

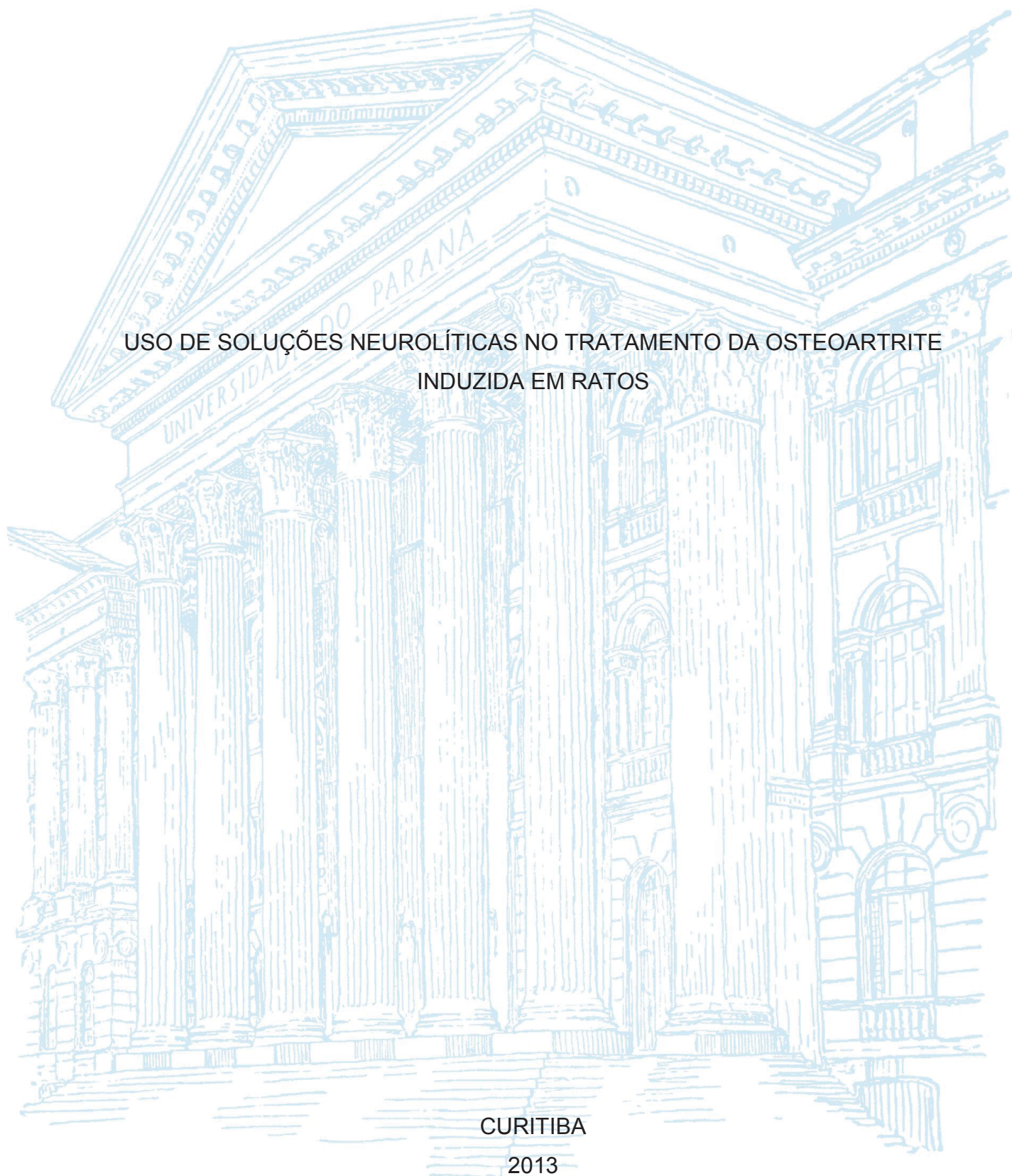
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANTONIO HENRIQUE CEREDA DA SILVA

USO DE SOLUÇÕES NEUROLÍTICAS NO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE  
INDUZIDA EM RATOS

CURITIBA

2013



ANTONIO HENRIQUE CEREDA DA SILVA

USO DE SOLUÇÕES NEUROLÍTICAS NO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE  
INDUZIDA EM RATOS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Peterson Triches Dornbusch

CURITIBA

2013

S  
586u  
Silva, Antonio Henrique Cereda da  
Uso de soluções neurolíticas no tratamento da  
osteoartrite induzida em ratos / Antonio Henrique Cereda da Silva.  
- Curitiba, 2013.  
80 p.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do  
Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Veterinárias.  
Orientador: Peterson Triches Dornbusch

1. Rato. 2. Rato - fisiologia. 3. Osteoartrite. I.  
Dornbusch, Peterson Triches (Orientador). II. Título. III.  
Universidade federal do Paraná.  
CDU 599.323:616.72

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



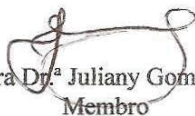
### PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “USO DE SOLUÇÕES NEUROLÍTICAS NO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE INDUZIDA EM RATOS” apresentada pelo Mestrando ANTONIO HENRIQUE CEREDA DA SILVA declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou o candidato APROVADO para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

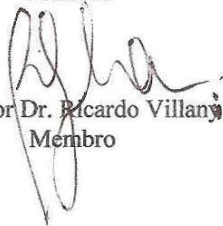
Curitiba, 26 de março de 2013.



Professor Dr. Peterson Triches Dornbusch  
Presidente/Orientador



Professora Dr.ª Juliany Gomes Quitzan  
Membro



Professor Dr. Ricardo Villany  
Membro

À minha família, especialmente minha mãe e primeira professora. Exemplo e referência em tudo na minha vida. Dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Deus acima de tudo e Nossa Senhora do perpétuo Socorro, por ter me acompanhado sempre, mantendo minha fé e esperança, permitindo mais essa conquista.

À minha família, pelo apoio incondicional durante todas as minhas escolhas e em todas as dificuldades e desafios.

À Universidade Federal do Paraná, principalmente aos profissionais dos campi Palotina e Curitiba por terem me acolhido e terem feito parte da minha história, minha formação e da minha profissão.

Ao meu orientador, Prof. Dr Peterson Triches Dornbusch, por ter aceitado tão prontamente me orientar neste desafio. Gratidão eterna.

À Faculdade Evangélica do Paraná, pelo espaço físico e animais cedidos, permitindo a minha pesquisa.

Às médicas veterinárias Andressa Tucholski e Taíse Fuchs e à aluna da Fepar Geórgia, que me auxiliaram diretamente neste trabalho. Sem vocês ele não seria possível.

Aos demais amigos da Pós-graduação: Flávia, Nina, Patrick, Mariana e também aos amigos Luiz e Juliano por terem me acompanhado e apoiado todo esse tempo.

Ao professor Renato de Souza, o funcionário Jefferson e a residente Kamila, do laboratório de patologiado HV-UFPR, que me auxiliaram na fase final desta etapa, seus sinceros agradecimentos.

Aos meus amigos que sempre estiveram comigo e me motivaram a seguir em frente, agradeço sempre por ter conhecido vocês.

A CAPES, pela concessão da bolsa durante a realização do mestrado.

À Prof Dra Simone Guerios, por ter me orientado primeiramente nesse programa.

A todos que permaneceram ao meu lado e de alguma forma me auxiliaram na conclusão de mais essa etapa.

A vocês o meu muito obrigado!

“Toda reforma interior e toda mudança para melhor dependem exclusivamente da aplicação do nosso próprio esforço. ”

(AUTOR, ano, p.)

## RESUMO

A osteoartrite é uma enfermidade muito frequente em seres humanos e animais, sendo que diversas condutas terapêuticas são atualmente preconizadas, como o amplo de AINE. Recentemente surgiram soluções neurolíticas com recomendação de uso intra-articular, no mercado veterinário. Entretanto tal conduta e seus efeitos na cartilagem articular, não foram ainda estudados e demonstrados. O objetivo deste estudo é verificar os possíveis efeitos deletérios de duas soluções neurolíticas na evolução da osteoartrite em ratos. Foram utilizados 45 ratos wistar, que após a transecção do ligamento cruzado cranial, foram divididos em três grupos: o grupo controle recebeu 0,1 mL de solução fisiológica, os demais cloretos de amônio 4% e fenol 5%, imediatamente após sutura da cápsula articular. Cinco animais de cada grupo foram sacrificados nos momentos 7, 14 e 21 dias. A avaliação da incapacidade articular foi obtida através da espessura articular, claudicação e pelo índice de osteoartrite. Imagens termográficas do membro operado e do contralateral foram obtidas nos dias 3, 7, 14 e 21 dias e radiografias dos membros operados e contralaterais foram realizadas no momento da eutanásia. A gravidade da lesão histopatológica foi graduada após coloração de Hematoxilina-Eosina através do método OARSI para a avaliação microscópica da osteoartrite. Resultados: Todos os animais apresentaram AO, onde o score variou de 1 a 3 pelo sistema OARSI, entretanto não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos em nenhum dos critérios analisados. Não houve interferência na evolução clínica e histopatológica da osteoartrite, com o uso das soluções de cloreto de amônia 4% e fenol a 5%.

Palavras-chave: Claudicação 1. Cloreto de amônio 2. Fenol 3. Intra-articular 4. Solução fisiológica 5.

## ABSTRACT

Osteoarthritis is a very common illness in humans and animals, and various therapeutic approaches are currently recommended. Recently emerged neurolytic solutions with recommendation of intraarticular use in the veterinary market. However such behavior and effects on articular cartilage have not yet been studied and demonstrate. The objective of this study is to assess the possible deleterious effects of two neurolytic solutions in the evolution of osteoarthritis in rats. Material and methods: We used 45 wistar rats that after transection of the cruciate ligament were divided into three groups: the control group received 0.1 ml of saline solution, the other ammonium chloride 4% and 5% phenol, immediately after suturing the joint capsule. Five animals from each group were sacrificed at times seven, 14 and 21 days. The assessment of joint failure was achieved through the thickness articular index for lameness and osteoarthritis. Thermographic images of the limb and contralateral were obtained on days three, seven, 14 and 21 days and x-rays of the operated and contralateral limbs were performed at the time of euthanasia. The severity of histological injury was graded after staining with hematoxylin-eosin using the OARSI method for microscopic evaluation of osteoarthritis. Results: All animals showed OA, where the score ranged from 1 to 3 by the OARSI system, however there were no statistical differences between groups in any of criteria examined. Conclusion: There was no interference in the clinical evolution and histological osteoarthritis, with the use of solutions of ammonium chloride 4% and 5% phenol.

Keywords: Ammonium chloride 1. Intraarticular 2. Lameness 3. Phenol 4. Saline solution 5.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – EFEITO DA RUPTURA DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL SOBRE A ESPESSURA (MM), DOS GRUPOS: FISIOLÓGICA, AMÔNIO E FENOL, NOS MOMENTOS 7, 14 E 21 DIAS.....	41
FIGURA 2 – EFEITO DA RUPTURA DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL SOBRE A O SCORE DE CLAUDICAÇÃO DOS GRUPOS FISIOLÓGICA, AMÔNIO E FENOL, NOS MOMENTOS 7, 14 E 21 DIAS.....	42
FIGURA 3 – ESCORE CLÍNICO DOS GRUPOS: FISIOLÓGICA, AMÔNIO E FENOL, NOS MOMENTOS 7, 14 E 21 DIAS. AS LINHAS REPRESENTAM A MEDIANA.....	42
FIGURA 4 – EFEITO DA RUPTURA DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL SOBRE A TERMOGRAFIA ENTRE GRUPOS (FISIOLÓGICA, AMÔNIO E FENOL), E SEUS RESPECTIVOS CONTROLES NOS MOMENTOS 3, 7, 14 E 21 DIAS, EM 0CELSIUS.....	43
FIGURA 5 – IMAGEM TERMOGRÁFICA DO JOELHO DE RATO SUAS RESPECTIVAS TEMPERATURAS MÉDIAS NO MOMENTO 21 DIAS DE AVALIAÇÃO.....	43
FIGURA 6 – FOTOMICROGRAFIA DA ARTICULAÇÃO FÊMORO-TÍBIO-PATELAR. NOTE DIFERENÇA DE CONTINUIDADE DA SUPERFÍCIE ARTICULAR, ÍNTEGRA EM A (SETA), GRAU I , E DESCONTÍNUA EM B (SETA). AUMENTO DE 10X.....	44
FIGURA 7 – ESCORE HISTOLÓGICO DE ACORDO COM MÉTODO OARSI, DOS GRUPOS: FISIOLÓGICA, AMÔNIO E FENOL, NOS MOMENTOS 7, 14 E 21 DIAS. AS LINHAS REPRESENTAM A MEDIANA.....	45

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – ESCORE DE OSTEOARTRITE DE ACORDO COM O GRAU E SUA RESPECTIVA ALTERAÇÃO.....	39
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

Mg	- Miligrama
Kg	- Quilograma
cm	- Centímetro
mL	- Mililitro

## LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

°C - graus célsius

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>15</b>
<b>2 OSTEOARTRITE: UMA REVISÃO .....</b>	<b>16</b>
2.1 PATOGENIA DA OA .....	21
2.2 MARCADORES.....	22
2.3 GENÉTICA E SUSCEPTIBILIDADE .....	23
2.4 AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	24
2.4.1 Histórico e Exame Físico.....	24
2.4.2 Avaliação Laboratorial .....	24
2.4.3 Diagnóstico.....	24
2.4.4 Sinais radiográficos .....	25
2.4.5 Tratamento .....	26
2.4.6 Drogas anti-inflamatórias não esteroidais (AINE).....	26
2.4.7 Antiinflamatórios Esteroidais .....	27
2.4.8 Analgésicos .....	28
2.4.9 Agentes terapêuticos adicionais.....	28
2.4.10 Suplementos .....	28
2.4.11 Ômega 3.....	29
2.4.12 Reabilitação física .....	29
2.4.13 Terapia celular.....	31
2.4.14 Tratamento cirúrgico.....	31
<b>3 USO DE SOLUÇÕES NEUROLÍTICAS NO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE INDUZIDA EM RATOS .....</b>	<b>33</b>
3.1 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1.1 3.1.2 Animais.....	38
3.1.2 Procedimento cirúrgico: transecção do ligamento cruzado anterior .....	38
3.1.3 Avaliação da incapacitação articular (dor articular) .....	39
3.1.4 Termografia .....	39
3.1.5 Avaliação radiográfica .....	40
3.1.6 Avaliação histopatológica .....	40
3.1.7 Análise estatística .....	40
3.2 RESULTADOS .....	41
3.2.1 Espessura articular.....	41

3.2.2 Avaliação da Claudicação .....	41
3.2.3 Escore clínico .....	42
3.2.4 Avaliação Termográfica .....	43
3.2.5 Avaliação radiográfica .....	44
3.2.6 Avaliação Histopatológica .....	44
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>52</b>
<b>ANEXO 1 – NORMAS ARCHIVESOFVETERINARY SCIENCE .....</b>	<b>68</b>
<b>ANEXO 2 – SISTEMA OARSI PARA AVALIAÇÃO DA OA – GRAU .....</b>	<b>77</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A Osteoartrite (OA), também conhecida como osteoartrose, é considerada uma doença inflamatória e de intensa atividade metabólica (CASTRO, 2004). É a enfermidade mais comum da população senil, tanto em humanos quanto em animais, podendo acarretar importantes limitações funcionais (SILVA-JÚNIOR, 2007).

Nos humanos é mais frequente a partir da quarta década de idade e nos cães torna-se mais evidente na idade próxima aos cinco anos, sobretudo em animais de grande porte, representando 37% de todas as causas de claudicação (SILVA, 2007).

Considerando a abrangência e as implicações da osteoartrose no joelho, compreende-se atualmente a importância do diagnóstico e tratamento em suas fases iniciais, de maneira a minimizar as suas consequências (INNES et al., 2004).

Sabe-se ainda que um dos aspectos limitantes no estudo da OA em humanos e animais é a inexistência de métodos objetivos e confiáveis para avaliar a progressão da doença em estudos clínicos. As dificuldades incluem a disponibilidade de tecido para avaliação histopatológica, em particular nas fases iniciais da doença, ausência de marcadores biológicos e a não padronização de um método definitivo de imagem (SILVA, 2007).

Por não haver até o momento intervenções que sejam capazes de interromper por completo a sua evolução, sobressaem as opções que permitem a redução da sua progressão. Desta forma, injeções intrarticulares de anti-inflamatórios e agentes neurolíticos poderiam ser utilizados com esta finalidade.

Esta dissertação é formada por dois capítulos, formatados de acordo com a revista á qual será submetida à aceitação. O capítulo 1 é intitulado “Osteoartrite: Uma breve revisão” e está formatado segundo as normas de submissão da Revista Archives of Veterinary Science da Universidade Federal do Paraná (ANEXO 1).

O capítulo 2 é intitulado “Uso de soluções neurolíticas no tratamento da osteoartrite experimental em ratos” e refere-se ao experimento que buscou demonstrar os efeitos da utilização de soluções neurolíticas de uso intra-articular após indução de Osteoartrite em ratos, também formatado às normas da Archives of Veterinary Science.

