativa da contagem de monócitos e linfócitos em D30, respectivamente, 45% e 12% (Tabelas 8 e 9).

No grupo AH não foi observada alteração citológica ao longo do tempo em relação a D0.

No grupo PRP, houve uma elevação de 37% na concentração dos neutrófilos segmentados em D10, que voltando aos valores basais em D30 (Tabela 8).

Na comparação entre os grupos experimentais, foram observadas diferenças significativas na contagem de leucócitos totais (Gráfico 1), neutrófilos (Gráfico 2), neutrófilos segmentados (Gráfico 3), monócitos (Gráfico 4) e linfócitos (Gráfico 6). É possível observar uma elevação dos leucócitos totais, em D30, no grupo AH em relação aos grupos RCL e PRP. Em relação a contagem diferencial, em D10, o grupo PRP apresentou maior contagem de neutrófilos segmentados que o grupo AH e, em D30 o grupo AH apresentou maior contagem de neutrófilos segmentados que o grupo PRP. Já os monócitos apresentaram maiores contagem no grupo AH em D30, em relação ao grupo RCL. Quanto aos linfócitos, em D10 o grupo AH apresentou maiores contagem de linfócitos em relação ao grupo PRP; e em D30, o grupo PRP apresentou maiores contagem de linfócitos que o grupo RCL.

Tabela 8 – Medianas (mínimo e máximo) da contagem de leucócitos (leucócitos/mm³), neutrófilos segmentados (segmentados/mm³), neutrófilos (neutrófilos/mm³) e monócitos (monócitos/mm³) do líquido sinovial animais com osteocondrose dissecante tratados com solução de Ringer com Lactato (RCL), ácido hialurônico (AH), e plasma rico em plaquetas (PRP). As avaliações foram realizadas no dia 0 (D0), antes da administração dos tratamentos no dia 10 (D10), e no dia 30 (D30).

Testes	Grupos	D0	D10	D30
Leucócito	RCL	0,2 (0,1-0,2)	0,3 (0,1-0,3)	0,3 (0,2-0,7) ^a
Totais	AH	0,2 (0,2-2)	0,2 (0,1-0,3)	1 (0,2-2)
	PRP	0,1 (0,1-0,2)	0,2 (0,1-0,4)	0,2 (0,1-0,3)
Segmentado	RCL	4 (3-6)	8 (6-9) ^{ab}	15 (10-36) ^{*ab}
	AH	5 (4-9)	3 (3-7) ^b	12 (11-24) ^a
	PRP	8 (3-11)	11 (9-13) ^{*a}	11 (9-12) ^b
Neutrófilo	RCL	4 (3-6)	8 (6-9) ^{ab}	15 (10-36) ^{*ab}
	AH	5 (4-8)	3 (3-9) ^b	12 (1-24) ^a
	PRP	8 (3-11)	11 (9-13) ^{*a}	11 (9-12) ^b
Monócito	RCL	11 (6-13)	9 (6-10)	6 (5-8) ^{*a}
	AH	9 (8-15)	8 (5-10)	9 (7-13) ^b
	PRP	8 (8-12)	9 (7-10)	7 (3-9) ^{ab}

* indica diferença do momento em relação ao D0. Nível de significância $P < 0,05$.

a,b,ab indicam diferença entre grupos. Nível de significância $P < 0,05$.

Fonte: autor

Gráfico 1. Avaliação Leucócitos Totais entre os Grupos Experimentais
Fonte: autor

Gráfico 2. Avaliação Neutrófilos entre os Grupos Experimentais
Fonte: autor

Gráfico 3. Avaliação Neutrófilos Segmentados entre os Grupos Experimentais
Fonte: autor

Gráfico 4. Avaliação Monócitos entre os Grupos Experimentais
Fonte: autor

Os valores médios da concentração de proteína não apresentaram diferença ao longo do tempo (Tabela 9).

Tabela 9 – Média $\pm$ desvio padrão da concentração de proteína (g/dL), e linfócitos (linfócitos/mm³), do líquido sinovial de animais com osteocondrose dissecante tratados com solução de Ringer com Lactato (RCL), ácido hialurônico (AH) e plasma rico em plaquetas (PRP). As avaliações foram realizadas no dia 0 (D0), antes da administração dos tratamentos no dia 10 (D10), e no dia 30 (D30).

Testes	Grupos	D0	D10	D30
Proteína	RCL	1,3 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,6	1,0 $\pm$ 0,2
	AH	1,0 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,1	1,6 $\pm$ 0,6
	PRP	1,1 $\pm$ 0,7	1,2 $\pm$ 0,6	1,7 $\pm$ 1,0
Linfócitos	RCL	85,5 $\pm$ 3,6	83,6 $\pm$ 1,6 ^{ab}	75,1 $\pm$ 9,2 ^{*a}
	AH	83,6 $\pm$ 5,2	87,3 $\pm$ 2,2 ^a	79,3 $\pm$ 8,6 ^{ab}
	PRP	84,1 $\pm$ 3,3	80,1 $\pm$ 1,9 ^b	83,3 $\pm$ 3 ^b

* Indica diferença do momento em relação ao D0. Nível de significância $P < 0,05$.

^{a,b,ab} indicam diferença entre grupos. Nível de significância $P < 0,05$.

Fonte: autor

Gráfico 5. Avaliação Proteína Total entre os Grupos Experimentais
Fonte: autor

Gráfico 6. Avaliação Linfócitos entre os Grupos Experimentais
Fonte: autor

7.4. EFUSÃO SINOVIAL E TESTE DE FLEXÃO

Na avaliação da efusão sinovial articular, em relação a D0, o grupo RCL apresentou redução dos valores no D30 e no D60. Por outro lado, os grupos AH e PRP apresentaram um aumento da efusão sinovial articular, sendo que no grupo AH, o aumento foi observado em D30, não observado em D60. Já no grupo PRP, o aumento foi em D10 e D30, retonando aos valores basais em D60 (Tabela 10).

A avaliação dos valores do teste de flexão articular, em relação a D0, evidenciou melhora da resposta ao teste apenas no grupo RCL, observada em D30 e D60 (Tabela 10). No grupo PRP houve piora da resposta ao teste de flexão articular em D30 e D60, em relação a D0. Não houve alteração no teste de flexão articular, em relação a D0, no grupo AH.

Tabela 10 – Mediana (mínimo e máximo) da avaliação da efusão do líquido sinovial, e do teste de flexão articular dos animais com osteocondrose dissecante tratados com solução de Ringer com Lactato (RCL), ácido hialurônico (AH), e plasma rico em plaquetas (PRP). As avaliações foram realizadas no dia 0 (D0), antes da administração dos tratamentos no dia 10 (D10), e reavaliadas no dia 30 (D30) e no dia 60 (D60).

Testes	Grupos	D0	D10	D30	D60
Efusão	RCL	1 (1-1)	1 (0-1)	0 (0-1)*	0 (0-1)*
	AH	0 (0-0)	0 (0-0)	1 (1-1)*	0 (0-0)
	PRP	1 (0-1)	1 (1-1)*	1 (1-1)*	1 (0-1)
Flexão	RCL	1 (1-2)	-	0 (0-1)*	0 (0-1)*
	AH	0 (0-0)	-	0 (0-0)	0 (0-0)
	PRP	0 (0-1)	-	1 (1-1)*	1 (1-1)*

*indica diferença do momento em relação ao D0. Nível de significância $P < 0,05$.

Fonte: Própria autoria

7.5. ESPESSURA DA CÁPSULA ARTICULAR

A avaliação da espessura da cápsula articular trinta dias após a cirurgia (D30) evidenciou um aumento nos três tratamentos (Tabela 11).

Na comparação entre os grupos, o grupo HA apresentou menores valores em relação a espessura da cápsula articular em D0, sendo que em D30, a espessura aumentou igualando-se aos demais grupos experimentais (Gráfico 7).

Tabela 11 – Média $\pm$ desvio padrão da espessura da cápsula articular (mm) de animais com osteocondrose dissecante tratados com solução de Ringer com Lactato (LRS), ácido hialurônico (AH), e plasma rico em plaquetas (PRP). As avaliações foram realizadas no dia 0(D0) antes do procedimento cirúrgico e no dia 30(D30) vinte dias após a realização do tratamento.

Testes	Grupos	D0	D30	Valor de P
Espessura	RCL	5,4 $\pm$ 1,1	7,5 $\pm$ 1,5*	0,0194
	AH	3,6 $\pm$ 0,4 ^a	7,8 $\pm$ 1,1*	0,0001
	PRP	5,5 $\pm$ 1,0	8,8 $\pm$ 0,8*	0,0007

*indica diferença do momento em relação ao D0. Nível de significância $P < 0,05$.

^aindica diferença entre grupos. Nível de significância $P < 0,05$.

Fonte: Própria Autoria

Gráfico 7. Avaliação da Espessura da Cápsula Articular entre os Grupos Experimentais
Fonte: autor

Figura 10. Determinação da Espessura da Cápsula Articular em D0.

Fonte: autor

Figura 11. Determinação da Espessura da Cápsula Articular em D30.

Fonte: autor

8. DISCUSSÃO

A osteocondrose, em equinos, comumente conhecida como doença ortopédica de desenvolvimento, pode ocorrer de duas formas. A mais comum é a Osteocondrose Dissecante, na qual ocorre uma sub fragmentação, com ou sem envolvimento do osso subcondral; e a outra manifestação é a formação de cistos no osso subcondral (MCILWRAITH & FOERNER, 1991; WATKINS, 1999).

Tradicionalmente, quando os equinos de hipismo clássico estão aptos para o início da atividade atlética é realizado a avaliação radiológica para mapeamento de alterações patológicas. Neste exame é possível diagnosticar os casos de osteocondrose dissecante, e direcionar os animais para o tratamento por vídeo artroscopia (MACHADO et al 2012).

Muito se discute sobre a real necessidade de submeter ao procedimento cirúrgico de vídeo artroscopia os animais que apresentam, ao exame radiológico, a osteocondrose dissecante mas são assintomáticos (JORGENSEN et al, 1997 e BREHM e STAECKER, 1999). Pela sua evolução crônica e, as vezes, assintomática, a osteocondrose dissecante, causa alterações no ambiente articular, levando a perda da matriz cartilágnea, o que limita o potencial atlético do animal, acarretando em queda no desempenho atlético e perdas econômicas em todos os níveis da indústria equina (MCILWRAITH & FOERNER, 1991)

MACHADO et al (2012) comprovaram a presença de grande concentração de sulfato de condroitina no líquido sinovial de animais assintomáticos, demonstrando a real necessidade da indicação da vídeo artroscopia para retirada dos fragmentos de osteocondrose dissecante.

Os equinos utilizados foram oriundos de um mesmo criatório, com idade semelhante, antes do início da atividade atlética, que apresentam osteocondrose dissecante de crista intermédia do osso tibia, diagnosticada por avaliação radiológica. A cirurgia de vídeo artroscopia teve a função de corrigir a lesão, pela remoção do fragmento, a fim de reestabelecer o ambiente articular e promover regeneração da articulação (MCILWRAITH, 2013).

O processo de reparação tecidual é ativo, e quando temos uma osteoartrose, é liderado por alguns fatores de crescimento (CHEVALIER, 1998). Por isso associamos o PRP como adjuvante terapêutico intraarticular no período pós

operatório. Mas, quando esta articulação apresenta um processo inflamatório associado, os condrócitos falham nesta resposta em relação ao fator de crescimento semelhante a insulina 1, e apresentam uma resposta não convencional ao fator de crescimento transformante beta (CARMONA et al., 2009). Portanto, no presente trabalho utilizamos o PRP apenas com 10 dias após o procedimento cirúrgico para evitar a influência negativa do processo inflamatório cirúrgico.

Da mesma maneira, o ácido hialurônico possui a capacidade de lubrificar a articulação, além da função de nutrição da cartilagem articular; e comprovadamente possui características terapêuticas benéficas para o ambiente articular; mas pode ter sua eficiência comprometida pelo processo inflamatório local (CORONADO et al., 2015). Por isso, no presente trabalho utilizamos o HA apenas com 10 dias após o procedimento cirúrgico para evitar a influência negativa do processo inflamatório cirúrgico.

Por outro lado, não se sabe o real benefício da utilização destes adjuvantes; se realmente eles aceleram o processo de regeneração articular ou se prejudicam; visto que são substâncias exógenas utilizadas não em um tecido único como um tendão por exemplo, mas em um ambiente formado por vários tecidos com metabolismos diferentes.

O presente trabalho buscou avaliar comparativamente, a efetividade do uso do plasma rico em plaquetas e do ácido hialurônico, produtos muito utilizados no mercado, como adjuvantes no tratamento intraarticular de equinos, no período pós operatório recente.

A confirmação do diagnóstico de osteocondrose dissecante em crista intermédia de tibia em equinos é feita por avaliação radiográfica (GALLO, 2010), como demonstrado neste estudo, em que os animais dos grupos da pesquisa foram selecionados por avaliação radiográfica, tendo todos a lesão confirmada pela cirurgia de video artroscopia, utilizada para o tratamento desta enfermidade. O estudo radiológico ao longo do tempo, é utilizado para acompanhar progressão da lesão, ou o sucesso do procedimento cirúrgico (MCILWRAITH, 2013), como demonstrado neste estudo, com a ausência de alterações radiológicas em D30, 20 dias após a formação dos grupos experimentais, com os tratamentos intra-articulares.