## 2 OSTEOARTRITE: UMA REVISÃO

*(Osteoarthritis: a review)*

### RESUMO

A osteoartrite é uma doença de alta prevalência em animais idosos de qualquer espécie. Tem evolução lenta, cujos eventos desencadeantes de sua patogenia são ainda pouco esclarecidos. Do ponto de vista clínico, a osteoartrite caracteriza-se por dor na articulação, limitação do movimento, efusão e graus variados de inflamação local. Sua patogenia caracteriza-se pela queda na concentração dos proteoglicanos na cartilagem, alterações no tamanho e agregação dessas glicoproteínas, aumento no conteúdo/teor hídrico, desorganização das fibrilas de colágeno e desequilíbrio na síntese e degradação das macromoléculas da matriz. Radiograficamente, a afecção caracteriza-se por perda irregular da cartilagem articular, esclerose do osso subcondral, presença de osteófitos e entesiófitos. Graus variáveis de inflamação sinovial também podem ser encontrados. A osteoartrite caracteriza-se por alteração das propriedades relacionadas à tensão, a compressão e ao cisalhamento, bem como por modificação da permeabilidade hídrica da cartilagem ou articulação. Essas mudanças são acompanhadas por aumento na rigidez do osso subcondral. Não há agente terapêutico específico com capacidade de restauração da cartilagem a sua normalidade. A terapia multimodal prevalece nesta afecção, constituindo-se de terapia farmacológica, manejo clínico e/ou cirúrgico e reabilitação física dos pacientes acometidos.

Palavras-chave: Articulação 1. Inflamação 2. Osteófito 3. Patogenia 4. Tratamento 5.

## ABSTRACT

Osteoarthritis is a disease of high prevalence in older animals of any kind. It is a disease of slow evolution, whose triggering events of its pathogenesis are still poorly understood. From a clinical standpoint, osteoarthritis is characterized by pain in the joint, limitation of motion, effusion and varying degrees of local inflammation. Its pathogenesis is characterized by the decrease in the concentration of proteoglycan in cartilage, changes in size and aggregation of these glycoproteins, increased content / water content, disorganization of collagen fibrils and imbalance in the synthesis and degradation of matrix macromolecules. Radiographically, the disease is characterized by irregular loss of articular cartilage, subchondral bone sclerosis, presence of osteophytes and entesiocytes. Different grades of synovial inflammation may also be found. Osteoarthritis is characterized by alteration of the properties related to tension, compression and shear as well as by modifying the hydraulic permeability of cartilage or joint. No specific therapeutic agent capable of cartilage restoration to its normality. The multimodal therapy in this condition prevails, becoming drug therapy, clinical management and / or surgical treatment and physical rehabilitation of patients affected.

Keywords: Joint 1. Inflammation 2. Osteophyte 3. Pathogenesis 4. Treatment 5.

## INTRODUÇÃO

Geralmente, as articulações podem ser classificadas em sinartrose (quando não apresenta movimentos), anfiartroses (movimentos reduzidos) e diartroses (movimentos amplos ou extensos), sendo esta última a de maior importância clínica por constituir-se de alvo predileto para a inflamação articular, ou seja, artrite (SILVA-JÚNIOR, 2007).

Morfologicamente a cápsula articular externa possui estrutura fibrosa rica em fibras colágenas espessas, enquanto a cápsula articular interna apresenta-se como uma estrutura altamente flexível, que forma o principal tecido intracapsular e apresenta três camadas: uma íntima, a qual elabora o líquido sinovial, contém ácido hialurônico e diminui o atrito entre as cartilagens; a camada subíntima, que é amplamente vascularizada, e põe fim à camada subsinovial, a qual estabelece o limite com a cápsula fibrosa (SKARE, 2007).

Em relação à vascularização, existem complexas redes arteriais e venosas que formam múltiplas fístulas, que se comunicam com o suprimento vascular do periósteo e osso periarticular. A área do leito capilar sinovial é espessa e desempenha papel importante na troca de moléculas. Esses capilares são dotados de fenestrações cobertas por uma membrana fina que facilita a troca de pequenas moléculas com o líquido sinovial. O suprimento nervoso é duplo e responsável pela inervação da articulação e músculos que circundam a articulação do joelho (EKUNDI-VALENTIM, 2010).

A cartilagem articular é um tecido distinto que é formado por condrócitos entremeados em uma abundante matriz extracelular. Estes ocupam cerca de 5% do volume articular, ajustados célula a célula e são nutridos por difusão. Já a matriz é formada por colágeno, proteoglicanos e outras proteínas de menor peso molecular. O colágeno é formado por uma rede de fibras entremeadas com proteoglicanos hidrofílicos. As proteínas encontradas na cartilagem e a disposição dos condrócitos atuam na orientação e dimensão da rede de colágeno (RENNBERG & WALTER, 2005).

Dentre as articulações, a do joelho é mais comumente utilizada para estudos da osteoartrite, e é formada pela extremidade distal do fêmur, a extremidade proximal da tíbia e a patela, e compreende ainda as cápsulas (externa e interna) e

ligamentos que estabilizam a articulação, em conjunto com os meniscos, e amortecem o impacto sobre as cartilagens (CASTRO, 2004; FUKUDA et al., 2000).

É de conhecimento geral, que a estabilidade da articulação é o resultado de uma articulação saudável. Assim, suas alterações e de seus componentes podem levar à inflamação (aguda ou crônica) e subsequente disfunção dessas estruturas como um todo ou de componentes isolados, seja por lesões mecânicas, biológicas ou doenças autoimunes (BRANDT et al., 2009; EKUNDI-VALENTIM, 2010).

A OA pode ser classificada em primária (idiopática) ou secundária dependendo de alguns fatores de risco ou causas ainda não bem estabelecidas (SARZI-PUTTINI et al., 2005).

A sinovite (inflamação da sinóvia) é um aspecto importante da osteoartrite. Este processo é caracterizado pela infiltração de células inflamatórias, proliferação vascular, hiperplasia, hipertrofia das células de revestimento sinovial e conseqüente fibrose. Essas alterações são vistas tanto em modelos experimentalmente induzidos, como de ocorrência natural nas diversas espécies animais (TODHUNTER & JOHNSTON, 2007).

A OA é uma doença crônica, e acomete sobretudo populações mais idosas (LOESER, 2000). É uma doença articular degenerativa de progressão lenta das articulações sinoviais na qual a efusão sinovial e a degradação da cartilagem são componentes-chave (CIFUENTES et al., 2010).

A OA é a alteração articular mais comum observada na prática com pequenos animais e ocorre mais frequentemente nas articulações de suporte de peso de cães de médio e grande portes, embora possa acometer qualquer articulação sinovial de cães e gatos. O melhor exemplo de osteoartrite canina ocorre como resultado da displasia coxofemoral. Sua incidência varia entre as raças, e nas de grande porte excede 50%. As outras localizações frequentes são as articulações do ombro e joelho caninos (TIRGARI & VAUGHAN, 1975).

A osteoartrite pode ser primariamente uma alteração por envelhecimento (idiopática) ou resultar de um distúrbio de desenvolvimento, como osteocondrose, fragmentação do processo coronóide, não união do processo ancônio, displasia coxofemoral, luxação patelar, acondroplasia e distúrbios conformacionais como as deformidades valgo e varo dos carpos. Já os adquiridos incluem trauma, instabilidade articular, necrose asséptica epifisária, hemartroserecidivante e defeitos

conformacionais ou postura adquiridos, como o mau alinhamento articular após consolidação de fratura (ALLAN, 2010).

## 2.1 PATOGENIA DA OA

A patogenia da destruição óssea na osteoartrite é um processo mecânico e biológico. Essa interação é imprescindível para a compreensão da doença (BENEDEK, 2006). As características patológicas da osteoartrite incluem a perda da cartilagem associada a alterações ósseas subjacentes como esclerose, destruição do osso subcondral, cistos ósseos e formação de osteófitos (BURR et al., 2003).

A perda da cartilagem inicia-se com uma lesão focal que se estende progressivamente para compartimentos, induzindo alterações na superfície articular. Fibrilação superficial é associada com a perda de pequenos proteoglicanos, decorina e biglicanos, que são componentes íntimos das fibrilas da superfície articular, assim como os agreganos (grandes proteoglicanos). A perda dessas moléculas está associada à clivagem do colágeno tipo II pela colagenase, clivagem dos agreganos e degradação dos pequenos proteoglicanos (SARZI-PUTTINI et al., 2005).

Na doença, a degradação da matriz extracelular (MEC) excede a síntese, desencadeando um decréscimo em rede da matriz da cartilagem ou mesmo a sua própria erosão. A causa primária desse processo está relacionada ao aumento da atividade de enzimas proteolíticas denominadas metaloproteinases de matriz (MPM), e tem sido descritas como responsáveis pela degradação da matriz, o que caracteriza a degeneração articular na OA. (BRADLEY, 2007). A interrupção do contato entre a cartilagem articular e o osso subcondral vascularizado também promove a degeneração da mesma (MALININ & OUELLETTE, 2000).

A expressão de muitas MPM é alta na cartilagem de pacientes com osteoartrite, como as MPM3, MPM13 e MPM14. Um grupo de metaloproteinases recém descoberto, (as agreganases), são conhecidas por desempenhar um papel importante na degradação do agregano. Três membros da família das proteinases (uma desintegrina e uma metaloproteinase associada a um modificador de trombos Ondina), ADAMTS 1, ADAMTS 4 E ADAMTS 5, tem sido identificado como agreganases (SARZI-PUTTINI et al., 2005).

Com a progressão da doença, ocorre a diminuição do pH e as catepsinas B, L e K, produzidas pelos condrócitos, podem auxiliar na progressão da destruição da cartilagem (SARZI-PUTTTINI et al., 2005). A deficiência de fatores tissulares

inibitórios das metaloproteinases favorece claramente a proteólise excessiva na cartilagem articular lesionada (KRAUS, 1997).

A super-regulação de uma enzima chamada DIO2, que é responsável pelo aumento da resposta inflamatória e hipertrofia de condrócitos, foi encontrada por Nagase et al., (2013) em ratos após indução da doença, demonstrando importante papel dessas enzimas na progressão da mesma.

Citocinas produzidas pela sinóvia e pelos condrócitos, especialmente a interleucina IL1, e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) desempenham um papel significativo na destruição da cartilagem, e as prostaglandinas (PGF2 $\alpha$ ) e leucotrienos podem também estar envolvidos (LASHERAS et al., 2012). A PGF-2 $\alpha$  está aumentada em cartilagens osteoartríticas de pacientes humanos, além de desenvolvimento celular diminuído e indução do processo de apoptose dos condrócitos articulares. A produção de óxido nítrico (NO), que é estimulada por citocinas inflamatórias está envolvida no catabolismo da cartilagem e colabora no apoptose de condrócitos. E devem, portanto, ser considerados alvos importantes na intervenção terapêutica da AO (AMIN et al., 2000).

Sabe-se que um mínimo de sinovite é estabelecido na osteoartrite (LASHERAS, 2012). Nessa condição a concentração de MPM no líquido sinovial, como a estreptomelina 1 (mais comumente derivada de células sinoviais que da cartilagem) aumenta rapidamente. Assim como outras células do organismo, as células sinoviais sintetizam e secretam ácido hialurônico, e o seu tamanho e sua concentração diminuem na osteoartrite (BRANDT, 2009). Similarmente, as proteínas oligoméricas da cartilagem, que são sintetizadas pelas células sinoviais e condrócitos estão aumentadas em paciente com acelerada degeneração articular (VILIN et al., 2002).

Esses quadros associados sugerem que a inflamação articular pode acelerar a lesão da mesma. Níveis de proteína C reativa (uma proteína de fase aguda da inflamação) podem estar moderadamente aumentados no soro de pacientes com osteoartrite (SARZI-PUTTINI et al., 2005).

## 2.2 MARCADORES

No líquido sinovial ou sangue, são indefiníveis os marcadores, que podem ser utilizados para identificação de pacientes nos estágios precoces da osteoartrite,

acompanhamento da evolução e eficácia do tratamento, bem como a monitorização da cura (TODHUNTER & JOHNSTON, 2007).

Segundo Funck-Brentano & Cohen-Solal (2011) novas descobertas envolvem o metabolismo da cartilagem, como as moléculas ligantes RANK (RANKL) e a osteoprotegerina, ambas produzidas por osteoblastos, e que estão supra reguladas em pacientes osteoartíticos.

A proteína oligomérica da matriz cartilaginosa (COMP) é empregada como marcador de degradação e também é produzida pela sinóvia, logo o seu aumento pode refletir a presença de sinovite, assim como a concentração do hialuronato no líquido sinovial e no soro (DEAN, 1991).

O anticorpo 846 produzido contra o epítipo da molécula de sulfato de condroitina correlaciona-se com a síntese de agregano, assim como o pro-peptídeo C do colágeno tipo II é considerado um marcador sintético (SARZI-PUTTINI et al., 2005).

Wang et al., (2013) revela a possibilidade do mapeamento de genes regulatórios da doença por alguns softwares, que podem ajudar na compreensão de detalhes moleculares envolvidos na OA e além disso, abrir caminhos para futuras e promissoras pesquisas nesta área.

### 2.3 GENÉTICA E SUSCEPTIBILIDADE

A osteoartrite é mais frequente e grave em cães com rápido ganho de peso. A genética subjacente da displasia da articulação coxofemoral e muitas outras características ortopédicas relacionadas ao desenvolvimento em cães é complexa. A hereditariedade da osteocondrose do cotovelo, por exemplo, foi estimada em 77% em cães e 45% em cadelas. Cães da raça Bernese Montai Dog apresentam 12 vezes maior probabilidade de displasia do cotovelo. A osteocondrose da articulação do ombro estimou hereditariedade de 55 a 70% em alguns cães de grande porte. Já foram propostos modos poligênicos de herança para as síndromes de osteocondrite dissecante e displasia do cotovelo, bem como origem hereditária da não união do processo ancôneo em determinadas raças, como o Pastor alemão (TODHUNTER & JOHNSTON, 2007).

## 2.4 AVALIAÇÃO CLÍNICA

### 2.4.1 Histórico e Exame Físico

Os pacientes acometidos exibem ampla variedade de sinais clínicos, de acordo com a gravidade dos sinais. Os mais relatados pelos proprietários incluem a claudicação e rigidez assimétricas, a diminuição ou incapacidade de atividades físicas e mudanças nos padrões normais de comportamento (TODHUNTER & JOHNSTON, 2007).

Frequentemente, o exame físico revela alterações de marcha, vistas com maior facilidade durante a ambulação do paciente. À palpação nota-se tumefação articular, identificada pela efusão da articulação e /ou hipertrofia do tecido conjuntivo periarticular. A manipulação desta articulação pode demonstrar redução na amplitude de seus movimentos. A dor pode ser um achado não específico, porém é frequente. A natureza crônica e tipicamente fraca da dor osteoartrítica, explica em parte, a falta de vocalização desses animais acometidos (TODHUNTER & JOHNSTON, 2007).

### 2.4.2 Avaliação Laboratorial

A análise do líquido sinovial pode ser inestimável na confirmação da osteoartrite. O líquido sinovial é avaliado quanto a aspectos macroscópicos de coloração, ausência de turbidez e viscosidade. No exame microscópico, são avaliadas as características relacionadas à contagem e ao tipo celulares, bem como a presença de agentes infecciosos. Os testes de laboratório comumente realizados, como o hemograma e perfil bioquímico sérico não são valiosos no diagnóstico da osteoartrite (TODHUNTER & JOHNSTON, 2007).

### 2.4.3 Diagnóstico

Existem vários métodos de imagem para a avaliação de a cartilagem articular (CHOI & GOLD, 2011). Técnicas mais sensíveis são preconizadas para uma detecção preventiva e adequado acompanhamento do seu tratamento (AULA et

al., 2010). A ressonância magnética pode ser altamente sensível na detecção de pequenas injúrias da cartilagem articular (GOODWIN, 2011).

O ultrassom e a ressonância magnética (RM) mostraram-se úteis na detecção da espessura da cartilagem articular, com melhor resolução da RM, tornando-se eficazes na detecção da doença em estágios iniciais e pequenas injúrias da cartilagem (GOODWIN, 2011).

A radiografia convencional tem sido usada para detecção de alterações tardias na cartilagem articular, como alterações no espaço intra-articular e a formação de osteófitos (CHOI & GOLD, 2011).

#### 2.4.4 Sinais radiográficos

Alterações radiográficas da doença articular degenerativa variam de acordo com o estágio da doença. A primeira alteração patológica é uma sinovite não supurativa leve, acompanhada por um aumento significativo no volume da massa sinovial. Em seguida acontece degeneração focal da cartilagem e o espaço articular pode aparecer aumentado durante este estágio (ALLAN, 2010).

A alteração mais facilmente identificada é a formação de enteseófito e osteófito, seguida de neovascularização da junção condrossinovial com resultante formação de fibrocartilagem. Esse colar fibrocartilaginoso gradualmente se ossifica com a formação de um novo osso pericondral. Os enteseófitos se desenvolvem nas superfícies que não suportam peso e eventualmente são incorporados aos ligamentos adjacentes ou anexos capsulares. A formação de cisto subcondral, uma característica da cabeça do fêmur em humanos, também foi observada nas articulações de pequenos animais (INNES et al., 2004).

Ao se classificar a osteoartrite do joelho, a avaliação das alterações no número e tamanho dos osteófitos peri articulares é mais confiável que a avaliação de esclerose subcondral, mineralização intra-articular ou efusão sinovial, que são aspectos radiograficamente identificáveis que acompanham a instabilidade do joelho. A identificação precoce de osteófitos nas cristas trocleares é facilitada pela utilização de projeções radiográficas específicas como radiografias mediolateral flexionada do joelho, craniomedial-caudolateral oblíqua (ALLAN et al, 2010).

As articulações acometidas apresentam diminuição da amplitude de movimento, resultando em aumento da carga na reduzida superfície de suporte de

peso. A combinação da carga aumentada com a diminuição da resistência subcondral leva ao remodelamento, é completo pelo pela adição de um novo osso periférico na forma de osteófitospericondrais. O formato alterado dos componentes ósseos é facilmente identificado em radiografias (INNES, et al., 2004).