Outro importante aliado no diagnóstico de enfermidades articulares é a

avaliação do líquido sinovial (VAN PELT, 1974). Em um processo inflamatório articular a característica clínica que mais incomoda proprietários e treinadores é a efusão sinovial. E com razão, pois quando isso acontece há uma perda considerável da viscosidade do líquido sinovial, principalmente pela degradação do ácido hialurônico (TEW; HOTCHKISS, 1981; PERSSON, 1971; SAARI; KONTTINEN, 1989), além do aumento da permeabilidade vascular e da produção compensatória do líquido sinovial (TROTTER; MCILWRAITH, 1996). Trata-se de um achado frequente associado a osteocondrose dissecante (VAN WEEREN, 2006), e em animais jovens está presente, mas há ausência de claudicação, na maioria das vezes (WATKINS, 1999).

Neste estudo ficou demonstrado que a utilização do PRP ou o ácido hialurônico no período pós-operatório recente promoveu um aumento da efusão sinovial, quando comparado ao grupo controle que recebeu solução de ringer com lactato. Desta forma, este trabalho se contrapõe a literatura que expõe propriedades positivas e indica a utilização intra articular, em equinos, de PRP e ácido hialurônico, mas corroborando com os trabalhos TEXTOR & TABLIN (2013), que demonstraram uma resposta inflamatória de leve a moderada após a administração de PRP em articulações saudáveis em equinos.

Da mesma forma, o teste de flexão das articulações utilizado de maneira subjetiva como método diagnóstico de claudicação, de extrema importância clínica na avaliação da efetividade de tratamentos clínicos e ou cirúrgicos, onde observa-se a assimetria da musculatura glútea, com aumento do arco de elevação do membro posterior testado, e encurtamento da fase cranial da passada (STASHAK, 1987), apresentou resultados que se contrapõe à indicação de tratamento intra articular com ácido hialurônico (BALAZS, 1982) e PRP (CHEVALIER, 1998). Sendo assim, os resultados obtidos neste estudo contraindicam a utilização de PRP ou ácido hialurônico no período pós-operatório recente, em equinos, após video artroscopia para correção de osteocondrose dissecante, em potros, visto que apenas os animais que receberam ringer lactato apresentaram melhora da sensibilidade ao teste de flexão, sendo que os animais que receberam ácido hialurônico não apresentaram alterações em relação a esta avaliação e os animais que receberam PRP

apresentaram aumento significativo da sensibilidade ao teste de flexão, caracterizando a propriedade inflamatória do composto (TEXTOR & TABLIN, 2013).

Com relação à espessura da cápsula articular, todos os grupos experimentais apresentaram um aumento significativo da mesma em D30, sugerindo que o espessamento da cápsula articular esteja associado ao procedimento cirúrgico de video artroscopia, e não aos tratamentos instituídos, assim como demonstrado por BARCELOS et al. (2012).

Equinos com osteocondrose dissecante, sintomáticos e assintomáticos, apresentam aumento significativo dos leucócitos intra articulares, em relação a animais hígidos, embora os valores permaneçam dentro dos parâmetros de normalidade (MACHADO, 2010). Há pouca celularidade no líquido sinovial de equinos sadios (167 ± 21 células/mm³) (VAN PELT, 1974), e quando encontram-se alterações consideráveis, estas podem estar associadas a um processo inflamatório da membrana sinovial. A presença de leucócitos dentro da articulação implica diretamente em diminuição da viscosidade do líquido sinovial, visto que eles podem degradar os componentes de líquido sinovial, processo comumente visto em quadro inflamatório (GREENWALD & MOY, 1980). Neste estudo, em relação à qualidade do líquido sinovial, não foram observadas, em relação ao tempo, alterações visuais e quanto a contagem total de leucócitos (células/mm³) nos três grupos experimentais, o que revela que o procedimento cirúrgico de video artroscopia não implicou em aumento significativo dos leucócitos totais no líquido sinovial, corroborando com o estudo de MARTIN (2003), bem como os tratamentos propostos, com ácido hialurônico e com PRP. Porém, quando avaliados os valores entre os grupos experimentais, verificou-se que o tratamento com ácido hialurônico apresentou uma maior contagem de leucócitos totais em relação aos demais grupos experimentais em D30, vinte dias após a administração dos fármacos adjuvantes, sugerindo certa propriedade inflamatória do ácido hialurônico intra articular, em equinos.

Embora não se tenha observado estatisticamente alteração, ao longo do tempo, na contagem total de leucócitos no líquido sinovial dos equinos submetidos à cirurgia de video artroscopia e tratamento com PRP, ácido hialurônico e ringer lactato; quando se compara a contagem diferencial das células inflamatórias é possível observar diferenças entre os grupos de tratamento, embora nenhum dos

valores tenham se elevado acima do considerado normal para a articulação da espécie (VAN PELT, 1974).

O grupo RCL apresentou um aumento significativo dos neutrófilos entre D10 e D30, sugerindo que mesmo a solução de ringer lactato sendo fisiologicamente inerte, ela pode ativar a quimiotaxia para neutrófilos. O grupo PRP apresentou um aumento significativo de neutrófilos entre o D0 e o D10, sugerindo que a cirurgia de video artroscopia tenha promovido inflamação, mas que retorna aos parâmetros normais no D30, sugerindo efeito inibitório da quimiotaxia dos neutrófilos, promovido pela utilização do PRP intra articular. A utilização de produtos ricos em plaquetas ganharam popularidade não somente por aumentar a concentração local dos fatores de crescimento, mas também por conter outras substâncias derivadas do sangue, como fibrina e leucócitos, que podem desenvolver suas ações específicas *in situ* (BOSWEL, 2012). Quando observa-se os resultados entre os grupos experimentais, fica demonstrado que a administração de ácido hialurônico intra articular promoveu a maior contagem de neutrófilos, sugerindo um efeito pró inflamatório do fármaco. No presente estudo não foram encontrados, em nenhuma análise, neutrófilos bastonetes, somente neutrófilos segmentados, sugerindo que dentro do ambiente articular, estas células estão latentes e prontas para resposta a qualquer injúria inflamatória ou infecciosa. Os neutrófilos representam a primeira linha de defesa do organismo, sendo ativados, nas articulações, por componentes da membrana bacteriana ou por citocinas da membrana sinovial, principalmente, IL 1, IL 6 e TNF- α (WRIGHT et al, 2010). São as células imonológicas mais encontradas nos aspirados sinoviais e observadas em grande quantidade na interface pannus-cartilagem do tecido sinovial. Este local é onde sofrem sua ativação, desencadeando, além de suas ações fisiológicas benéficas, também degradação da cartilagem articular e do osso subcondral, pela degranulação de suas lisozimas e substâncias reativas de oxigênio (ROS) (MOHR et al, 1981; WITTKOWSKI et al, 2007)

Na avaliação dos monócitos e linfócitos dentro dos grupos experimentais, apenas o grupo LRS apresentou uma diminuição significativa da contagem destas células ao longo do tempo, provavelmente pelo fato do Ringer Lactato ser uma substância cristalóide fisiologicamente inerte, que não promove ativação dos monócitos e linfócitos, demonstrando efeito positivo da cirurgia de video artroscopia “per se”.

A avaliação entre os grupos demonstrou que a administração de ácido hialurônico intra articular promoveu maior contagem de monócitos que a administração de Ringer lactato, reafirmando a propriedade pró inflamatória do mesmo. Os monócitos são células grandes e quando ativadas se diferenciam nos macrófagos, que são responsáveis pela fagocitose no local da injúria. Após sua ativação, ocorre também o desenvolvimento de um estresse oxidativo, pelo aumento da atividade da catalase, juntamente com os outros polimorfonucleares, produzindo as substâncias reativas a oxigênio (EROS), pela ação da NADPH oxidase (HALLIWELL et al, 1988; DAHLGREN, KARLSSON, 1999).

Verificou-se, também, uma elevação na contagem total dos linfócitos após administração intra articular de PRP, em comparação à administração de Ringer lactato, demonstrando propriedades pró inflamatórias. Os linfócitos são leucócitos que possuem ações imunológicas de proteção e fagocitose. Quando ocorre uma injúria articular, há a ativação da IL-15, que está intimamente envolvida com a biologia dos linfócitos, produzindo metaloproteínas que degradam tanto o líquido sinovial, quanto a matriz cartilágnea (SCANZELLO et al., 2009; SCANZELLO; GOLDRING, 2012).

Por outro lado, no presente trabalho não foram observadas alterações quanto à concentração de proteínas totais no líquido sinovial dos animais em estudo. A concentração de proteína total no líquido sinovial aumenta quando há comprometimento da função seletiva da membrana sinovial, acompanhada por influxo de fluidos e proteínas para a cavidade articular (FOURNIER et al., 1969). A passagem de proteínas plasmáticas do sangue para o líquido sinovial está relacionada ao grau de inflamação da membrana sinovial. Quanto maior o grau da inflamação, maior a quantidade de proteínas capazes de atravessar a barreira da membrana sinovial (KUSHNER & SOMERVILLE, 1971).

Demonstrou-se, com este estudo, que o PRP e o ácido hialurônico não apresentam resultados benéficos ao ambiente articular, contrariando as indicações farmacológicas para utilização dos mesmos, disponíveis na literatura, quando comparados ao grupo controle. Verificou-se, então, que a administração de PRP ou de ácido hialurônico intra articular em equinos, após cirurgia de video artroscopia, como adjuvante no tratamento da osteocondrose dissecante de potros não

apresenta resultados que favoreçam indicação de utilização. Embora não se tenha observado alterações significativas na celularidade do líquido sinovial, a análise diferencial das células inflamatórias, tendem a demonstrar atividade pró inflamatória do PRP e do ácido hialurônico, quando comparados com o ringer lactato. Ao mesmo tempo, a utilização intra articular de PRP e ácido hialurônico, no pós operatório recente, promove aumento da efusão sinovial e piora das respostas ao teste de flexão, quando comparadas ao Ringer lactato. Dessa forma, os resultados deste estudo demonstram que o grupo controle apresentou melhores resultados em relação aos grupos PRP e grupo AH.

9. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que os animais do grupo RCL, que receberam solução de ringer com lactato intra-articular, apresentaram respostas clínicas e laboratoriais que indicaram menor indução do processo inflamatório ao ambiente articular quando comparado ao tratamento pós cirúrgico com o ácido hialurônico ou plasma rico em plaquetas.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-HIZAB, F.; CLEGG, P. D.; THOMPSON C. C.; CARTER, S. D. Microscopic localization of active gelatinases in equine osteochondritis dissecans (OCD) cartilage. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 10, n. 8, p. 653-661, 2002.

BALAZS, E. A. The Physical Properties of Synovial Fluid and the Special Role of Hyaluronic Acid. In: HELFET, A. (Ed.). **Disorders of the Knee**. Philadelphia: T.B. Lippincott Company. Cap. 5, p. 63-75, 1982

BARCELOS K.M.C. Exame ultrassonográfico da articulação metacarpofalangeana de equinos praticantes de polo na zona Oeste do Estado do Rio de Janeiro: Protocolo e mensurações. **Vet. e Zootec.** v.19(3), p.407- 415, 2012.

BARNEVELD, A. and VAN WEEREN, P.R. Conclusions regarding the influence of exercise on the development of the equine musculoskeletal system with special reference to osteochondrosis. **Equine Veterinary Journal Supplement** v.31, p.112-119, 1999.

BOSWEL, S.G.; COLE, B.J.; SUNDMAN, E. A.; KARAS, V; FORTIER, L.A. Platelet-rich plasma: a milieu of bioactive factors. **Arthroscopy**; v.28; p.429–439; 2012.

BREHM, W.; STAECKER, W. Osteochondrosis (OCD) in the tarsocrural joint of Standardbred Trotters – correlation between radiographic findings and racing performance. Annual Convention Proceedings American Association of Equine Practitioners, v.45, p. 164-166, 1999.

BROSSI, PATRICIA MONACO. Investigação laboratorial dos efeitos antioxidantes do plasma processado autólogo nas principais enfermidades articulares de equinos após tratamento artroscópico / Patrícia Monaco Brossi. -- 2014. 286 f. **Tese (Doutorado)** - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2014.

BROSSI, P.M.; MOREIRA, J.J.; MACHADO,T.S.L.; BACCARIN, R.Y.A. Platelet-rich plasma in orthopedic therapy: a comparative systematic review of clinical and experimental data in equine and human musculoskeletal lesions. **BMC Veterinary**

Research. V.11(98). P. 1-17. 2015

BUTLER, J. A.; COLLES, C. M.; DYSON, S. J.; KOLD, S. E.; POULOS, P. W. The tarsus. **Clinical Radiology of the Horse**. Oxford: Blackwell Science, 1993. chap. 5, p. 211-245.

CAOLA, G. The anatomy and physiology of the diarthroses. **Veterinary Research Communications**, v. 27, p. 69-73, 2003. Supplement, 1.