A tomografia computadorizada convencional ou a artrografia também podem ser utilizadas para avaliação de irregularidades da superfície articular, contudo a pouca disponibilidade e alto custo limitam o seu uso (CHOI & GOLD, 2011).

#### 2.4.5 Tratamento

Sabe-se que as duas maiores anormalidades associadas à osteoartrite são perda da função e dor. Portanto, o alívio da dor consiste no principal objetivo, colocando o restabelecimento da função em segundo lugar. De acordo com algumas variáveis, sinais de dor crônica, silenciosa ou dor aguda, mais intensa podem ser encontradas (TODHUNTER & JOHNSTON, 2007).

Por isso, ao lidar com o paciente acometido pela AO, torna-se mais apropriado o esboço de um plano terapêutico global, que envolvem a terapia conservadora, clínica e cirúrgica (RENBORG, 2005).

Segundo Goodrich (2006), faz-se importante o conhecimento da anatomia e fisiopatologia da osteoartrite para um adequado plano de seu tratamento. Uma vez entendido, o uso de anti-inflamatórios não esteroidais, esteroides intra-articulares, viscosuplementação e condroprotetores podem ser úteis no tratamento da doença, bem como prevenir a degeneração da superfície articular e conseqüente evolução da doença.

Considerando a terapia farmacológica da AO, os principais medicamentos utilizados estão descritos a seguir.

#### 2.4.6 Drogas anti-inflamatórias não esteroidais (AINE)

São as mais frequentemente recomendadas para o tratamento da osteoartrite Sua popularidade deve-se a sua efetividade na dor moderada, comum nesse quadro, e com relativa facilidade de administração (MALONE, 2002). Os AINE podem ser seletivos ou não para inibidores da cicloxigenase (CIALDAI et al., 2009).

O acetaminofeno é utilizado para o tratamento da OA em humanos nos Estados Unidos, é responsável por grande alívio da dor, contudo não há relatos clínicos de seu uso em cães. Já a aspirina tem sido utilizada na dose de 10 a 25mg/kg por via oral, duas a três vezes, e é baseada em estudos farmacológicos, sendo o vômito um efeito colateral bastante relatado (JOHNSTON, 2008).

O carprofeno foi o primeiro dos novos AINES a ter seu uso aprovado em cães. A dose recomendada é de 2.2 mg/kg administradas duas vezes ao dia, ou 4,4 mg/kg uma vez apenas. Efeitos adversos encontrados foram a toxicidade gástrica e a toxicose hepática idiopática. O firocoxibe é o mais recente anti-inflamatório aprovado no mercado de animais de companhia. Sua dose é de 5 mg/kg por via oral, diariamente (POLLMEIER et al., 2006).

O etodolac foi o segundo a ser aprovado em cães e tem sido efetivo no controle da dor e sinais da AO secundária à displasia coxofemoral, na dose de 10 a 15 mg/kg a cada 24 horas. O deracoxibe também é citado na dose de 1 a 2 mg/kg, administrados oral e diariamente, diminuindo sinais da dor crônica. Seu uso foi associado a úlceras gástricas (JOHNSTON, 2008).

Muito eficaz no alívio dos sinais clínicos, o meloxicam é considerado um dos principais antiinflamatórios. A dose recomendada é de 0,1 mg/kg por via oral, diariamente, Sinais gastroentéricos leves já foram relatados, porém não são frequentes (ARAGON, 2007).

A tepoxalina é classificada como inibidora dupla da cicloxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX), não há estudos sobre seu uso em cães, porém recomenda-se a dose de 10 mg/kg diariamente por via oral. Comercialmente está disponível em comprimidos de dissolução rápida (ARAGON, 2007).

#### 2.4.7 Antiinflamatórios Esteroidais

Corticosteroides são comumente utilizados para o controle da inflamação e alívio da dor (PEREIRA & REIS, 2005), através da inibição da formação de prostaglandinas, inibição da atividade de metaloproteinasas, bem como a diminuição do edema, vasodilatação e deposição de fibrina. O uso intra-articular é considerado além de potente, de alta relação custo-benefício (BLACK, 2000).

#### 2.4.8 Analgésicos

O tramadol é um considerado um analgésico opioide, que age inibindo fracamente receptores opioides, interferindo na liberação e receptação de noradrenalina e serotonina em vias inibitórias descendentes. A sua associação com AINEs tem sido amplamente utilizada na rotina, onde doses entre 2 a 5 mg/kg duas a três vezes por dia têm sido utilizadas com segurança (ARAGON, 2007). Knights et al (2009) revela a morfina como importante no controle da dor natural e induzida.

A amantadina, um inibidor do receptor N-metil-D-Aspartato (NMDA), a amitriptilina e a gabapentina tem sido especulada como adjuvantes no tratamento da OA. Não se tem relatos sobre o uso e dosagem da mesma no tratamento da ao (JOHNSTON, 2008).

#### 2.4.9 Agentes terapêuticos adicionais

Os glicosaminoglicanos polisulfatados (GS) são aprovados para o uso em cães como agente modificador da osteoartrite, atuando na inibição da síntese de enzimas destrutivas e prostaglandinas associadas à sinovite e doença articular degenerativa. Embora muitas doses tivessem sido relatadas, faltam evidências derivadas de trabalhos científicos o que atestem o eventual valor de GS na evolução da osteoartrite (BIASI et al, 2004). A aplicação intramuscular de 5 mg/kg sendo duas aplicações semanais por até 4 semanas tem sido rotulada atualmente (JOHNSTON,2008).

O hialuronano (HA) é um glicosaminoglicano não sulfatado que é o maior componente do líquido sinovial. Foi utilizada primariamente na forma intra-articular porem o uso intravenoso em equinos já foi avaliado. Não se sabe a real ação do seu uso em animais de pequeno porte, no entanto, apresenta propriedades anti-inflamatórias, condroproteção e viscoelasticidade (HANYPSIAK & SHAFFER, 2005).

#### 2.4.10 Suplementos

Compostos a base desses açúcares (condroitina e glicosamina) tem sido testado e resultados divergem entre ações benéficas ou inerentes. O sulfato de condroitina, além de custo menor, apresentou maior tolerância gastrointestinal

quando comparado aos AINE (RÚBIO-TERRES, 2010). O implemento de ibuprofeno e glicosamina levou a aumento da força muscular e diminuição da dor em ratos submetidos a exercício (PETERSEN, 2011).

#### 2.4.11 Ômega 3

A suplementação na dieta como terapia adjuvante no tratamento de degeneração e inflamação na condição artrítica. Sua ação deve-se a menor produção de mediadores inflamatórios pela via da diminuição do EPA (Ácido eicosapentóico) diminuindo ou modulando a liberação de citocinas pró-inflamatórias (COQUEIRO et al., 2011). Muitos produtos alimentícios para cães com suplementação de Ômega 3 estão disponíveis no mercado, e representam um potencial como suplemento em cães com osteoartrite (JOHNSTON, 2008).

Existem ainda diversos produtos de origem fitoterápicas, como a resina de *Boswellia Serrata*, P54FP e *greenlipped mussel*, ambos em testes como terapia adjuvante no controle dos sinais da doença osteoartrítica (ARAGON, 2007).

#### 2.4.12 Reabilitação física

É o tratamento através da utilização de agentes físicos, como o calor, frio, água, eletricidade, massagem e exercícios. Atuam no aumento e melhora na qualidade do fluxo sanguíneo na região lesada, prevenindo a inflamação e atrofia muscular adjacente com consequente perda da função, e proporcionando efeitos psicológicos benéficos tanto nos pacientes como em seus proprietários assim, as técnicas fisioterápicas podem ainda proporcionar a redução de doses analgésicas em pacientes acometidos, mantendo a mesma qualidade de vida. (JOHNSTON et al, 2008).

Essa reabilitação geralmente é obtida através da combinação de algumas modalidades.

A crioterapia ou hipotermia local é muito utilizada na dor aguda, e promove além da vasoconstrição, o relaxamento muscular e diminuição da condução nervosa, produzindo analgesia. A terapia deve ser utilizada por aproximadamente 30 minutos, de 1 a 4 aplicações. Aplicações muito prolongadas podem levar a vasodilatação compensatória e edema (JOHNSTON et al., 2008).

O calor é geralmente usado em casos de dor crônica após a fase inflamatória e deve ser aplicado antes o alongamento, massagem ou exercícios. Reduz os espasmos musculares e aumenta o fluxo sanguíneo local, causando dilatação moderada e alívio e reabsorção de fluidos, diminuindo o edema. O calor geralmente deve ser aplicado utilizando bolsas de água-quente ou embalagens aquecidas/umedecidas, por em média 15 a 20 minutos. É contraindicado em casos de falta de sensibilidade nervosa ou ainda durante a fase inflamatória, podendo agravar os sinais (JOHNSTON et al, 2008; SARZI-PUTTINI et al., 2005).

Os exercícios de movimentação passiva são úteis no auxílio da restauração da movimentação normal da articulação osteoartrítica. Previne a atrofia, fibrose, contratura, melhora a circulação sanguínea e linfática e diminui o tempo de retorno à função. Os exercícios devem ser repetidos duas a três vezes ao dia, sendo de 10 a 15 movimentos repetidos. Alongamento e exercícios de propriocepção também são mecanismos efetivos na terapêutica articular (TANGER, 1984).

A massagem deve sempre ser combinada com outras técnicas terapêuticas. Importante na melhora do fluxo sanguíneo, promove relaxamento e desfaz aderências, produzindo analgesia. Os cinco componentes fundamentais incluem o ritmo, velocidade, pressão, direção e a frequência. Apesar de existirem muitos tipos de massagem, a movimentação de membros em sentido distal-cranial e a massagem com movimentos circulares. Dez a 20 movimentos a cada 24 horas são preconizadas para cães com sinais de osteoartrite (JOHNSTON et al., 2008).

O ultrassom terapêutico pode ser usado para o relaxamento de fibras musculares mais profundas, facilitando movimentos de extensão. As ondas são convertidas em calor ao serem absorvidas pelo músculo. A estimulação de fibroblastos é outro importante aspecto. Vários protocolos de aplicação podem ser utilizados, porém a aplicação de (0,5-1,5 W/cm<sup>2</sup>), duas a três vezes semanais é preconizada para cães para ajudar a reduzir a inflamação e dor, auxiliando em portadores de osteoartrite. O calor por radiofrequência pode remover células da cartilagem bem como transmitir energia ao osso subcondral. Esse efeito é considerado um desafio e pouco investigado. Estudos in vivo e in vitro publicados utilizando cartilagens articulares humanas e animais demonstraram que os efeitos da radiofrequência térmica são confusos e difíceis de ser interpretados, e seu uso no tratamento da lesão articular é controverso entre cirurgiões ortopédicos (VANGNESS-JÚNIOR, 2005).

O exercício ativo promove aumento da força muscular em geral, segundo Pereira e Reis (2005), a função cardíaca coordenação enquanto reduz a chance de lesão articular e atrofia muscular. Promove também a renovação do tecido cartilaginoso, aumentando a síntese de proteoglicanos e induz alterações histológicas e biomecânicas benéficas (CIFUENTES et al, 2010). Sessões curtas diárias de 10-20min, além de exercícios aquáticos, com diminuição do atrite sobre a cartilagem são formas importantes de atividade física para cães portadores de osteoartrite (JOHNSTON et al, 2008). Aragon (2007) concorda que exercícios terapêuticos são bem aceitos, desde que absolutamente individualizado.

Zywiell (2009) reforça a importância do controle e peso sobre articulações na prevenção da pressão sobre condilos femorais e progressão da lesão óssea. O uso de dieta rica em pofenois, o que inclui extrato de chá verde, frutas cítricas e extrato de soja é citado pelas suas propriedades preventivas da OA (SHEN, 2012).

#### 2.4.13 Terapia celular

Desde sua descoberta em 1960, o uso de células estromais adultas multipotentes tem sido avaliada quanto a sua capacidade osteogênica para uso em tratamento de lesões ósseas congênitas ou adquiridas (LOPEZ & DAIGLE, 2011).

#### 2.4.14 Tratamento cirúrgico

O tratamento cirúrgico da AO tem três objetivos: alívio da dor, restauração da locomoção e correção de deformidades, que geralmente é obtida pela artrodese ou artroplastia (BEKLER, 2008).

Dentre as possibilidades, a artroscopia, para lavagem de debridamento de tecidos lesionados é amplamente indicada (DAY, 2005). A produção de microfraturas no osso subcondral (para estimulação da medula óssea e consequente produção de fatores osteogênicos) tem como principal ferramenta de tratamento da AO, e também é obtida pela artroscopia (SGAGLIONE, 2005).

Scopp&Mandelbaum (2005) citam ainda o uso de da artroplastia por abrasão, para exposição do leito vascular subcondral, estimulando a regeneração local, bem como a utilização de auto-enxertos na correção de pequenos defeitos, associados ou não com o transplante periosteal de condrócitos cultivados, como opções inovadoras no reparo da cartilagem.

A denervação química tem sido proposta como alternativa para artrite degenerativa, controlando a dor e preservando a funcionalidade da articulação (BEKLER, 2008). Como agentes utilizados estão a toxina botulínica (KUÇUQUER et al 2011); agentes neurolíticos, como álcoois, fenóis glicerol entre outros (ESCODRO, 2004).

A denervação por radiofrequência apresentou excelente controle da dor redução da incapacidade em pacientes humanos com dor lombar crônica (BURNHAM, 2009). Uma técnica alternativa por eletro cauterio foi descrita com sucesso em humanos para alívio da dor pós-operatória de artroplastia total do joelho (ALTAY et al., 2012).

Por fim, a denervação cirúrgica é uma das opções de tratamento e já vem sendo empregada há tempos em humanos e recentemente nas demais espécies, como o cão, com o objetivo de aliviar a dor e o sofrimento associados à OA (SCHMAEDECKE, 2004).

A denervação cirúrgica é obtida pela neurectomia seletiva de fibras sensitivas da cápsula articular e vem sendo utilizada como um método pouco cruento (FERRIGNO, 2007). A técnica de denervação já foi descrita em diversas articulações, com bons resultados de acordo com Mulder (1992) e Obletz et al (1949) e em cães, como citam Zamprogno (2011) demonstrando a denervação de cotovelo; no joelho, por O'Connor et al., 1992 e inédita no tratamento da displasia coxofemoral, por Ferrigno (2007).

### 3 USO DE SOLUÇÕES NEUROLÍTICAS NO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE INDUZIDA EM RATOS

*(Use of neurolytic solution in the treatment of the inducible osteoarthritis in rats)*

#### RESUMO

A osteoartrite é uma enfermidade muito frequente em seres humanos e animais, sendo que diversas condutas terapêuticas são atualmente preconizadas, como o amplo uso de AINE. Recentemente surgiram soluções neurolíticas com recomendação de uso intra-articular, no mercado veterinário. Entretanto tal conduta e seus efeitos na cartilagem articular, não foram ainda estudados e demonstrados. O objetivo deste estudo é verificar os possíveis efeitos deletérios de duas soluções neurolíticas na evolução da osteoartrite em ratos. Foram utilizados 45 ratos wistar, que, após a transecção do ligamento cruzado cranial, foram divididos em três grupos: o grupo controle recebeu 0,1 mL de solução fisiológica, os demais cloreto de amônio 4% e fenol 5%, imediatamente após sutura da cápsula articular. Cinco animais de cada grupo foram sacrificados nos momentos 7, 14 e 21 dias. A avaliação da incapacidade articular foi obtida através da espessura articular, claudicação e pelo índice de osteoartrite. Imagens termográficas do membro operado e do contralateral foram obtidas nos dias 3, 7, 14 e 21 dias e radiografias dos membros operados e contralaterais foram realizadas no momento da eutanásia. A gravidade da lesão histopatológica foi graduada após coloração de Hematoxilina-Eosina através do método OARSI para a avaliação microscópica da osteoartrite. Resultados: Todos os animais apresentaram OA, onde o score variou de 1 a 3 pelo sistema OARSI, entretanto não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos em nenhum dos critérios analisados. Não houve interferência na evolução clínica e histopatológica da osteoartrite, com o uso das soluções de cloreto de amônio 4% e fenol a 5%.

Palavras-chave: Claudicação 1. Cloreto de amônio 2. Fenol 3. Intra-articular 4. Solução fisiológica 5.

## ABSTRACT

Osteoarthritis is a very common illness in humans and animals, and various therapeutic approaches are currently recommended. Recently emerged neurolytic solutions with recommendation of intrarticular use in the veterinary market. However such behavior and effects on articular cartilage have not yet been studied and demonstrated. The objective of this study is to assess the possible deleterious effects of two neurolytic solutions in the evolution of osteoarthritis in rats. **Material and methods:** We used 45 wistar rats that after transection of the cruciate ligament were divided into three groups: the control group received 0.1 ml of saline solution, the other ammonium chloride 4% and 5% phenol, immediately after suturing the joint capsule. Five animals from each group were sacrificed at times seven, 14 and 21 days. The assessment of joint failure was achieved through the thickness articular index for lameness and osteoarthritis. Thermographic images of the limb and contralateral were obtained on days three, seven, 14 and 21 days and x-rays of the operated and contralateral limbs were performed at the time of euthanasia. The severity of histological injury was graded after staining with hematoxylin-eosin using the OARSI method for microscopic evaluation of osteoarthritis. **Results:** All animals showed OA, where the score ranged from 1 to 3 by the OARSI system, however there were no statistical differences between groups in any of criteria examined. **Conclusion:** There was no interference in the clinical evolution and histological osteoarthritis, with the use of solutions of ammonium chloride 4% and 5% phenol.

**Keywords:** Ammonium chloride 1. Intrarticular 2. Lameness 3. Phenol 4. Saline solution 5.

## INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é um processo degenerativo articular, de evolução lenta, e que apresenta grande relevância clínica, importante morbidade, além de ser responsável por enormes danos sociais e econômicos aos pacientes (SILVA, 2007).

Os eventos degenerativos da cartilagem articular, como os do joelho, têm início com as lesões sobre os meniscos e a superfície articular dos côndilos femorais e tibiais. Com a progressão da doença, ocorrem mudanças nas células e nos componentes da matriz extracelular, alterando a síntese de colágeno e diminuindo a organização de condrócitos, levando à perda da matriz e proteoglicanos (EDWARDS 2003). A patogênese da OA é incerta, mas fatores desencadeantes como o trauma podem agravar o quadro, através de citocinas pró-inflamatórias catabólicas, resultando em uma reparação tecidual deficiente (SILVA 2007).

Em cães, o acometimento da OA é mais evidente na articulação do joelho e na coxofemoral, e está comumente relacionado à ruptura do ligamento cranial cruzado (SILVA, 2007). Já em humanos, o ligamento equivalente é o cruzado anterior (LCA), assim como no rato, e sua ruptura, quando não tratada, acarreta a mesma manifestação clínica, macroscópica e microscópica da OA (COUTINHO, 2009).

A transecção do ligamento cruzado anterior tem sido estudada em diversas espécies. Em ratos foi descrita primariamente em 1987, e devido ao fácil manejo, baixo custo e rápido desenvolvimento da lesão, torna o rato, um dos principais modelos experimentais para o estudo da osteoartrite (KNIGHTS, 2012).

Dentre os métodos de avaliação, a termografia é capaz de avaliar a temperatura através da energia emitida pela superfície do corpo humano ou de qualquer objeto e transformá-la em uma imagem visível ao olho humano (SÜMBERA et al., 2007). A mesma vem se constituindo como uma técnica não invasiva de mensuração de temperatura, e tem sido proposta como instrumento diagnóstico na avaliação da artrite, dor neuropática, doenças de pele, entre outros. (TAN et al, 2009)

Pela sua multiplicidade de aplicações, a termografia infravermelha fornece diagnósticos de vários sistemas (neurológico, vascular, muscular) em um único exame (BRIOSCHI, 2003).

Quando a OA é sintomática a queixa mais comum é a dor (ALTMAN & LOZADA, 2003). Saxler (2007) propõe que articulações osteoartríticas apresentem, além de outros fatores, uma suprarregulação do neuropeptídeo contendo nociceptores aferentes primários (SP), em tecidos periarticulares, dificultando o seu controle.

O tratamento atual é baseado em AINE seletivos ou não para inibidores da enzima cicloxigenase (CIALDAI et al., 2009). Contudo, estão constantemente associados a efeitos colaterais importantes ou controle ineficaz da dor. Terapias não farmacológicas, como fisioterapia e acupuntura podem ser também utilizadas, porém a permanência dos sinais é constante. Assim, um eficaz controle da dor na osteoartrite é considerado atualmente uma importante área de pesquisa na área médica e veterinária (FERNIHOUGH et al, 2004).

A denervação cirúrgica em articulações é uma das opções de tratamento e já vem sendo empregada há tempos em humanos (MULDER, 1948; GRECHENIG et al. 1998) e recentemente nas demais espécies, como o cão, como método para aliviar a dor e o sofrimento associados à AO (SCHMAEDECKE, 2004).

Recentemente surgiram soluções neurolíticas injetáveis, de uso comercial, com indicação de bula para uso intra-articular (ESCODRO, 2004). Entretanto não existem trabalhos científicos que justifiquem ou comprovem sua utilização.

Os neurolíticos são agentes causadores de lesões reversíveis ou irreversíveis em nervos, e podem ser utilizados para o tratamento da dor crônica. O procedimento de neurólise (destruição do nervo) pode ocorrer por vias como a cirúrgica, física e a química, esta última a mais comum (KOCABAS et al., 2010).

O fenol possui uma pequena propriedade anestésica, o que o torna indolor a aplicação ao contrário do álcool, e quando associado a outros agentes, diminui o risco de neurite local da aplicação (KOCABAS et al., 2010). Outras substâncias também utilizadas para interromper intencionalmente as vias nociceptivas incluem os sais de amônio, clorocresol, nitrato de prata e solução salina hipertônica (ESCODRO, 2004).

Os neurolíticos produzem lesão nas fibras nervosas dependendo da concentração do agente em contato com o tecido. A injeção intra ou perineural, por exemplo, produzem lesões axonais importantes e degeneração walleriana (ESCODRO, 2004). No entanto, pouco se sabe sobre seu uso intra-articular.

Assim, o presente estudo busca avaliar a eficácia do uso dos neurolíticos na osteoartrite induzida pela ruptura do ligamento cruzado anterior em ratos, frente à

aplicação dos mesmos por via intra-articular, bem como seus efeitos deletérios na articulação, servindo de base para estudos em outras espécies.

### 3.1 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1.1 3.1.2 Animais

Com a aprovação do Comitê de ética da Instituição, foram utilizados 45 ratos Wistar machos, pesando entre 180-200 gramas. Os animais foram mantidos em caixas plásticas padronizadas para alojar ratos em biotérios, com no máximo cinco animais por caixa, e receberam água e alimentação *ad libitum*.

Foram formados grupos com 15 animais, sendo dois tratamentos e um grupo controle. Todos os animais passaram por procedimento cirúrgico de ruptura de ligamento cruzado anterior no dia 0. No grupo controle foram administrados 0,1 mL de solução fisiológica por via intrarticular, enquanto o grupo fenol recebeu 0,1 mL de fenol a 5% e o grupo amônio, 0,1 mL de solução de Cloreto de Amônio a 4%, logo após o fechamento da cápsula articular. Todas as soluções foram preparadas e manipuladas de forma estéril. Foram eutanasiados 5 animais, de cada grupo, aos 7, 14 e 21 dias, através do uso de tiopental sódico 50mg/kg por via intraperitoneal.

#### 3.1.2 Procedimento cirúrgico: transecção do ligamento cruzado anterior

Os animais foram anestesiados com cloridrato de quetamina e xilazina (85mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente) por via intraperitoneal. Após depilação e antisepsia da região, foi realizada uma incisão longitudinal na pele sobre o joelho direito e então realizada uma incisão parapetelar lateral, e o tendão patelar rebatido medialmente, dando acesso à cavidade articular. Uma vez visualizado o ligamento cruzado anterior, o mesmo foi cuidadosamente seccionado com uma tesoura microcirúrgica, evitando-se ao máximo lesionar outras estruturas articulares. O livre movimento do fêmur sobre a tíbia no sentido posto-anterior, denominado “teste de gaveta” positivo, confirmou a secção do ligamento. O tendão patelar foi então reposicionado, e a incisão suturada com fio absorvível 5/0 em padrão contínuo simples. A pele é suturada com inabsorvível 4/0, em padrão Wolf. Todos os animais receberam analgesia imediata com morfina 1 mg/kg. Os pontos de pele foram retirados com sete dias.

### 3.1.3 Avaliação da incapacitação articular (dor articular)

Foi utilizado um Escore de Artrite semiquantitativo, utilizado por Douni et al. (2003) para diferenciar a gravidade da claudicação em diferentes níveis, como mostra o quadro abaixo:

QUADRO 1 – ESCORE DE OSTEOARTRITE DE ACORDO COM O GRAU E SUA RESPECTIVA ALTERAÇÃO

<b>GRAU</b>	<b>ALTERAÇÃO</b>
0	Sem artrite, Aparência normal.
1	Artrite leve, Articulação Levemente edemaciada.
2	Artrite Moderada, edema intenso e deformação da articulação.
3	Artrite severa, edema e deformação intensa, movimentos de flexão comprometidos.

Cada animal foi submetido à aferição da espessura articular do membro operado, utilizando o paquímetro digital 0-150 mm Kingtools 500150 e o contralateral (não operado) nos momentos 7, 14 e 21 dias, logo após eutanásia.

### 3.1.4 Termografia

O exame de termografia foi realizado nos dias 3, 7, 14 e 21 dias, até a data da eutanásia, para avaliação da articulação lesionada. Para efeito de comparação, a temperatura do membro contralateral foi simultaneamente aferida.

Um termógrafo digital infravermelho E40 (FLIR Systems Inc., Boston, MA, USA), com resolução IR160X120 (19200 pixels) foi utilizado para as aferições.

Para a realização da termografia, os animais permaneceram em uma sala climatizada à 22°C, por 40 minutos, e as imagens foram obtidas com uma distância de 40 cm da articulação dos ratos.

Cada termograma foi analisado com magnificação de 1X, com o software FLIR Tolls versão 2.1, na coloração Lava (FLIR Systems Inc., Boston, MA, USA).

### 3.1.5 Avaliação radiográfica

As articulações fêmoro-tibio-patelar operadas e as contra-laterais foram radiografadas em vista látero-lateral os MOMENTOS 7, 14 e 21 dias para detecção de possíveis alterações da articulação.

### 3.1.6 Avaliação histopatológica

Todos os animais de todos os grupos foram eutanasiados por meio de aplicação de tiopental 50 mg/kg via intraperitoneal, seguido de 1mL de solução de Cloreto de potássio. As articulações do membro operado foram colhidas de cada animal.

As articulações foram fixadas em solução de Bouin, depois lavadas em água corrente para a retirada do excesso de fixador, desmineralizados em etileno-diamino-tetra-acetato EDTA a 5,5% em solução aquosa, com troca da solução a cada dois dias por 4 dias. O material foi corado em hematoxilina-eosina.

Um Score histológico foi obtido pelo método OARSI (ANEXO 1) de classificação, sugerido por Pritzker et al. (2006).

### 3.1.7 Análise estatística

Os dados foram coletados e em seguida foram aplicados os testes estatísticos usando o programa Graphpadprism v.5.

Para a comparação da média entre os grupos foi utilizado o método de ANOVA. O intervalo de confiança foi de 95%, com significância de  $\alpha < 0,05$ .

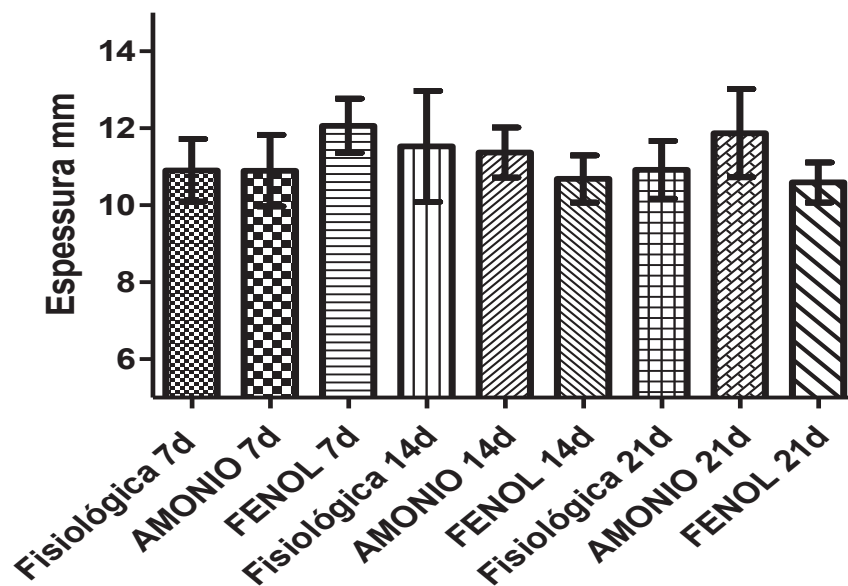
## 3.2 RESULTADOS

### 3.2.1 Espessura articular

A espessura dos joelhos foi aferida para avaliar a quantidade de edema tecidual e o índice de inflamação resultante. Quando comparadas ao membro contralateral, não operado, pode-se observar espessamento articular no grupo fenol, no fisiológico e no amônio, aos 7, aos 14 e aos 21 dias, respectivamente.

Não foi observado diferença na espessura articular entre os grupos operados, em nenhum dos momentos (figura 1).

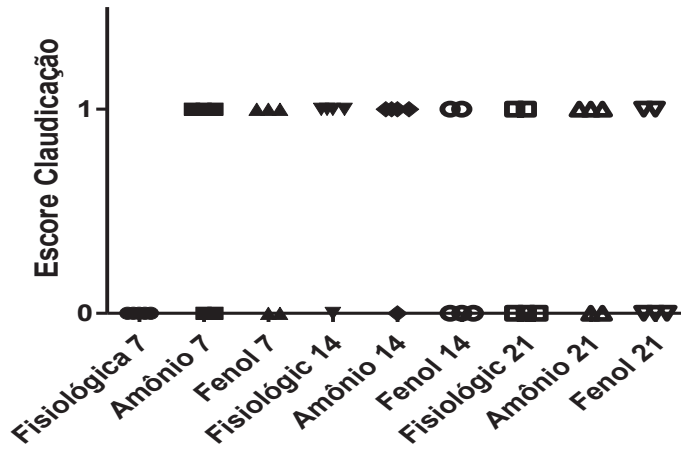
FIGURA 1- EFEITO DA RUPTURA DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL SOBRE A ESPESSURA (MM), DOS GRUPOS: FISIOLÓGICA, AMÔNIO E FENOL, NOS MOMENTOS 7, 14 E 21 DIAS.



### 3.2.2 Avaliação da Claudicação

Não houve diferença estatística entre os grupos avaliados (grupo solução fisiológica, cloreto de amônio e fenol) e entre os momentos 7, 14 e 21 dias. (Figura 2)

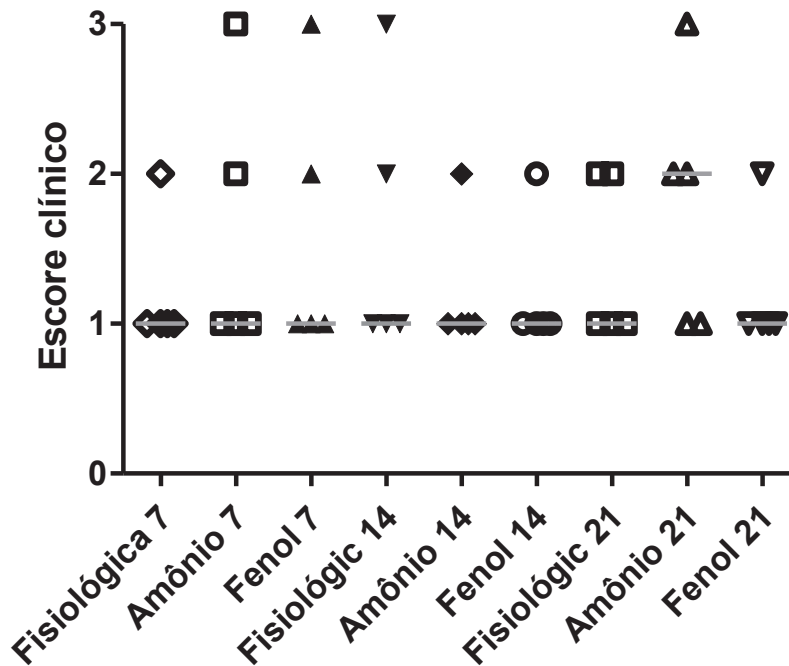
FIGURA 2- EFEITO DA RUPTURA DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL SOBRE A O SCORE DE CLAUDICAÇÃO DOS GRUPOS FISIOLÓGICA, AMÔNIO E FENOL, NOS MOMENTOS 7, 14 E 21 DIAS.



### 3.2.3 Escore clínico

O escore clínico ou índice de osteoartrite não diferiu entre os grupos fisiológico (controle), cloreto de amônio a 4% e fenol 5%, como observado na figura 3 a seguir:

FIGURA 3 - ESCORE CLÍNICO DOS GRUPOS: FISIOLÓGICA, AMÔNIO E FENOL, NOS MOMENTOS 7, 14 E 21 DIAS. AS LINHAS REPRESENTAM A MEDIANA.



### 3.2.4 Avaliação Termográfica

Não houve diferença entre os grupos nos momentos 3, 7, 14 e 21 dias (Figura 4). A imagem termográfica obtida está representada na figura 5.

FIGURA 4- EFEITO DA RUPTURA DO LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL SOBRE A TERMOGRAFIA ENTRE GRUPOS (FISIOLÓGICA, AMÔNIO E FENOL), E SEUS RESPECTIVOS CONTROLES NOS MOMENTOS 3, 7, 14 E 21 DIAS, EM 0CELSIUS.