CARMONA, J.U.; LOPEZ, C.; PRADES, M. Uso de concentrados autólogos obtenidos mediante el método del tubo como tratamiento de artropatías em caballos. **Arch. Med. Vet.**, v.41, p.175-179, 2009.

CARMONA, J.U.; LOPEZ, C.; SANDOVAL, J.A. Review of the current available systems to obtain platelet related products to treat equine musculoskeletal injuries. **Rec Pat Reg Med.**;v.3(2);p.148–159; 2013.

CHEVALIER, X. Physiopathogenesis of osteoarthritis. The osteoarthritic cartilage. **Presse Med.** V.27,p. 81–87,1998.

CHEVALIER, X. Intraarticular treatments for osteoarthritis: new perspectives. **Curr Drug Targets**. v. 11, p.546–60, 2010.

CORONADO, L.; ITURRIAGA, V.; BORNHARDT, T.; FUENTES, R. Application protocol of hyaluronic acid on temporomandibular joint degenerative diseases. **Av. Odontoestomatol.** [online],v.31, p. 77-84, 2015.

DAHLGREN, C.; KARLSSON, A. Respiratory burst in human neutrophils. **Journal of immunological methods**, v. 232, n, 1, p. 3-14, 1999.

DYSON, S.J.; ROSS, M.W. **Diagnosis and manegement of lameness in the horse**. 2 ed. Elsevier:St. Louis, Missouri, 2010, 1424p.

FOSTER, T.E.; PUSKAS, B.L.; MANDELBAUM, B.R.; et al.. Platelet rich plasma: from basic Science to clinical applications. **Am.J.Sports Med**, v.37, p.2259-2272, 2009.

FOURNIER, G.; AYOTTE, R. A.; LAURIN, C. A. Pathogenesis of joint effusions: an experimental investigation. **Canadian Medical Association Journal**, v.100, n. 5, p. 242- 250, 1969.

GALLO, M. A. Estudo da incidência de osteocondrose dissecante na articulação tíbio-társica de eqüinos (*Equus caballus*), de três anos de idade, da raça Brasileiro de Hipismo, no Estado de São Paulo, por meio de estudo radiográfico digital a campo. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2010.

GREENWALD, R. A.; MOY, W. W. Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid. **Arthritis and Rheumatism**, v. 23, n. 4, p.455-463, 1980.

HALLIWELL, B. A. R. R. Y.; HOULT, J. R.; BLAKE, D. R. Oxidants, inflammation, and anti-inflammatory drugs. **The FASEB journal**, v. 2, n. 13, p. 2867-2873, 1988.

HARRISON, L. J.; EDWARDS, G. B. Radiographic investigation of osteochondrosis. **Equine Veterinary Education**, v. 8, n. 3, p. 172-176, 1996.

HOLMES, M. W., BAYLISS, M. T.; MUIR, H. Hyaluronic acid in human articular cartilage. Age-related changes in content and size. **Biochemical Journal**, v.250, p.435–441, 1988.

HOOPE, F. Radiological investigations of osteochondrosis dissecans in Standardbred trotters and Swedish Warmblood horses. **Equine Veterinary Journal** **16** v.5, p.425-429, 1984.

JEFFCOTT, L. B. Osteochondrosis in the horse – searching for the key to pathogenesis. **Equine Veterinary Journal**, v. 23, n. 5, p. 331-338, 1991.

JONHANSSON, H. E.; REJNÖ, S. Light and electron microscopic investigation of equine synovial membrane – A comparison between healthy joints with intra-articular fractures and osteochondrosis dissecans. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 17, n. 2, p. 153-168, 1976.

JØRGENSEN, H. S.; PROSCHOWSKY, H.; FALK-RØNNE, J.; WILLEBERG, P.;

HESSELHOLT, M. The significance of routine radiographic findings with respect to subsequent racing performance and longevity in Standardbred trotters. *Equine Veterinary Journal*, v. 29, n. 1, p. 55-59, 1997.

KAWCAK, C.E.; FRISBIE, D.D.; MCILWRAITH C.W.; et al. Effects of intravenous administration of sodium hyaluronate on carpal joints in exercising horses after arthroscopic surgery and osteochondral fragmentation. **Am.J.Vet.Res.**, v.58, p.1132– 1140, 1997.

KORENEK, N. L.; ANDREWS, F. M.; MADDUX, J. M.; SANDERS, W. L.; FAULK, D. L. Determination of total protein concentration and viscosity of synovial fluid from the tibiotarsal joints of horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 5, p. 781-84, 1992.

KON, E.; FILARDO, G; DI MARTINO, A.; et al.. Platelet rich plasma(PRP) to treat sports injuries: evidence to support its use. **Knee Surg Sports Traumatology Arthroscopy**, v.19, p.516-527, 2011.

KUSHNER, I.; SOMERVILLE, J. A. Permeability of human synovial membrane to plasma proteins. Relationship to molecular size and inflammation. **Arthritis and rheumatism**, v. 14, n.5, p.560-570, 1971.

LAURINDO, I. M. M; MELLO, S. B. V. D.; NOVAES, G. D. S.; PALACIOS, F. A. S.; YOSHINARI, N. H. Participação dos radicais livres na inflamação articular. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**, v. 52, n. 2, p.72-9,1997.

MACHADO, T. S. L. Análise clínica e estrutural de processos de osteocondrite dissecante da articulação tíbio-társica de equinos. **138 f. Tese (Doutorado em Ciências)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

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 a asymptomatic osteochondritic horses. **Equine Veterinary Journal**,

v.44, p. 404-411, 2012.

MAHAFFEY, E.A. Synovial fluid. In: COWELL, R.L., TYLER, R.D. (Ed.). **Cytology and hematology of the horse**. Philadelphia: Mosby, 1992. p. 153-161.

MARTIN, J. A.; BUCKWALTER, J. A. The role of chondrocyte senescence in the pathogenesis of osteoarthritis and in limiting cartilage repair. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 85-A, p. 106-110, 2003. Supplement, 2.

MCILWRAIGHT, C. W. Diseases of joints, tendons, ligaments and related structures. In: STASHAK, T. **Adams' lameness in horses**. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1987. chap. 7, p. 396-419.

MCILWRAITH, C.W. and FOERNER, J.J. Osteochondrosis dissecans of the tarsocrural joint: results of treatment with arthroscopic surgery. **Equine Veterinary Journal** v.23 (3): 155-162, 1991.

MCILWRAITH, C. W. Disease processes of synovial membrane, fibrous capsule, ligaments, and articular cartilage. **Proceedings American Association of Equine Practitioners**, v. 47, p. 142-156, 2001.

MCILLWRAITH, C.W.. Managing joint disease in the racehorse in the face of stricter drug restriction. **Proc. Am. Assoc. Equine. Pract.**, v.59, p. 436-442, 2013.