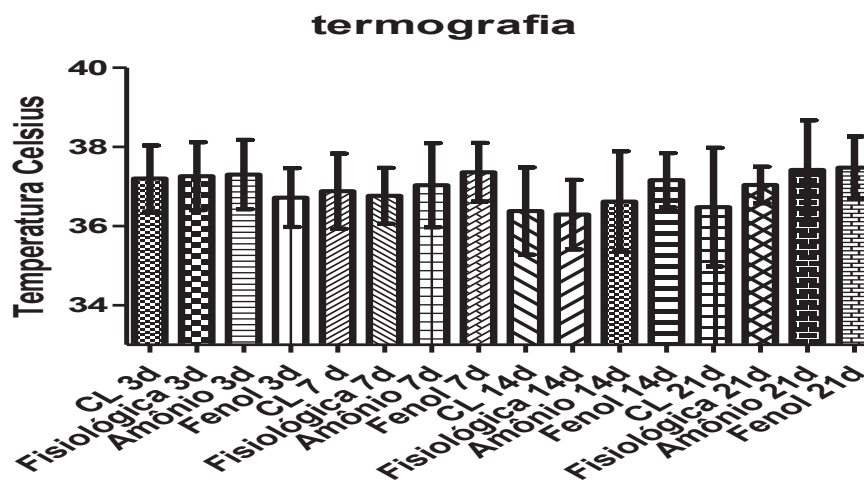
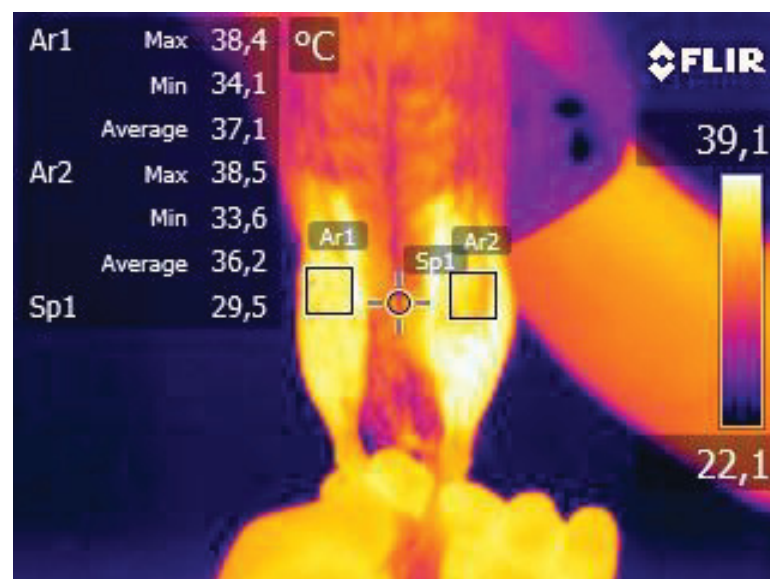


FIGURA 5- IMAGEM TERMOGRÁFICA DO JOELHO DE RATO SUAS RESPECTIVAS TEMPERATURAS MÉDIAS NO MOMENTO 21 DIAS DE AVALIAÇÃO.



### 3.2.5 Avaliação radiográfica

As imagens radiográficas não apresentaram alterações compatíveis com osteoartrite nos diferentes momentos: 7 14 e 21 dias.

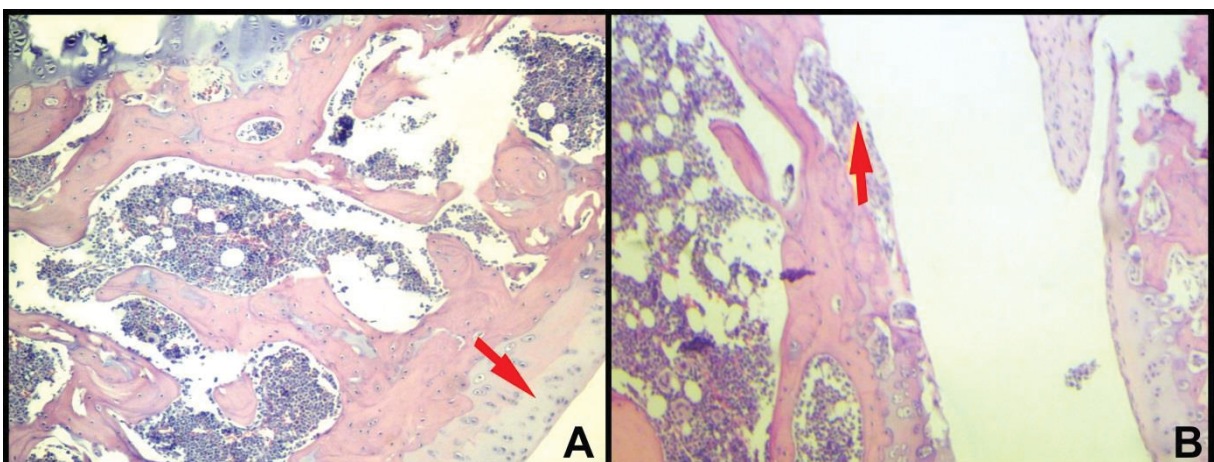
### 3.2.6 Avaliação Histopatológica

Pelo método de ruptura do ligamento cruzado cranial, todos os animais apresentaram osteoartrite, de acordo com a graduação histológica sugerida por Pritzker et al. (2006).

Destes, (1/45) apresentou o grau III, (9/45) apresentaram grau II e 35 dos 45 animais, apresentaram grau I de alteração histológica.

Dentre os achados observados em ambos os grupos estão: edema e fibrilação superficiais, condensação focal da matriz superficial, hipertrofia e proliferação de condrócitos (clusters celulares). Já no grau 2 foi observado ainda, a descontinuidade da cartilagem e maior desorganização celular. Por fim ao grau 3 soma-se a presença de fissuras verticais na superfície articular e desorganização moderada do colágeno. Na figura 6 encontram-se dois exemplos graduação histológica da cartilagem.

FIGURA 6- FOTOMICROGRAFIA DA ARTICULAÇÃO FÊMORO-TÍBIO-PATELAR. NOTE DIFERENÇA DE CONTINUIDADE DA SUPERFÍCIE ARTICULAR, ÍNTEGRA EM A (SETA), GRAU I, E DESCONTÍNUA EM B (SETA). AUMENTO DE 10X.

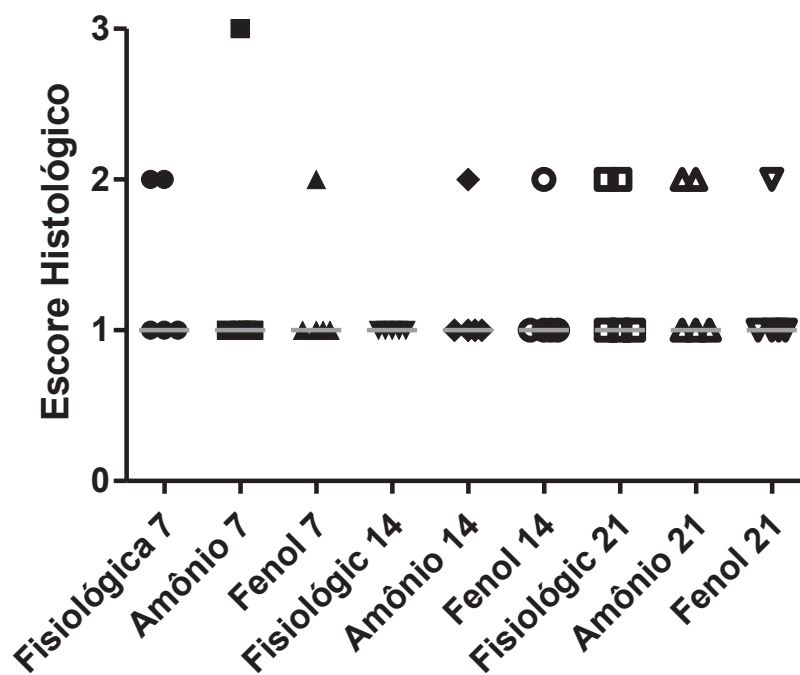


Não houve pelo método de ANOVA, diferença estatística entre grupos (fisiológico, amônio e fenol), nem entre os momentos dentro de cada grupo

(Figura7). No entanto 5 dos 15 animais mantidos por 21 dias apresentaram maior graduação de alteração histológica (grau II).

Duas amostras apresentaram quantidade moderada de substância amorfa no espaço articular, sendo uma do grupo Amônio aos 7 dias e outra do Grupo Fenol aos 21 dias.

FIGURA 7 - ESCORE HISTOLÓGICO DE ACORDO COM MÉTODO OARSI, DOS GRUPOS: FISIOLÓGICA, AMÔNIO E FENOL, NOS MOMENTOS 7, 14 E 21 DIAS. AS LINHAS REPRESENTAM A MEDIANA.



## 4 DISCUSSÃO

Os modelos experimentais em animais têm sido amplamente utilizados tanto para a compreensão de aspectos fisiopatológicos como para avaliação clínica e de novas terapias. De acordo com Galois et al. (2004) a ruptura do ligamento cruzado anterior em ratos, pode mimetizar a osteoartrite em curtos períodos de tempo, quando comparado aos humanos, e por que motivo esse modelo foi escolhido no presente estudo.

Embora todos os animais tenham desenvolvido a doença, a grande maioria (35/45) apresentou baixa graduação de alteração. Resultado semelhante foi observado por Yorimitsu (2008), utilizando também o modelo de ruptura de ligamento cruzado anterior, onde apenas degeneração moderada da cartilagem foi observada em duas semanas, e lesões mais graves, como a perda da superfície e fibrilações verticais vistas somente após 4 semanas do procedimento

O mesmo ocorreu com Fernihough et al. (2004) que não evidenciou alteração articular importante aos 21 dias, assim como Bove et al. (2006), que observou a progressão da lesão entre 3 e 21 dias, porém sem diferença estatística. Nosso estudo avaliou animais com apenas três semanas, o que pode refletir um período curto para alterações mais consistentes.

Em relação ao escore clínico e claudicação, este modelo teve dificuldade em suas avaliações. Uma possibilidade é lembrada por Pritzker et al. (2006) e cita a grande quantidade de escalas existentes, que dificultam a comparação ideal entre resultados de outras pesquisas semelhantes. Ainda, para Coutinho (2009), em modelos de OA induzidas cirúrgica ou quimicamente, o dano articular se desenvolve de maneira rápida e previsível, porém lesões secundárias (trauma, sinovite e alterações em tecidos moles periarticulares podem dificultar a avaliação de drogas modificadoras da doença, também interferindo na resposta esperada.

É claro, para Cialdai et al, (2009) que condições experimentais podem afetar a resposta observada. Fernihough (2004) afirma que nenhum modelo experimental em roedores reproduz fielmente toda a complexidade da doença em humanos. Este fato é completo por Hedbom e Hauselmann (2002), que refere à comparação do efeito mecânico sobre as articulações entre bípedes e quadrúpedes, como fator importante na progressão da lesão articular nas diferentes espécies.

O fato de não ter sido encontrado grandes alterações nos aspectos clínicos e na claudicação, não pode ser comparado a outros experimentos que utilizaram diferentes modelos experimentais como: a injeção intra-articular de idodoacetato-monossódico, onde o quadro inflamatório parece se resolver na primeira semana (Bove et al, 2003). Já Knights et AL, (2012) com o modelo de meniscectomia parcial, notou modificações estruturais importantes entre 8 e 12 semanas após o procedimento. O mesmo observou ainda que entre uma e duas semanas, mesmo na presença da dor, o dano à cartilagem era menor, o que pode esclarecer a presença de claudicação nos ratos deste trabalho, mesmo que baixos índices no escore de AO tenham sido encontrados.

Por fim, o teste de incapacitação articular padrão, comprovados por Silva-Jr (2007), Coutinho (2009) e Castro (2009) não foi possível no presente trabalho. Acredita-se que o teste padrão apresenta maior sensibilidade na avaliação da dor e da interferência de medicações analgésicas, como as soluções neurolítica no tratamento da osteoartrite.

Como não houve diferença entre as espessuras articulares, pode-se dizer que a inflamação é somente pós-operatória, que na espécie é vista já aos três dias e, de acordo com Bove et al (2006), é consequente da cirurgia e o processo de cicatrização.

A relação entre alterações estruturais e dor ainda não é totalmente esclarecida. Por isso, estudos que avaliem as vias nociceptivas nesse modelo experimental podem auxiliar no esclarecimento dos mecanismos de dor na osteoartrite.

Em animais o mecanismo da dor e inflamação em joelhos osteoartrosicos tem sido amplamente estudado, e como citam Kelly et al. (2012) a presença de diferentes tipos de fibras estáenvolta no mecanismo da dor nesta doença. A avaliação da dor em animais necessita da utilização de escalas de avaliação, que dependem da interpretação realizada por observadores (POHL et al., 2011) e Petersen (2011) que utiliza a escala visual analógica. Tais escalas podem ser mais sensíveis na dor aguda, e como este estudo avaliou a dor em momentos tardios, possivelmente a nocicepção não tenha sido adequadamente avaliada nesses animais.

O presente estudo utilizou de escalas visuais para a avaliação da dor, também citada por Douni et al., (2003). No entanto, salienta-se que segundo

Mathews (2000), pode ser extremamente difícil avaliar o grau da dor vivenciada por animais e a habilidade destes em lidar com a mesma. Verificamos, no entanto, que outra forma de avaliação poderia ser mais adequada. Uma possibilidade seria através do uso dos filamentos de Von Frey que é capaz de determinar processos nociceptivos de origem tátil e mecânica quantitativamente, já que a deformação de suas hastes pode ser transformada em parâmetros de força com unidade em gramas, tornando a avaliação com um caráter mais direto. Este método foi considerado confiável em ratos ainda na década de 90, por Brennan et al. (1996).

O tratamento possível com uso de soluções neurolíticas torna-se interessante ao passo que terapias comumente utilizadas para alívio da dor em articulações são parcialmente efetivas. Algumas ainda apresentam efeitos colaterais importantes, limitando a sua utilização, o que é confirmado por knights et al. (2012).

Como não foi observada diferença estatística entre os grupos tratados com o cloreto de amônio a 4% e fenol a 5%, pode-se afirmar que as soluções não contribuíram para a progressão da lesão. Entretanto, também não se verificou neste com os métodos utilizados neste estudo que pode haver melhora no quadro clínico de dor. Sabe-se, no entanto que as complicações associadas ao seu uso existem e podem ser devastantes segundo Koyyalagunta (2010). A adição de glicerol ao fenol 5% diminuiu o efeito necrotizante do mesmo após a aplicação intraneural(WESTERLUND et al., 2003). Estudos controlados com maior tempo de evolução podem ser indicados para confirmar tal fato.

Em relação à avaliação termográfica sugerem-se maiores estudos nesse modelo, visto que nenhuma diferença estatística foi encontrada. Sacharuk (2009) observou aumento de temperatura em ratos que sofreram compressão do nervo ciático nos tempos de 1, 3 e 7 dias. Também Hoogmoed&Snyder (2002) utilizaram-se igualmente do modelo de avaliação termográfica para uso de solução neurolítica intra-articular em equinos, com mensurações seriadas no instante da aplicação. O mesmo observou ausência de alterações na temperatura já no segundo dia. Tais fatos sugerem que tempo de aferição em nosso estudo, que foi a partir do terceiro dia tenha sido demasiadamente tardio para detectar alterações neste método diagnóstico.

Na avaliação radiográfica, certa dificuldade também foi encontrada, visto que tal ferramenta diagnóstica é pouco documentada na confirmação da OA em ratos. Em nosso trabalho não observamos alterações radiográficas em nenhum momento.

Nagaseet al. (2012) verificou apenas alterações radiográficas aos 21 dias utilizando-se de doses altas de Iodo acetato intra-articular, ainda que, dor e outras alterações tenham sido notadas antes do início radiográfico da doença., trabalhos que avaliem a progressão radiográfica por um período maior devem ser realizados., Fernihough et al (2004) sugere também que maiores pesquisas sejam realizadas para verificar a correlação direta entre formação de osteófitos (visíveis ao raio-x) e presença de dor em portadores de osteoartrite.

A avaliação histológica confirmou a presença de osteoartrite, ainda que em graduações baixas de acordo com o método OARSI. Tal fato confirma, no entanto, a eficácia do modelo de TLCA em ratos. O que se sugerisse apenas é um período maior de evolução da doença e conseqüentemente, maior progressão dos sinais, visto que no presente trabalho, os animais foram mantidos por apenas três semanas. Corroborando estes resultados, também fazendo uso do mesmo método de avaliação histológica, Yorimitsu et al. (2008) observou diferença estatística entre grupos de 2 e 4 semanas.

Mudanças relacionadas à hidratação da matriz foram vistas em apenas um paciente, de grau 3, ( o maior no presente trabalho). Isso contribui de acordo com Bank et al (2000) para a deformação do colágeno, que é indício de lesão articulares mais avançadas.

Embora apenas dois animais apresentaram material não absorvido em região intra-articular, maiores estudos a respeito devem ser obtidos para um adequado conhecimento de suas propriedades. Foi demonstrado por Yadav et al. (2008) que compostos com amônia quaternária adicionados ao fenol, interagem com sítios aniônicos dos proteoglicanos a cartilagem, concentrando-se no tecido inflamado, e diminuindo a necessidade de sua dose efetiva, minimizando os efeitos colaterais.

O presente estudo não teve duração suficiente para o registro de alterações articulares mais exuberantes como remodelamento ósseo subcondral e formação de osteófitos, visualizado em estágios mais avançados da osteoartrite (Braunand Gold 2012). Contudo,por meio da avaliação histopatológica, foi possível observar o padrão progressivo-degenerativo característico da osteoartrite. Do total de animais avaliados, 20% apresentaram graduação II de alteração histológica, sendo que a quase totalidade de alteração nesses indivíduos foram observadas a partir do 14º dia.

Entre as limitações deste estudo inclui-se o complexo tempo de curso de evolução da doença articular degenerativa, como sugere (KNIGHTS et al.,2012). Soma-se ainda a grande variação de métodos e escalas para avaliação da dor, bem como a sua disponibilidade, especialmente as que avaliem lesões ortopédicas e claudicação em animais de laboratório.