MCILWRAITH, C.W.. Surgical versus conservative management of osteocondrosis. **The Veterinary Journal**. V.197. p. 19-28, 2013.

MAMELUD, C. J. Cytokines as therapeutic targets for osteoarthritis. **Biodrugs** 18, 23–35 (2004).

MOHR, W; WESTERHELLWEG, H; WESSINGHAGE, D. Polymorphonuclear granulocytes in rheumatic tissue destruction. III. **An electron microscopic study of pmns at the pannus–cartilage junction in rheumatoid arthritis**. **Ann Rheum Dis** 1981; v.40, p.396–399.

OLSTAD, K.; YTREHUS, B.; EKMAN, S.; CARLSON, C. S.; DOLVIK, N. I. Early

lesions of osteochondrosis in the distal tibia of foals. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 25, n. 8, p. 1094-1105, 2007.

PAGAN, J. D. The relationship between glycemic response and the incidence of OCD in thoroughbred weanlings: a field study. In: PAGAN, J. D.; GEOR, R. J. **Advances in equine nutrition III**. Nottingham: Nottingham University Press, 2005. p. 433-437.

PERSSON, L. On the synovia in horses. A clinical and experimental study. **Acta veterinaria Scandinavica**, p. 3-77, 1971. Supplement, n.35.

PISK, E.; TURNER R.A.; SODERSTROM L.P., PANETTI, M: Inhibition of neutrophil phagocytosis and enzyme release by hyaluronic acid. **Clin Exp Rheumatol** 1983. v.1, p.41-44.

RAES, E. V.; VANDERPERREN, K.; PILLE, F.; SAUNDERS, J. H. Ultrasonographic findings in 100 horses with tarsal region disorders. **The Veterinary Journal**, v. 186, n. 2, p. 201-209, 2010.

REJNO, S; STROBERG, B. Osteochondrosis in the horse. **Acta Radiol. Suppl.**, v.358, p.153-78, 1978.

ROSSETTI, R. B.; MASSOCO, C. D. O.; PENNA, A. C. A.; SILVA, L. C. L. C. D. An experimental study to compare inflammatory response due to liquid or gas joint distension in horses submitted to arthroscopy. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 27, n. 12, p. 848-854, 2012.

SAARI, H. E. R. K. K. O.; KONTTINEN, Y. T. Determination of synovial fluid hyaluronate concentration and polymerisation by high performance liquid chromatography. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 48, n. 7, p. 565-570, 1989.

SANDGREN, B. Bony fragments in the tarsocrural and metacarpo- or metatarsophalangeal joints in the Standardbred horse – a radiographic survey. **Equine Veterinary Journal Supplement** 6, p.66-70, 1988

SCANZELLO, C. R.; GOLDRING, S. R. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. **Bone**, v. 51, n. 2, p. 249-257, 2012.

SCANZELLO, C. R.; UMOH, E.; PESSLER, F.; DIAZ-TOME, C.; MILES, T.; DICARLO, E.; POTTER, H. G.; MANDI, L.; MARX, R.; RODEO, S.; GOLDRING, S. R.; CROW, M. K. Local cytokine profiles in knee osteoarthritis: elevated synovial fluid interleukin-15 differentiates early from end-stage disease. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 17, n. 8, p. 1040-1048, 2009.

SCHUMACHER, H. R.; SIECK, M. S.; ROTHFUSS, S.; CLAYBURNE, G. M.; BAUMGARTEN, D. F.; MOCHAN, B. S.; KANT, J. A. Reproducibility of synovial fluid analyses. A study among four laboratories. **Arthritis and rheumatism**, v. 29, n. 6, p. 770- 774, 1986.

SHELLEY, J.; DYSON, S. Interpreting radiographs 5. radiology of the equine hock. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, p. 488-495, 1984.

SHMERLING, R. H. Synovial fluid analysis. A critical reappraisal. **Rheumatic diseases clinics of North America**, v.20, n.2, p. 503-512, 1994.

SMITH, M.R.W. Equine synovial fluid: synoviocentesis and analysis. In: **Proceedings of the 49th British Equine Veterinary Association Congress 2010**, Birmingham, United Kingdom, p.151-152, 2010.

STASHAK, T.S. (1987a) Diagnosis of lameness. In: **Adams' Lameness in Horses**, 4th ed., p 125, 1987.

STOCK, K.F., HAMANN, H. and DISTL, O. Prevalence of osseous fragments in distal and proximal interphalangeal, metacarpo- and metatarsophalangeal and tarsocrural joint of Hanoverian Warmblood horses. **Journal of the Veterinary Medical Association of Physiology Pathology and Clinical Medicine** v.52(8), p.388-394, 2005a.

STOCK, K.F., DISTL, O. Evaluation of expected response to selection for orthopedic health and performance traits in Hanoverian Warmblood horses. **American Journal of Veterinary Research** v.66 (8), p. 1371-1379, 2005b.

STOCK, K.F., HAMANN, H. and DISTL, O. Factors associated with the prevalence of osseous fragments in the limb joints of Hanoverian Warmblood horses. **Veterinary**

Journal v.171 (1): 147-156, 2006.

STOGAARD, J.H., PROSCHOWSKY, H. and FALK-RONNE, J. The significance of routine radiographic findings with respect to subsequent racing performance and longevity in Standardbred trotters. **Equine Veterinary Journal** **29**, p.55 -59, 1997.

SUNDMAN, E. A.; COLE, B. J.; FORTIER, L. A. Growth factor and catabolic cytokine concentrations are influenced by the cellular composition of platelet-rich plasma. **The American journal of sports medicine**, v. 39, n. 10, p. 2135-2140, 2011.C

SWAN, A.; AMER, H.; DIEPPE, P. The value of synovial fluid assays in the diagnosis of joint disease: a literature survey. **Annals of the rheumatic diseases**, v.61, n.6, p.493-498, 2002.

PHILIPSON, L. H.; SCHWARTZ, N. B. Subcellular localization of hyaluronate synthetase in oligodendroglioma cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 259, n. 8, p. 5017-5023, 1984

PEREIRA, R.C.F. Avaliação de sete protocolos de obtenção de Plasma Rico em Plaquetas (PRP), 2012. p.1-44. **Dissertação Mestrado** Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS).

PREHM, P. Hyaluronate is synthesized at plasma-membranes. **The Biochemical Journal**, v. 220, n. 2, p. 597-600, 1984.

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.

TODHUNTER, R. J. Anatomy and physiology of synovial joints. In: McILWRAITH, C. W.; TROTTER, G. W. **Joint disease in the horse**. Philadelphia: **W.B. Saunders**, 1996. p. 1-28.

TROTTER, G. W.; McILWRAITH, C. W. Clinical features and diagnosis of joint disease. In: McILWRAITH, C. W.; TROTTER, G. W. **Joint disease in the horse**. Philadelphia: **W.B. Saunders**, 1996. p. 120-145.

WATKINS, J. P. Osteochondrosis, In: AEUR, J. **Equine surgery**. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999. p. 765-778.

WITTKOWSKI, H; FOELL, D; AF KLINT, E et al. Effects of intra-articular corticosteroids and anti-TNF therapy on neutrophil activation in rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis** 2007; v.66, p.1020–1025.

WRIGHT, H.L.; MOOTS, R.J.; BUCKNALL, R.C.; STEVEN, W,E. Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases. *Rheumatology* 2010; v. 49 p. 1618–1634

VAN PELT, R. W. Interpretation of synovial fluid findings in the horse. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 165, n. 1, p. 91-95, 1974.

VAN WEEREN, P. R. van Etiology, diagnosis ant treatment of OC(D). **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 5, p. 248-258, 2006.

VENDRUSCOLO, C.P.; WATANABE, M.J.; MAIA, L et al.. Plasma rico em plaquetas: uma nova perspectiva terapêutica para medicina equina. **Vet. e Zootec.**, v.19, p.33-43, 2012.

VOZ, N.J. Incidence of osteochondrosis (dissecans) in Dutch Warmblood horses presented for pre- purchase examination. **Irish Veterinary Journal** v.61, p33-37, 2008

YTREHUS, B.; CARLSON, C. S.; EKMAN, S. Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. **Veterinary Pathology**, v. 44, n. 4, p. 429-448, 2007.

ZILTENER J.L., ALLET L., SCLISON P., GROSCLAUDE, M. How effective are injections of platelet-rich plasma (PRP) for the treatment of sports injuries: a critical review of the literature. **J Sports Med Doping Studies**, 2012.

ANEXOS

Anexo 1. Valores individuais da concentração de leucócitos por mm³ no líquido sinovial do Grupo HA.

Anexo 1	Grupo HA	líquido sinovial	Leucócitos
Animal	d0	d10	d30
1	0,300	0,200	0,200
2	2,300	0,100	2,000
3	0,200	0,200	0,800
5	0,200	0,200	1,600
14	0,200	0,300	1,400
16	0,200	0,300	0,900
Mediana	0,2	0,2	1,15
DP	0,850	0,075	0,644

Anexo 2. Valores individuais da concentração de leucócitos por mm³ no líquido sinovial do Grupo PRP.

Anexo 2	Grupo PRP	líquido sinovial	Leucócitos
animal	d0	d10	d30
9	0,100	0,100	0,100
10	0,200	0,100	0,200
12	0,200	0,300	0,200
13	0,100	0,400	0,200
15	0,100	0,400	0,200
17	0,100	0,400	0,300
Mediana	0,1	0,35	0,2
DP	0,051	0,147	0,063

Anexo 3. Valores individuais da concentração de leucócitos por mm³ no líquido sinovial do Grupo LRS.

Anexo 3	Grupo LRS	líquido sinovial	Leucócitos
animal	d0	d10	d30
6	0,200	0,200	0,200
7	0,200	0,400	0,700
8	0,200	0,600	0,300
11	0,100	0,100	0,200
18	0,200	0,300	0,300
19	0,200	0,600	0,300
Mediana	0,2	0,35	0,3
DP	0,040	0,206	0,186

Anexo 4. Valores individuais da concentração de neutrófilos por mm³ no líquido sinovial do Grupo HA.

Anexo 4	Grupo HA	líquido sinovial	Neutrófilos
Animal	d0	d10	d30
1	9	7	12
2	8	5	11
3	5	3	12
5	4	3	24
14	4	3	24
16	5	3	12
Mediana	5	3	12
DP	2,136	1,673	6,337

Anexo 5. Valores individuais da concentração de neutrófilos por mm³ no líquido sinovial do Grupo PRP.

Anexo 5	Grupo PRP	líquido sinovial	Neutrófilos
animal	d0	d10	d30
9	3	13	11
10	8	10	9
12	11	12	10
13	8	9	12
15	3	13	11
17	8	9	12
Mediana	8	11	11
DP	3,188	1,897	1,169

Anexo 6. Valores individuais da concentração de neutrófilos por mm³ no líquido sinovial do Grupo LRS.

Anexo 6	Grupo LRS	líquido sinovial	Neutrófilos
animal	d0	d10	d30
6	4	6	18
7	3	9	36
8	4	8	13
11	6	9	10
18	4	6	18
19	4	8	13
Mediana	4	8	15,5
DP	0,983	1,366	9,359

Anexo 7. Valores individuais da concentração em porcentagem de neutrófilos segmentados no líquido sinovial do Grupo HA.

Anexo 7	Grupo HA	líquido sinovial	Segmentados
Animal	d0	d10	d30
1	9	7	12
2	8	5	11
3	5	3	12
5	4	3	24
14	4	3	24
16	5	3	12
Mediana	5	3	12
DP	2,136	1,673	6,337

Anexo 8. Valores individuais da concentração em porcentagem de neutrófilos segmentados no líquido sinovial do Grupo PRP.

Anexo 8	Grupo PRP	líquido sinovial	Segmentados
Animal	d0	d10	d30
9	3	13	11
10	8	10	9
12	11	12	10
13	8	9	12
15	3	13	11
17	8	9	12
Mediana	8	11	11
DP	3,188	1,897	1,169

Anexo 9. Valores individuais da concentração em porcentagem de neutrófilos segmentados no líquido sinovial do LRS.

Anexo 9	Grupo LRS	líquido sinovial	Segmentados
Animal	d0	d10	d30
6	4	6	18
7	3	9	36
8	4	8	13
11	6	9	10
18	4	6	18
19	4	8	13
Mediana	4	8	15,5
DP	0,983	1,366	9,359

Anexo 10. Valores individuais da concentração em porcentagem de linfócitos no líquido sinovial do Grupo HA.

Anexo 10	Grupo HA	líquido sinovial	Linfócitos
Animal	d0	d10	d30
1	77	83	80
2	77	87	90
3	86	88	84
5	88	89	69
14	88	89	69
16	86	88	84
Média	83,66	87,33	79,33
DP	5,240	2,250	8,617

Anexo 11. Valores individuais da concentração em porcentagem de linfócitos no líquido sinovial do Grupo PRP.

Anexo 11	Grupo PRP	líquido sinovial	Linfócitos
animal	d0	d10	d30
9	88	78	80
10	80	83	88
12	81	80	84
13	84	81	84
15	88	78	80
17	84	81	84
Media	84,16	80,16	83,33
DP	3,371	1,940	3,011

Anexo 12. Valores individuais da concentração em porcentagem de linfócitos no líquido sinovial do LRS.