A avaliação da analgesia não foi o objetivo do estudo, sendo o objetivo principal avaliar um possível efeito deletério causado pela aplicação intra-articular de neurolíticos a base de amônia e fenol. Segundo Monagle&Ee (2013) o fenol apresentou analgesia e retorno à função do membro durante 12 meses após aplicação em articulação coxo-femoral de paciente humana idosa portadora de osteoartrite severa. A aplicação de fenol tem sido usada empiricamente pela comunidade médica desde 1936 como um agente neurolítico, porém não havia estudo de seus efeitos na superfície articular.

## 5 CONCLUSÃO

Neste estudo, de acordo com a metodologia empregada, não foi observado interferência na evolução do grau histológico de osteoartrite em ratos, com o uso de soluções neurolíticas a base de fenol a 5% e de cloreto de amônia a 4%, fato este que poderia contra-indicar seu uso por esta via de aplicação. Entretanto, também não demonstrou melhora clínica no grau de claudicação e dor articular, sugerindo desta forma novos estudos para verificar o alívio da dor articular, quando empregadas estas soluções.

Pode-se afirmar que, a osteoartrite é uma doença de progressão lenta, dinâmica e degenerativa que pode comprometer qualquer articulação nas diferentes espécies animais. Dor, claudicação e perda da função são constantemente associadas ao quadro, variando com a gravidade do mesmo. A mesma pode afetar em média 20 % da população de cães idosos e sua patogenia é complexa, envolvendo defeitos na estrutura da cartilagem, trauma e instabilidade na articulação e, sobretudo a instalação da inflamação. O seu manejo envolve uma terapia multimodal onde se considera a terapia farmacológica ou cirúrgica, reabilitação física e alterações do manejo, o que reflete a importância desta condição nos animais de companhia.

## REFERÊNCIAS

ALANN, G.S. Sinais Radiográficos das Doenças Articulares em Cão e Gatos. In: THRALL, D.E. **Diagnóstico Em Radiologia Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, Cap. 18, p.317-358.

ALTMAN, R.; LOZADA, C.J. **Osteoarthritis and related disorders; clinical features**. In: HOCHBERG, M.C.; SILMAN, A.J.; SMOLEN, J.S.; WEINBLAT, M.E.; WEISMAN, M. H. *Rheumatology*, v.2, London, Mosby, 2003.

ALTAY, M.A.; ERTÜRK, C.; ALTAY, N. et al. Patellar denervation in total knee arthroplasty without patellar resurfacing: A prospective, randomized controlled study. **Orthopedic & Traumatology: Surgery & Research**, v.98, p.421-425, 2012.

AMIN, A.R.; DAVE, M.; ATTUR, M. et al. COX-2, NO, and cartilage damage and repair. **Current Rheumatology Reports**, v.2, p.447-453, 2000.

ARAGON, C.L.; HOFMEISTER, E.H.; BUDSBERG, S.C. Systematic review of clinical trials of treatments for osteoarthritis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.230, n.4, p. 514-521, 2007.

AULA, A.S.; TÖYRÄS, J.; TIITU, V.; JURVELIN, J.S.; Simultaneous ultrasound measurement of articular cartilage and subcondral bone. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.18, p. 1570- 1576, 2010.

ALANN, G.S. Sinais Radiográficos das Doenças Articulares em Cão e Gatos. In: THRALL, D.E. **Diagnóstico Em Radiologia Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, Cap. 18, p.317-358.

ALTAY, M.A.; ERTÜRK, C.; ALTAY, N. et al. Patellar denervation in total knee arthroplasty without patellar resurfacing: A prospective, randomized controlled study. **Orthopedic & Traumatology: Surgery & Research**, v.98, p.421-425, 2012.

ALTMAN, R.; LOZADA, C.J. **Osteoarthritis and related disorders; clinical features**. In: HOCHBERG, M.C.; SILMAN, A.J.; SMOLEN, J.S.; WEINBLAT, M.E.; WEISMAN, M. H. *Rheumatology*, v.2, London, Mosby, 2003.

AMIN, A.R.; DAVE, M.; ATTUR, M. et al. COX-2, NO, and cartilage damage and repair. **Current Rheumatology Reports**, v.2, p.447-453, 2000.

ARAGON, C.L.; HOFMEISTER, E.H.; BUDSBERG, S.C. Systematic review of clinical trials of treatments for osteoarthritis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.230, n.4, p. 514-521, 2007.

AULA, A.S.; TÖYRÄS, J.; TIITU, V.; JURVELIN, J.S.; Simultaneous ultrasound measurement of articular cartilage and subcondral bone. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.18, p. 1570- 1576, 2010.

BEKLER, H.; RIANSUWAN, K.; VROEMAN, J.C. et al. Innervation of the Elbow Joint and Surgical Perspectives of Denervation: A Cadaveric Anatomic Study. **The Journal of Hand Surgery**. v. 33A, p.740–745, 2008.

BENEDEK, T.G. A history of the understanding of cartilage. **Osteoarthritis and Cartilage**. v. 14, p.203–209, 2006.

BIASI, F.; RAHAL, S.C.; VOLPI R. dos S. et al. Utilização do sulfato de condroitina no tratamento de osteoartrite induzida experimentalmente em joelho de cães. **ARS Veterinária**, v.20, p.219-227, 2004.

BLACK, J.B. Management of Equine Joint Disease and lameness. **Compendium for Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.22, p.3-10, 2000.

BRADLEY, D.A.; MOGER, C.J.; WINLOVE, C.P. Zn deposition at the bone-cartilage interface in equine articular cartilage. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research-Section A**, v.580, p.473-476, 2007.

BRANDT, K.D.; DIEPPE, P.; RADIN, E. Etiopathogenesis of Osteoarthritis. **Medical Clinics of North America**. v.93, p.1–24, 2009.

BURNHAM, R.S.; HOLITSKI, S.; DINU, I. A prospective Outcome Study on the Effects of Facet joint Radiofrequency Denervation of Pain, Analgesic Intake, Disability, Satisfaction, Cost, and Employment. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v.90, p.201-205, 2009.

BURR, D.B.; RADIN, E.L. Microfractures and microcracks in subchondral bone: are they relevant to osteoarthrosis? **Rheumatic Disease Clinic of North America**. v. 29, p.675–685, 2003.

BANK, R.A. et al. the increased swelling and instantaneous deformation of arthritic cartilage is highly correlated with collagen degradation. **Arthritis & Rheumatism**, v.43, p. 2202-2210, 2000.

BOVE, S.E.; CALCATERRA, S.L.; BROOKER, R.M. et al. Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. **Osteoarthritis e Cartilage**, v.11, p. 821-830, 2003.

BOVE, S.E.; LAEMONT, K.D.; BROOKER, R.M. et al. Surgically induced osteoarthritis in the rat results in the development of both osteoarthritis-like joint pain and secondary Hiperalgesia. . **Osteoarthritis e Cartilage**, v.14, p. 1041-1048, 2006.  
BRENNAN, T.J. et al. Characterization of a rat model of incisional pain. **Pain**, v.64, n.3, p.493-501, 1996.

BRIOSCHI, M.L; MACEDO, J.F.; MACEDO, R.A.C. Termografia cutânea: novos conceitos. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.2, p.152-160, 2003.

arthritic cartilage is highly correlated with collagen degradation. **Arthritis & Rheumatism**, v.43, p. 2202-2210, 2000.

BEKLER, H.; RIANSUWAN, K.; VROEMAN, J.C. et al. Innervation of the Elbow Joint and Surgical Perspectives of Denervation: A Cadaveric Anatomic Study. **The Journal of Hand Surgery**. v. 33A, p.740–745, 2008.

BENEDEK, T.G. A history of the understanding of cartilage. **Osteoarthritis and Cartilage**. v. 14, p.203–209, 2006.

BIASI, F.; RAHAL, S.C.; VOLPI R. dos S. et al. Utilização do sulfato de condroitina no tratamento de osteoartrite induzida experimentalmente em joelho de cães. **ARS Veterinária**, v.20, p.219-227, 2004.

BLACK, J.B. Management of Equine Joint Disease and lameness. **Compendium for Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.22, p.3-10, 2000.

BOVE, S.E.; CALCATERRA, S.L.; BROOKER, R.M. et al. Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. **Osteoarthritis e Cartilage**, v.11, p. 821-830, 2003.

BOVE, S.E.; LAEMONT, K.D.; BROOKER, R.M. et al. Surgically induced osteoarthritis in the rat results in the development of both osteoarthritis-like joint pain and secondary Hiperalgesia. . **Osteoarthritis e Cartilage**, v.14, p. 1041-1048, 2006.

BRADLEY, D.A.; MOGER, C.J.; WINLOVE, C.P. Zn deposition at the bone-cartilage interface in equine articular cartilage. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research-Section A**, v.580, p.473-476, 2007.

BRANDT, K.D.; DIEPPE, P.; RADIN, E. Etiopathogenesis of Osteoarthritis. **Medical Clinics of North America**. v.93, p.1–24, 2009.

BRENNAN, T.J. et al. Characterization of a rat model of incisional pain. **Pain**, v.64, n.3, p.493-501, 1996.

BRIOSCHI, M.L; MACEDO, J.F.; MACEDO, R.A.C. Termografia cutânea: novos conceitos. *Jornal Vascular Brasileiro*, v.2, p.152-160, 2003.

BURNHAM, R.S.; HOLITSKI, S.; DINU, I. A prospective Outcome Study on the Effects of Facet joint Radiofrequency Denervation of Pain, Analgesic Intake, Disability, Satisfaction, Cost, and Employment. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v.90, p.201-205, 2009.

BURR, D.B.; RADIN, E.L. Microfractures and microcracks in subchondral bone: are they relevant to osteoarthrosis? **Rheumatic Disease Clinics of North America**. v. 29, p.675–685, 2003.

BANK, R.A. et al. the increased swelling and instantaneous deformation of CASTRO, R. R.; **Hiperalgesia articular no modelo de osteoartrite em ratos. Efeitos de inibidores da síntese de Óxido Nítrico e de polissacarídeos de elevado peso molecular**. 2004. Fortaleza, 167 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará.

CIALDAI, C. GIULIANI, S.; VALENTI, C. et al. Effect of Intra-articular 4-(S)-Amino-5-(4-{4-[2,4-dichloro-3-(2,4-dimethyl-8-quinolyloxymethyl)phenylsulfonamido]-tetrahydro-2H-4-pyran-2-yl} piperazin-5-oxypentyl)(trimethyl)ammonium chloride hydrochloride (MEN16132), a kinin B<sub>2</sub> Receptor Antagonist, on Nociceptive Response in Monosodium Iodoacetate-Induced Experimental Osteoarthritis in Rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.331, n.3, p.1025-1032, 2009.

COUTINHO, A.S. **Estudo da osteoartrose em joelhos de cães secundária à ruptura do ligamento cruzado cranial**. 2009. São Paulo, 84 p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

CASTRO, R. R.; **Hiperalgia articular no modelo de osteoartrite em ratos. Efeitos de inibidores da síntese de Óxido Nítrico e de polissacarídeos de elevado peso molecular**. 2004. Fortaleza, 167 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará.

CHOI, J.; GOLD, G.E. MR imaging of Articular Cartilage Physiology. **Magnetic Resonance Imaging Clinics of North America**, v.19, p.249-282, 2011.  
 CIALDAI, C.; GIULIANI, S.; VALENTI, C. et al. Effect of Intra-articular 4-(S)-Amino-5-(4-{4-[2,4-dichloro-3-(2,4-dimethyl-8-quinolyloxymethyl)phenylsulfonamido]-tetrahydro-2H-4-pyran-2-yl} piperazin-5-oxypentyl)(trimethyl)ammonium chloride hydrochloride (MEN16132), a kinin B<sub>2</sub> Receptor Antagonist, on Nociceptive Response in Monosodium Iodoacetate-Induced Experimental Osteoarthritis in Rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.331, n.3, p.1025-1032, 2009.

CIFUENTES, D.J.; ROCHA, L.G.; SILVA, L.A. et al. Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.18, p.1088-1095, 2010.

COQUEIRO, D.P.; BUENO, P.C.S.; SIMÕES, M.J. Uso da suplementação com Ácido Graxo Poli-insaturado Ômega 3 associado ao exercício físico: uma revisão. **Pensar a Prática**, v.14, n.2, p.1-15, 2011.

CASTRO, R. R.; **Hiperalgia articular no modelo de osteoartrite em ratos. Efeitos de inibidores da síntese de Óxido Nítrico e de polissacarídeos de elevado peso molecular**. 2004. Fortaleza, 167 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará.

CASTRO, R. R.; **Hiperalgia articular no modelo de osteoartrite em ratos. Efeitos de inibidores da síntese de Óxido Nítrico e de polissacarídeos de elevado peso molecular**. 2004. Fortaleza, 167 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará.

CHOI, J.; GOLD, G.E. MR imaging of Articular Cartilage Physiology. **Magnetic Resonance Imaging Clinics of North America**, v.19, p.249-282, 2011.  
 CIALDAI, C.; GIULIANI, S.; VALENTI, C. et al. Effect of Intra-articular 4-(S)-Amino-5-(4-{4-[2,4-dichloro-3-(2,4-dimethyl-8-quinolyloxymethyl)phenylsulfonamido]-tetrahydro-

2H-4-pyranilylcarbonyl} piperazino)-5-oxypentyl](trimetyl)ammonium chloride hydrochloride (MEN16132), a kinin B<sub>2</sub> Receptor Antagonist, on Nociceptive Response in Monosodium Iodoacetate-Induced Experimental Osteoarthritis in Rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.331, n.3, p.1025-1032, 2009.

CIFUENTES, D.J.; ROCHA, L.G.; SILVA, L.A. et al. Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monossodium iodoacetate. **OsteoarthritisandCartilage**, v.18, p.1088-1095, 2010.

COQUEIRO, D.P.; BUENO, P.C.S.; SIMÕES, M.J. Uso da suplementação com Ácido Graxo Poli-insaturado Ômega 3 associado ao exercício físico: uma revisão. **Pensar a Prática**, v.14, n.2, p.1-15, 2011.

COUTINHO, A.S. **Estudo da osteoartrose em joelhos de cães secundária à ruptura do ligamento cruzado cranial**. 2009. São Paulo, 84 p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

DAY, B. The indications for Arthroscopic Debridamento for Osteoarthritis of the Knee.**Orthopedic Clinics of North America**, v.36, p.413-417, 2005.

DEAN, D.D. Proteinase-mediated Cartilage Degradation in osteoarthritis.**Seminars in arthritisisandRheumatism**, v.20, n.6, p.2-11, 1991.

DOUNI, E.; SFIKAKIS, P.P.; HARALAMBOUS, S. et al. Attenuation of inflammatory polyarthritis in TNF transgenic mice by diacerein: comparative analysis with dexamethasone, methotrexate and anti-TNF protocols. **Arthritis Research Therapy**, v.6, p.65-72, 2003.

DAY, B. The indications for Arthroscopic Debridamento for Osteoarthritis of the Knee.**Orthopedic Clinics of North America**, v.36, p.413-417, 2005.

DEAN, D.D. Proteinase-mediated Cartilage Degradation in osteoarthritis.**Seminars in arthritisisandRheumatism**, v.20, n.6, p.2-11, 1991.

DOUNI, E.; SFIKAKIS, P.P.; HARALAMBOUS, S. et al. Attenuation of inflammatory polyarthritis in TNF transgenic mice by diacerein: comparative analysis with dexamethasone, methotrexate and anti-TNF protocols. **Arthritis Research Therapy**, v.6, p.65-72, 2003.

EKUNDI-VALENTIM, E. **Efeitos diferenciais do sulfeto de hidrogênio exógeno e endógeno na sinovite experimental induzida por carragenina em ratos Wistar**. 2010. 116f. Tese (Doutorado em Farmacologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

ESCODRO, P.B; NICOLETTI J.S. **Dessensibilização dos nervos palmares em equinos: Estudo comparativo experimental do álcool benzílico 0,75% (SARAPIN®) e álcool etílico absoluto (99,5%PA)**. 2004. 67p. Botucatu.Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista

EDWARDS, J.C.W. The synovia. In: HOCHBERG, M.C.; SILMAN, A.J.; SMOLEN, J.S.; WEINBLAT, M.E.; WEISMAN, M. H. **Rheumatology**, v.2, London, 2003.

ESCODRO, P.B; NICOLETTI J.S. **Dessensibilização dos nervos palmares em equinos: Estudo comparativo experimental do álcool benzílico 0,75% (SARAPIN®) e álcool etílico absoluto (99,5%PA)**. 2004. 67p. Botucatu. Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista

EDWARDS, J.C.W. The synovia. In: HOCHBERG, M.C.; SILMAN, A.J.; SMOLEN, J.S.; WEINBLAT, M.E.; WEISMAN, M. H. **Rheumatology**, v.2, London, 2003.

EKUNDI-VALENTIM, E. **Efeitos diferenciais do sulfeto de hidrogênio exógeno e endógeno na sinovite experimental induzida por carragenina em ratos Wistar**. 2010. 116f. Tese (Doutorado em Farmacologia)- Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

ESCODRO, P.B; NICOLETTI J.S. **Dessensibilização dos nervos palmares em equinos: Estudo comparativo experimental do álcool benzílico 0,75% (SARAPIN®) e álcool etílico absoluto (99,5%PA)**. 2004. 67p. Botucatu. Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista

FERNIHOUGH, J; GENTRY, C.; MALCANGIO M.; et al. Pain related behavior in two models of osteoarthritis in the rat knee. **Pain**, v.112, p.83-93, 2004.

FERRIGNO, C.R.A.; SCHMAEDECKE, A.; FERRAZ, V.C.M. Abordagem cirúrgica inédita para denervaçãoacetabular em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.2, 2007.