Anexo 12	Grupo LRS	líquido sinovial	Linfócitos
animal	d0	d10	d30
6	83	85	76
7	85	81	57
8	90	83	80
11	83	85	82
18	83	85	76
19	90	83	80
Media	85,66	83,66	75,16
DP	3,444	1,632	9,217

Anexo 13. Valores individuais da concentração em porcentagem de monócitos no líquido sinovial do Grupo HA.

Anexo 13	Grupo HA	líquido sinovial	Monócitos
Animal	d0	d10	d30
1	14	10	13
2	15	5	12
3	9	8	9
5	8	8	7
14	8	8	7
16	9	8	9
Mediana	9	8	9
DP	3,146	1,602	2,509

Anexo 14 Valores individuais da concentração em porcentagem de monócitos no líquido sinovial do Grupo PRP.

Anexo 14	Grupo PRP	líquido sinovial	Monócitos
animal	d0	d10	d30
9	9	9	9
10	12	7	3
12	8	9	6
13	8	10	7
15	9	9	9
17	8	10	7
Mediana	8,5	9	7
DP	1,549	1,095	2,228

Anexo 15. Valores individuais da concentração em porcentagem de monócitos no líquido sinovial do Grupo LRS.

Anexo 15	Grupo LRS	líquido sinovial	Monócitos
animal	d0	d10	d30
6	13	9	6
7	12	10	5
8	6	9	7
11	11	6	8
18	13	9	6
19	6	9	7
Mediana	11,5	9	6,5
DP	3,311	1,366	1,048

Anexo 16. Valores individuais da concentração de proteína em g/dl no líquido sinovial do Grupo HA.

Anexo 16	Grupo HA	líquido sinovial	Proteína
Animal	d0	d10	d30
1	1,11	0,71	1,05
2	1,26	0,87	1,15
3	0,71	0,5	1,35
5	1,25	0,80	2,50
14	1,15	0,80	2,60
16	0,74	0,6	1,4
Média	1,036	0,713	1,675
DP	0,248	0,139	0,690

Anexo 17. Valores individuais da concentração de proteína em g/dl no líquido sinovial do Grupo PRP.

Anexo 17	Grupo PRP	líquido sinovial	Proteína
animal	d0	d10	d30
9	0,56	1,18	1,1
10	1,48	2,29	1,47
12	1,16	0,5	1,00
13	2,25	1,25	3,13
15	0,8	1,1	1,2
17	1,9	1,3	2,89
Media	1,358	1,27	1,798
DP	0,646	0,578	0,954

Anexo 18. Valores individuais da concentração de proteína em g/dl no líquido sinovial do Grupo LRS.

Anexo 18	Grupo LRS	líquido sinovial	Proteína
animal	d0	d10	d30
6	1,15	0,53	0,92
7	1,71	1,25	1,19
8	1,50	1,24	1,07
11	0,44	2,36	0,88
18	1,05	0,67	0,8
19	1,25	1,2	0,9
Media	1,183	0,978	0,96
DP	0,436	0,349	0,142

Anexo 19. Valores individuais da graduação da efusão sinovial dos animais do Grupo HA.

Anexo 19	Grupo HA	líquido sinovial	Efusão sinovial
Animal	d0	d10	d30
1	0	0	1
2	0	0	1
3	0	0	1
5	0	0	1
14	0	0	1
16	0	0	1
Mediana	0	0	1
DP	0	0	0

Anexo 20. Valores individuais da graduação da efusão sinovial dos animais do Grupo PRP.

Anexo 20	Grupo PRP	líquido sinovial	Efusão sinovial
animal	d0	d10	d30
9	1	1	1
10	0	1	1
12	0	1	1
13	0	1	1
15	1	1	1
17	0	1	1
Mediana	0	1	1
DP	0,516	0	0

Anexo 21. Valores individuais da graduação da efusão sinovial dos animais do Grupo LRS.

Anexo 21	Grupo LRS	líquido sinovial	Efusão sinovial
animal	d0	d10	d30
6	1	1	1
7	1	0	0
8	1	1	0
11	1	1	0
18	1	1	0
19	1	1	0
Mediana	1	1	0
DP	0	0,408	0,408

Anexo 22. Valores individuais a sensibilidade ao teste de flexão dos animais do Grupo HA.

Anexo 22	Grupo HA	líquido sinovial	Flexão
Animal	d0	d30	d60
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
5	0	0	0
14	0	0	0
16	0	0	0
Mediana	0	0	0
DP	0	0	0

Anexo 23. Valores individuais a sensibilidade ao teste de flexão dos animais do Grupo PRP.

Anexo 23	Grupo PRP	líquido sinovial	Flexão
animal	d0	d30	d60
9	1	1	1
10	1	1	1
12	0	1	1
13	0	1	1
15	1	1	1
17	0	1	1
Mediana	0,5	1	1
DP	0,547	0	0

Anexo 24. Valores individuais a sensibilidade ao teste de flexão dos animais do Grupo LRS.

Anexo 24	Grupo LRS	líquido sinovial	Flexão
animal	d0	d30	d60
6	2	1	1
7	1	0	0
8	1	0	0
11	1	0	0
18	2	1	0
19	1	0	0
Mediana	1	0	0
DP	0,516	0,516	0,408

Anexo 22. Valores individuais da mensuração da espessura da cápsula articular do Grupo HA.

Anexo 22	Grupo HA	líquido sinovial	Espessura da cápsula
Animal	d0	d30	
1	3,91	7,47	
2	3,05	8,44	
3	3,39	6,42	
5	4,08	9,13	
14	4,02	8,89	
16	3,45	6,89	
Media	3,65	7,873	
DP	0,414	1,111	

Anexo 23. Valores individuais da mensuração da espessura da cápsula articular do Grupo PRP.

Anexo 23	Grupo PRP	líquido sinovial	Espessura da cápsula
animal	d0	d30	
9	4,77	8,16	
10	4,48	8,82	
12	6,88	8,09	
13	6,62	10,01	
15	4,65	8,33	
17	5,92	9,98	
Media	5,553	8,898	
DP	1,059	0,886	

Anexo 24. Valores individuais da mensuração da espessura da cápsula articular do Grupo LRS.

Anexo 24	Grupo LRS	líquido sinovial	Espessura da cápsula
animal	d0	d30	
6	5,98	9,28	
7	7,34	6,80	
8	4,11	6,11	
11	5,11	8,51	
18	5,56	9,02	
19	4,41	5,85	
Media	5,418	7,595	
DP	1,170	1,522	