FUKUDA, Y.; TAKAI, S.; YOSHINO, N. et al. Impact load transmission of the knee joint-inuence of leg alignment and the role of meniscus and articular cartilage. **Clinical Biomechanics**. v. 15, p.516–521, 2000.

FUNCK-BRENTANO, T.; COHEN-SOLAL, M. Crosstalk between cartilage and bone: When bone cytokines matter. **Cytokine & Growth Factor Reviews**.v.22, p.91–97, 2011.

FERNIHOUGH, J; GENTRY, C.; MALCANGIO M.; et al. Pain related behavior in two models of osteoarthritis in the rat knee. **Pain**, v.112, p.83-93, 2004.

FERRIGNO, C.R.A.; SCHMAEDECKE, A.; FERRAZ, V.C.M. Abordagem cirúrgica inédita para denervaçãoacetabular em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.2, 2007.

FUKUDA, Y.; TAKAI, S.; YOSHINO, N. et al. Impact load transmission of the knee joint-inuence of leg alignment and the role of meniscus and articular cartilage. **Clinical Biomechanics**. v. 15, p.516–521, 2000.

FUNCK-BRENTANO, T.; COHEN-SOLAL, M. Crosstalk between cartilage and bone: When bone cytokines matter. **Cytokine & Growth Factor Reviews**.v.22, p.91–97, 2011.

GOODRICH, L.R.; NIXON, A.L.; Medical treatment of osteoarthritis in the horse: A review. *The Veterinary Journal*, 2006.

GOODWING, D.W.MRI Appearance of normal Articular Cartilage. **Magnetic Resonance Imaging- Veterinary Clinics of North America**,v.19, p.215-227, 2011.

GALOIS, L.; ETIENNE, S.; GROSSIN, L. et al. Dose Response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. **Osteoarthritis e Cartilage**, v.12, p.779-786, 2004.

GRECHENIG, W.; MÄHRING, M.; CLEMENT, H.G. Denervation of the Radiocarpal Joint- A follow-up study with 22 Patients .**The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.80, p.504-507, 1998.

GALOIS, L.; ETIENNE, S.; GROSSIN, L. et al. Dose Response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. **Osteoarthritis e Cartilage**, v.12, p.779-786, 2004.

GOODRICH, L.R.; NIXON, A.L.; Medical treatment of osteoarthritis in the horse: A review. *The Veterinary Journal*, 2006.

GOODWING, D.W.MRI Appearance of normal Articular Cartilage. **Magnetic Resonance Imaging- Veterinary Clinics of North America**,v.19, p.215-227, 2011.

GRECHENIG, W.; MÄHRING, M.; CLEMENT, H.G. Denervation of the Radiocarpal Joint- A follow-up study with 22 Patients .**The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.80, p.504-507, 1998.

HEDBOM E.; HAUSELMANN, H.J. Molecular aspects of pathogenesis in osteoarthritis: the role of inflammation. **Cellular and molecular Life Science**, v.59, p.45-53, 2002.

HOOGMOED, L.M.V.; SNYDER, J.R. Use of Infrared Thermography to detect Injections and Palmar Digital Neurectomy in Horses.**The Veterinary Journal**, v.164, p. 129-141, 2002.

HANYPSIAK, B.T.; SHAFFER, B.S. Nonoperative treatment of Unicompartmental Arthritis of the Knee.**Orthopedic Clinics of North America**, v.36, p. 401-411, 2005.

HANYPSIAK, B.T.; SHAFFER, B.S. Nonoperative treatment of Unicompartmental Arthritis of the Knee.**Orthopedic Clinics of North America**, v.36, p. 401-411, 2005.

HEDBOM E.; HAUSELMANN, H.J. Molecular aspects of pathogenesis in osteoarthritis: the role of inflammation. **Cellular and molecular Life Science**, v.59, p.45-53, 2002.

HOOGMOED, L.M.V.; SNYDER, J.R. Use of Infrared Thermography to detect Injections and Palmar Digital Neurectomy in Horses.**The Veterinary Journal**, v.164, p. 129-141, 2002.

INNES, J.F; COSTELLO, M.; BARR, J.F. et al. Radiographic Progression of Osteoarthritis of de Canine Stifle Joint: A Prospective Study. **Veterinary Radiology Ultrasound**.v. 45, p. 143 – 148, 2004.

INNES, J.F; COSTELLO, M.; BARR, J.F. et al. Radiographic Progression of Osteoarthritis of de Canine Stifle Joint: A Prospective Study. **Veterinary Radiology Ultrasound**.v. 45, p. 143 – 148, 2004.

INNES, J.F; COSTELLO, M.; BARR, J.F. et al. Radiographic Progression of Osteoarthritis of de Canine Stifle Joint: A Prospective Study. **Veterinary Radiology Ultrasound**.v. 45, p. 143 – 148, 2004.

JOHNSTON, S.A.; MCLAUGHLIN, R.M.; BUDSBERG, S.C. Nonsurgical Management of Osteoarthritis in Dogs.**Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v.38, p.1449-1470, 2008.

JOHNSTON, S.A.; MCLAUGHLIN, R.M.; BUDSBERG, S.C. Nonsurgical Management of Osteoarthritis in Dogs.**Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v.38, p.1449-1470, 2008.

KNIGHTS, C. B.; GENTRY, C.; BEVAN, S.; Parcial medial meniscectomy produces osteoarthritis pain-related behavior in female C57BL/6 mice.**Pain**, v.153 p.281-292, 2012.

KRAUS, V.B. Pathogenesis and Treatment of Osteoarthritis.**Medical Clinics of North America**.v.81, n.1, p. 85-112, 1997.

KÜÇÜKER, I.; TUNCER, S.; SENCAN, A. et al.The effect of surgical and chemical denervation on ischaemia/reperfusion injury of skeletal muscle.**Journal of Plastic: Reconstructive & Aesthetic Surgery**.v.65, p.240-248, 2012.

KELLY, S.; DUNHAM, J.P.; MURRAY, F. et al. Spontaneous firing C-fibers nad increased mechanical sensitivity in A-fibers of knee joint-associated mechanoreceptive primary afferent neurons during MIA-induced osteoarthritis in the rat.**Osteoarthritis e Cartilage**, v.20, p.305-313, 2012.

KNIGHTS, C. B.; GENTRY, C.; BEVAN, S.; Parcial medial meniscectomy produces osteoarthritis pain-related behavior in female C57BL/6 mice. **Pain**, v.153 p.281-292, 2012.

KOKABAS, H.; SALLI, A.; DEMIR A.H.; OZERBIL, O.M.; Comparison of phenol and alcohol neurolysis of tibial nerve motor branches to the gastrocnemius muscle for treatment of spastic foot after stroke: a controlled randomized pilot study. **European Journal Physical Rehabilitation**, v.46, p.5-10, 2010.

KOYYALAGUNTA, D.; BURTON, A.W.The role of chemical neurolysis in cancer pain.**Current Pain and Headache Reports**, v.14, p.261-267, 2010.

KELLY, S.; DUNHAM, J.P.; MURRAY, F. et al. Spontaneous firing C-fibers nad increased mechanical sensitivity in A-fibers of knee joint-associated

mechanoreceptive primary afferent neurons during MIA-induced osteoarthritis in the rat. **Osteoarthritis e Cartilage**, v.20, p.305-313, 2012.

KNIGHTS, C. B.; GENTRY, C.; BEVAN, S.; Partial medial meniscectomy produces osteoarthritis pain-related behavior in female C57BL/6 mice. **Pain**, v.153 p.281-292, 2012.

KOKABAS, H.; SALLI, A.; DEMIR A.H.; OZERBIL, O.M.; Comparison of phenol and alcohol neurolysis of tibial nerve motor branches to the gastrocnemius muscle for treatment of spastic foot after stroke: a controlled randomized pilot study. **European Journal Physical Rehabilitation**, v.46, p.5-10, 2010.

KOYYALAGUNTA, D.; BURTON, A.W. The role of chemical neurolysis in cancer pain. **Current Pain and Headache Reports**, v.14, p.261-267, 2010.

KELLY, S.; DUNHAM, J.P.; MURRAY, F. et al. Spontaneous firing C-fibers and increased mechanical sensitivity in A-fibers of knee joint-associated mechanoreceptive primary afferent neurons during MIA-induced osteoarthritis in the rat. **Osteoarthritis e Cartilage**, v.20, p.305-313, 2012.

KNIGHTS, C. B.; GENTRY, C.; BEVAN, S.; Partial medial meniscectomy produces osteoarthritis pain-related behavior in female C57BL/6 mice. **Pain**, v.153 p.281-292, 2012.

KOKABAS, H.; SALLI, A.; DEMIR A.H.; OZERBIL, O.M.; Comparison of phenol and alcohol neurolysis of tibial nerve motor branches to the gastrocnemius muscle for treatment of spastic foot after stroke: a controlled randomized pilot study. **European Journal Physical Rehabilitation**, v.46, p.5-10, 2010.

KOYYALAGUNTA, D.; BURTON, A.W. The role of chemical neurolysis in cancer pain. **Current Pain and Headache Reports**, v.14, p.261-267, 2010.

KRAUS, V.B. Pathogenesis and Treatment of Osteoarthritis. **Medical Clinics of North America**. v.81, n.1, p. 85-112, 1997.

KÜÇÜKER, I.; TUNCER, S.; SENCAN, A. et al. The effect of surgical and chemical denervation on ischaemia/reperfusion injury of skeletal muscle. **Journal of Plastic: Reconstructive & Aesthetic Surgery**. v.65, p.240-248, 2012.

LASHERAS, F.; GAHUNIA, H.K.; PRITZKER, K.P.H. Articular Cartilage Development: A Molecular Perspective. **Orthopaedic Clinics of North America**. v. 43, p.155–171, 2012.

LOESER, R.F. Aging and Etiopathogenesis and Treatment of Osteoarthritis. **Geriatric Rheumatologic**, v.26, n.3, p. 547-567, 2000.

LOPEZ, M.J.; DAIGLE, P.R. Adult Multipotent Stromal Cell Technology for Bone Regeneration: A Review. **Veterinary Surgery**, v.42, p.1-11, 2013.

LASHERAS, F.; GAHUNIA, H.K.; PRITZKER, K.P.H. Articular Cartilage Development: A Molecular Perspective. **Orthopaedic Clinics of North America**. v. 43, p.155–171, 2012.

LOESER, R.F. Aging and de Etiopathogenesis and Treatment of Osteoarthritis. **Geriatric Rheumatologic**, v.26, n.3, p. 547-567, 2000.

LOPEZ, M.J.; DAIGLE, P.R. Adult Multipotent Stromal Cell Technology for Bone Regeneration: A Review. **Veterinary Surgery**, v.42, p.1-11, 2013.

MALLININ, T.; OUELLETTE, E.A. Articular cartilage nutrition is mediated by subcondral bone: a long term auto-graft study in baboons. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.8, p.483-491, 2000.

MALONE, E.D. Managing chronic arthritis. **The Veterinary Clinics: Equine Practice**, v.12, p.418-437, 2002.

MULDER, J.D. Denervation of the hip Joint in Osteoarthritis. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 30, p. 446-448, 1948.

MATHEWS, K.A. Pain assessment and general approach to management. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.30, p.729-755, 2000.

MULDER, J.D. Denervation of the hip joint in osteoarthritis. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.30, p.446-448, 1948.

MALLININ, T.; OUELLETTE, E.A. Articular cartilage nutrition is mediated by subcondral bone: a long term auto-graft study in baboons. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.8, p.483-491, 2000.

MALONE, E.D. Managing chronic arthritis. **The Veterinary Clinics: Equine Practice**, v.12, p.418-437, 2002.

MATHEWS, K.A. Pain assessment and general approach to management. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.30, p.729-755, 2000.

MONAGLE, J.; EE, J. Treatment of chronic hip osteoarthritic pain with intra-articular phenol: Case Report. **Indian Journal of Pain**, v.27, p.41-43, 2013.

MULDER, J.D. Denervation of the hip Joint in Osteoarthritis. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 30, p. 446-448, 1948.

NAGASE, H.; NAGASAWA, Y.; TACHIDA, Y. et al. Deionidase 2 up regulation demonstrated in osteoarthritis patients cartilage causes cartilage destruction in tissue-specific transgenic rats. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.21, p.514-523, 2013.

NAGASE, H, KUMAKURA, S.; SHIMADA, K. Establishment of a novel objective and quantitative method to assess pain-related behavior in monosodium iodoacetate-

induced osteoarthritis in rat knee. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v.65, p.29-36, 2012.

NAGASE, H.; NAGASAWA, Y.; TACHIDA, Y. et al. Deionidase 2 up regulation demonstrated in osteoarthritis patients cartilage causes cartilage destruction in tissue-specific transgenic rats. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.21, p.514-523, 2013.

OBLETZ, B.E.; LOCKIE, M.; YMAN, I. Early effects of partial sensory denervation of the hip for relief of pain in chronic arthritis. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 31, p.805-814, 1949.

O'CONNOR, B.L.; VISCO, D.M.; BRANDT, K.D. et al. Neurogenic acceleration of osteoarthrosis. The effects of previous neurectomy of the articular nerves on the development of osteoarthrosis after transection of the anterior cruciate ligament in dogs. **The Journal of Bone and Joint Surgery**. V. 74, p.367-376, 1992.

OBLETZ, B.E.; LOCKIE, M.; YMAN, I. Early effects of partial sensory denervation of the hip for relief of pain in chronic arthritis. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 31, p.805-814, 1949.

O'CONNOR, B.L.; VISCO, D.M.; BRANDT, K.D. et al. Neurogenic acceleration of osteoarthrosis. The effects of previous neurectomy of the articular nerves on the development of osteoarthrosis after transection of the anterior cruciate ligament in dogs. **The Journal of Bone and Joint Surgery**. V. 74, p.367-376, 1992.

PEREIRA, S.B.; REIS, N.S. Alterações histológicas das cartilagens articulares de ratos albinos, submetidos a processos de envelhecimento natural e artificial, induzido por corticoides. **Revista Científica da Universidade de Franca**, v.5, n.1/6, p.207-214, 2005.

PETERSEN, S.G.; BEYER, N.; HANSEN, M. et al., Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug or Glucosamine Reduced Pain and improved Muscle Strength With Resistance Training in a randomized controlled Trial of Knee osteoarthritis Patients. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v.92, p.1185-1193, 2011.

POLLMEIER, M.; TOULEMONDE, C.; FLEISHMAN, C. et al. Clinical evaluation of firocoxib and carprofen for the treatment of dogs with osteoarthritis. **Veterinary Record**, v.159, p. 547-551, 2006.

PETERSEN, S.G.; BEYER, N.; HANSEN, M. et al., Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug or Glucosamine Reduced Pain and improved Muscle Strength With Resistance Training in a randomized controlled Trial of Knee osteoarthritis Patients. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v.92, p.1185-1193, 2011.

POHL, V.H.; CARREGARO, A.D.; LOPES, C. Correlação entre as escalas visual analógica, de Melbourne e filamentos de Von frey na avaliação da dor pós-operatória em cadelas submetidas à ovariossalpingohisterectomia. **Ciência Rural**, v.41, n.1, p.154-159, 2011.

PRITZKER, K.P.H.; GAY, S.; JIMENEZ, S.A. et al. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. **OsteoarthritisandCartilage**, v.14, p.13-29, 2006.

PEREIRA, S.B.; REIS, N.S. Alterações histológicas das cartilagens articulares de ratos albinos, submetidos a processos de envelhecimento natural e artificial, induzido por corticoides. **Revistacientífica da Universidade de Franca**, v.5, n.1/6, p.207-214, 2005.

PETERSEN, S.G.; BEYER, N.; HANSEN, M. et al., Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug or Glucosamine Reduced Pain and improved Muscle Strenght With Resistance Training in a randomized controlled Trial of Knee osteoarthritis Patients. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v.92, p.1185-1193, 2011.

POHL, V.H.; CARREGARO, A.D.; LOPES, C. Correlação entre as escalas visual analógica, de Melbourne e filamentos de Von frey na avaliação da dor pós-operatória em cadelas submetidas à ovariosalpingohisterectomia. **Ciência Rural**, v.41, n.1, p.154-159, 2011.

POLLMEIER, M.; TOULEMONDE, C.; FLEISHMAN, C. et al. Clinical evaluation of firocoxib and carprofen for the treatment of dogs with osteoarthritis. **Veterinary Record**, v.159, p. 547-551, 2006.

PRITZKER, K.P.H.; GAY, S.; JIMENEZ, S.A. et al. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. **OsteoarthritisandCartilage**, v.14, p.13-29, 2006.

RENNBERG, C.; WALTER .Pathophysiology and Management of Arthritis. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**. v. 35, p.1073–1091, 2005.

RÚBIO-TERRÉS, C. An economic evaluation of chondroitin sulfate and non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of osteoarthritis. Data from the VECTRA Study. **ReumatologíaClínica**, v.6, n.4, p. 187-195, 2010.

RENNBERG, C.; WALTER .Pathophysiology and Management of Arthritis. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**. v. 35, p.1073–1091, 2005.

RÚBIO-TERRÉS, C. An economic evaluation of chondroitin sulfate and non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of osteoarthritis. Data from the VECTRA Study. **ReumatologíaClínica**, v.6, n.4, p. 187-195, 2010.

SARZI-PUTTINI, P.; CIMMINO, M.A.; SCARPPA, R. et al. Osteoarthritis: An Overview of the Disease and Its Treatment Strategies. **Seminars in ArthritisandRheumatism**, v.35, p. 1-10, 2005.

SCHMAEDECKE, A. **Estudo quantitativo das fibras nervosas do periósteo acetabular em cães**. 2004. São Paulo, 103p. Dissertação (Mestrado)- Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

SCOPP, J.M.; MANDELBAUM, B.R. A treatment Algorithm for the Management of Articular Cartilage Defects. **Orthopedic Clinics of North America**, v.36, p.419-426, 2005.

SGAGLIONE, N.A. Biologic Approaches to Articular Cartilage Surgery: Future Trends. **Orthopedic Clinics of North America**, v.36, p.485-495, 2005.

SHEN, C.; SMITH, B.J.; LO, D. et al. Dietary Polyphenols and mechanisms of osteoarthritis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.23, p. 1367-1377, 2012.

SILVA-JÚNIOR, F.S. **Osteoartrite experimental em ratos: efeito do sulfato de glicosamina e sulfato de condroitina sobre a incapacitação articular e a lesão da cartilagem**. 2007. São Paulo. 93p. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

SKARE, T.L. Noções básicas de Anatomia e Fisiologia articular.

In: \_\_\_\_\_. **Reumatologia: princípios e Prática**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2007. P.24-27.

SILVA-JÚNIOR, F.S. **Osteoartrite experimental em ratos: efeito do sulfato de glicosamina e sulfato de condroitina sobre a incapacitação articular e a lesão da cartilagem**. 2007. São Paulo. 93p. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

SILVA, A. C. **Estudo da osteoartrose em cães secundária à ruptura do ligamento cruzado cranial**. 2007, São Paulo, 105f. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

SACHARUK, V.Z. **Avaliação Termográfica e recuperação funcional da locomoção após esmagamento do nervo ciático em ratos adultos**. 2009. 72p. Porto Alegre. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Neurociências. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SAXLER, G.; LÖER, F.; SKUMAVC, M. et al. Localization of SP- and CGRP-immunopositive nerve fibers in the hip joint of patients with painful osteoarthritis and of patients with painless failed total hip arthroplasties. **European Journal of Pain**, v.11, p.67-74, 2007.

SCHMAEDECKE, A. **Estudo quantitativo das fibras nervosas do periósteo acetabular em cães**. 2004. São Paulo, 103p. Dissertação (Mestrado)- Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

SILVA, A. C. **Estudo da osteoartrose em cães secundária à ruptura do ligamento cruzado cranial**. 2007, São Paulo, 105f. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

SILVA-JÚNIOR, F.S. **Osteoartrite experimental em ratos: efeito do sulfato de glicosamina e sulfato de condroitina sobre a incapacitação articular e a lesão da cartilagem**. 2007. São Paulo. 93p. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

SÜMBERA, R.; ZELOVÁ, J.; KUNC, P.; et al. Patterns of surface temperature in two mole-rats (Bathyergidae) with different social systems as revealed by IR-Thermography. **Physiology and Behavior**, v.92 p.526-532, 2007.

SACHARUK, V.Z. **Avaliação Termográfica e recuperação funcional da locomoção após esmagamento do nervo ciático em ratos adultos**. 2009.72p. Porto Alegre. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Neurociências. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SARZI-PUTTINI, P.; CIMMINO, M.A.; SCARPPA, R. et al. Osteoarthritis: An Overview of the Disease and Its Treatment Strategies. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v.35, p. 1-10, 2005.

SCHMAEDECKE, A. **Estudo quantitativo das fibras nervosas do periósteo acetabular em cães**. 2004. São Paulo, 103p. Dissertação (Mestrado)- Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

SAXLER, G.; LÖER, F.; SKUMAVC, M. et al. Localization of SP- and CGRP-immunopositive nerve fibers in the hip joint of patients with painful osteoarthritis and of patients with painless failed total hip arthroplasties. **European Journal of Pain**, v.11, p.67-74, 2007.

SCOPP, J.M.; MANDELBAUM, B.R. A treatment Algorithm for the Management of Articular Cartilage Defects. **Orthopedic Clinics of North America**, v.36, p.419-426, 2005.

SGAGLIONE, N.A. Biologic Approaches to Articular Cartilage Surgery: Future Trends. **Orthopedic Clinics of North America**, v.36, p.485-495, 2005.

SHEN, C.; SMITH, B.J.; LO, D. et al. Dietary Polyphenols and mechanisms of osteoarthritis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.23, p. 1367-1377, 2012.  
SILVA-JÚNIOR, F.S. **Osteoartrite experimental em ratos: efeito do sulfato de glicosamina e sulfato de condroitina sobre a incapacitação articular e a lesão da cartilagem**. 2007. São Paulo. 93p. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

SILVA, A. C. **Estudo da osteoartrose em cães secundária à ruptura do ligamento cruzado cranial**. 2007, São Paulo, 105f. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

SKARE, T.L. Noções básicas de Anatomia e Fisiologia articular.

In: \_\_\_\_\_. **Reumatologia: princípios e Prática**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2007. P.24-27.

SÜMBERA, R.; ZELOVÁ, J.; KUNC, P.; et al. Patterns of surface temperature in two mole-rats (Bathyergidae) with different social systems as revealed by IR-Thermography. **Physiology and Behavior**, v.92 p.526-532, 2007.

TAN, J.H; NG, E.; ACHARYA, U.R.; et al. Infrared thermography on ocular surface temperature: a review. **Infrared Physics & Technology**, v 52: 97-108, 2009.

- TANGER, .H. Physical therapy in small animal patients; Basic principles. **Compendium for Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.6, p.933-938, 1984.
- TIRGARI, M.; VAUGHAN, L.L. Arthritis of de Canine Stifle Joint. **Veterinary Records**, v. 96, p.394-495, 1975.
- TODHUNTER, R.J.; JOHNSTON, S.A. Osteoartrite. In: SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**.3. ed. Manole, 2007, Cap 154, p.2208-2245.
- TAN, J.H; NG, E.; ACHARYA, U.R.; et al. Infrared thermography on ocular surface temperature: a review. **Infrared Physics & Technology**, v 52: 97-108, 2009.
- TANGER, .H. Physical therapy in small animal patients; Basic principles. **Compendium for Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.6, p.933-938, 1984.
- TIRGARI, M.; VAUGHAN, L.L. Arthritis of de Canine Stifle Joint. **Veterinary Records**, v. 96, p.394-495, 1975.
- TODHUNTER, R.J.; JOHNSTON, S.A. Osteoartrite. In: SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**.3. ed. Manole, 2007, Cap 154, p.2208-2245.
- VANGSNESS-JR, C.T. Radiofrequency Use on Articular Cartilage Lesions. **Orthopedic Clinics of North America**, v.36, p. 427-431, 2005.
- VILIM, V.; OLEJAROVA, M.; MACHACEK, S. et al. Cerum Levels of Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) Correlate with Radiographic Progression of Knee Osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.10, p.707-713, 2002.
- VANGSNESS-JR, C.T. Radiofrequency Use on Articular Cartilage Lesions. **Orthopedic Clinics of North America**, v.36, p. 427-431, 2005.
- VILIM, V.; OLEJAROVA, M.; MACHACEK, S. et al. Cerum Levels of Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) Correlate with Radiographic Progression of Knee Osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.10, p.707-713, 2002.
- WANG, S.; DUAN, C.; ZHANG, F. et al. regulatory gene networks and signaling pathways from primary osteoarthritis and Kashing-beck disease, an endemic osteoarthritis, identified by three analysis software. **Gene**, v.512, p.89-96, 2013.
- WESTERLUND, T.; VUORINEN, V.; RÖYTTÄ, M. The effect of combined neurolytic blocking agent 5% phenol-glycerol in rat sciatic nerve. **Acta Neuropathologica**, v.3, p.261-270, 2003.
- WANG, S.; DUAN, C.; ZHANG, F. et al. regulatory gene networks and signaling pathways from primary osteoarthritis and Kashing-beck disease, an endemic osteoarthritis, identified by three analysis software. **Gene**, v.512, p.89-96, 2013.

WESTERLUND, T.; VUORINEN, V.; RÖYTTÄ, M. The effect of combined neurolytic blocking agent 5% phenol-glycerol in rat sciatic nerve. **Acta Neuropathologica**, v.3, p.261-270, 2003.

YADAV, M.R.; PAWAR, V.P.; MARVANIYA, S.M. et al. Site specifically chemical delivery of NSAIDs to inflamed joints: synthesis, biological activity and  $\gamma$ -imaging studies of quaternary ammonium salts of tropinol esters of some NSAIDs or their active metabolites. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.16, p. 9443-9449, 2008.

YORIMITSU, M.; NISHIDA, K.; SHIMIZO, A. et al. Intrarticular injection of interleukin-4 decreases nitric oxide production by chondrocytes and ameliorates subsequent destruction of cartilage in instability-induced osteoarthritis in rat knee joints. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.16, p.764-771, 2008.

YADAV, M.R.; PAWAR, V.P.; MARVANIYA, S.M. et al. Site specifically chemical delivery of NSAIDs to inflamed joints: synthesis, biological activity and  $\gamma$ -imaging studies of quaternary ammonium salts of tropinol esters of some NSAIDs or their active metabolites. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.16, p. 9443-9449, 2008.

YORIMITSU, M.; NISHIDA, K.; SHIMIZO, A. et al. Intrarticular injection of interleukin-4 decreases nitric oxide production by chondrocytes and ameliorates subsequent destruction of cartilage in instability-induced osteoarthritis in rat knee joints. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.16, p.764-771, 2008.

ZAMPROGNO, H.; HASH, J.; HULSE, D.A. et al. Elbow denervation in dogs: Development of an in vivo surgical procedure and pilot testing. **The Veterinary Journal**, v.190. p.220-224, 2011.

ZYWIEL, M.G.; McGRATH, M.S.; SEYLER, T.M. Osteonecrosis of the Knee: A Review of three Disorders. **Orthopedic Clinics of North America**, v.40, p.193-211, 2009.

ZAMPROGNO, H.; HASH, J.; HULSE, D.A. et al. Elbow denervation in dogs: Development of an in vivo surgical procedure and pilot testing. **The Veterinary Journal**, v.190. p.220-224, 2011.

ZYWIEL, M.G.; McGRATH, M.S.; SEYLER, T.M. Osteonecrosis of the Knee: A Review of three Disorders. **Orthopedic Clinics of North America**, v.40, p.193-211, 2009.

## ANEXO 1 – NORMAS ARCHIVES OF VETERINARY SCIENCE

Diretrizes para Autores

### INSTRUÇÃO AOS AUTORES

O periódico **ARCHIVES OF VETERINARY SCIENCE** (AVS) é publicado trimestralmente, sob orientação do seu Corpo Editorial, com a finalidade de divulgar artigos completos e de revisão relacionados à ciência animal sobre os temas: clínica, cirurgia e patologia veterinária; sanidade animal e medicina veterinária preventiva; nutrição e alimentação animal; sistemas de produção animal e meio ambiente; reprodução e melhoramento genético animal; tecnologia de alimentos; economia e sociologia rural e métodos de investigação científica. A publicação dos artigos científicos dependerá da observância das normas editoriais e dos pareceres dos consultores “ad hoc”. Todos os pareceres têm caráter sigiloso e imparcial, e os conceitos e/ou patentes emitidos nos artigos, são de inteira responsabilidade dos autores, eximindo-se o periódico de quaisquer danos autorais. A submissão de artigos deve ser feita diretamente na página da revista ([www.ser.ufpr.br/veterinary](http://www.ser.ufpr.br/veterinary)). Mais informações são fornecidas na seção “Informações sobre a revista”.

### APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS

**\*Para agilizar a tramitação e publicação de seu artigo, recomendamos fortemente que as normas sejam obedecidas, inclusive para as referências\***

**1. Digitação:** O artigo com no máximo vinte e cinco páginas deverão ser digitado em folha com tamanho A4 210 x 297 mm, com margens laterais direita, esquerda, superior e inferior de 2,5 cm. As páginas deverão ser numeradas de forma progressiva no canto superior direito. Deverá ser utilizado fonte arial 12 em espaço duplo; em uma coluna. Tabelas e Figuras com legendas serão inseridas diretamente no texto e não em folhas separadas.

**2. Identificação dos autores e instituições (máximo 6 autores por artigo):** Todos os dados referentes a autores devem ser inseridos exclusivamente nos metadados no momento da submissão online. Não deve haver nenhuma identificação dos autores no corpo do artigo enviado para a revista. Os autores devem inclusive

remover a identificação de autoria do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista.

**3. Tabelas:** Devem ser numeradas em algarismo arábico seguido de hífen. O título será inserido na parte superior da tabela em caixa baixa (espaço simples) com ponto final. O recuo da segunda linha deverá ocorrer sob a primeira letra do título. (Ex.: Tabela 1 – Título.). As abreviações devem ser descritas em notas no rodapé da tabela. Estas serão referenciadas por números sobrescritos (1,2,3). Quando couber, os cabeçalhos das colunas deverão possuir as unidades de medida. Tanto o título quanto as notas de rodapé devem fazer parte da tabela, inseridos em "linhas de tabela".

**4. Figuras: Devem ser** numeradas em algarismo arábico seguido de hífen. O título será inserido na parte inferior da figura em caixa baixa (espaço simples) com ponto final. O recuo da segunda linha deverá ocorrer sob a primeira letra do título (Ex.: Figura 1 – Título). As designações das variáveis X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses. São admitidas apenas figuras em preto-e-branco.

**Figuras coloridas terão as despesas de clicheria e impressão a cores pagas pelo autor.** Nesse caso deverá ser solicitada ao Editor (via ofício) a impressão a cores.

## **NORMAS EDITORIAIS**

**Artigo completo** - Deverá ser inédito, escrito em idioma português (nomenclatura oficial) ou em inglês. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão; Conclusão; Agradecimento(s) (quando houver); Nota informando aprovação por Comitê de Ética (quando houver); Referências.

**Artigo de Revisão** - Os artigos de revisão deverão ser digitados seguindo a mesma norma do artigo científico e conter os seguintes tópicos: Título (português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Agradecimento(s) (quando houver); Referências. **A publicação de artigos de revisão fica condicionada à relevância do tema, mérito científico dos autores e disponibilidade da Revista para publicação de artigos de Revisão.**

## **ESTRUTURA DO ARTIGO**

**TÍTULO** - em português, centralizado na página, e com letras maiúsculas. Logo abaixo, título em inglês, entre parêntesis e centralizado na página, com letras minúsculas e itálicas. Não deve ser precedido do termo título.

**RESUMO** - no máximo 1800 caracteres incluindo os espaços, em língua portuguesa. As informações devem ser precisas e sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço duplo. Deve ser precedido do termo “Resumo” em caixa alta e negrito.

**PALAVRAS-CHAVE** – inseridas abaixo do resumo. Máximo de cinco palavras em letras minúsculas, separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética, retiradas exclusivamente do artigo, não devem fazer parte do título, e alinhado a esquerda. Não deve conter ponto final. Deve ser precedido do termo “Palavras-chave” em caixa baixa e negrito.

**ABSTRACT** - deve ser redigido em inglês, refletindo fielmente o resumo e com no máximo 1800 caracteres. O texto deve ser justificado e digitado em espaço **duplo**, em parágrafo único. Deve ser precedido do termo “Abstract” em caixa alta e negrito.

**KEY WORDS** - inseridas abaixo do abstract. Máximo de cinco palavras em letras minúsculas, separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética, retiradas exclusivamente do artigo, não devem fazer parte do título em inglês, e alinhado a esquerda. Não precisam ser traduções exatas das palavras-chave e não deve conter ponto final. Deve ser precedido do termo “Key words” em caixa baixa e negrito.

**INTRODUÇÃO** – abrange também uma breve revisão de literatura e, ao final, os objetivos. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Introdução” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

**MATERIAL E MÉTODOS** -o autor deverá ser preciso na descrição de novas metodologias e adaptações realizadas nas metodologias já consagradas na experimentação animal. Fornecer referência específica original para todos os procedimentos utilizados. Não usar nomes comerciais de produtos. O texto deverá iniciar sob a primeira letra do termo “Material e Métodos” (escrito em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

**RESULTADOS (O item Resultados e o item Discussão podem ser apresentados juntos, na forma RESULTADOS e DISCUSSÃO, ou em itens separados)**

o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Resultados” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda. Símbolos e unidades devem ser listados conforme os exemplos: Usar **36%**, e não 36 % (não usar espaço entre o no e %); Usar **88 kg**, e não 88Kg (com espaço entre o no e kg, que deve vir em minúsculo); Usar **42 mL**, e não 42 ml (litro deve vir em L **maiúsculo**, conforme padronização internacional); Usar **25oC**, e não 25 oC (sem espaço entre o no e oC ); Usar (**P<0,05**) e não (p < 0,05); Usar **r<sup>2</sup> = 0,89** e não r<sup>2</sup>=0,89; Nas tabelas inserir o valor da probabilidade como “valor de P”; Nas tabelas e texto utilizar média ± desvio padrão (15,0 ± 0,5). Devem ser evitadas abreviações não-consagradas, como por exemplo: “o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6”. Este tipo de redação é muito cômodo para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor. Escreva os resultados e apresente suporte com dados. Não seja redundante incluindo os mesmos dados ou resultados em tabelas ou figuras.

**DISCUSSÃO** - o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Discussão” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda. Apresente a sua interpretação dos seus dados. Mostre a relação entre fatos ou generalizações reveladas pelos seus resultados. Aponte exceções ou aspectos ainda não resolvidos. Mostre como os seus resultados ou interpretações concordam com trabalhos previamente publicados ou discordam deles, mas apresente apenas trabalhos originais, evitando citações de terceiros. Discuta os aspectos teóricos e/ou práticos do seu trabalho. Pequenas especulações podem ser interessantes, porém devem manter relação factual com os seus resultados. Afirmações tais como: "Atualmente nós estamos tentando resolver este problema..." não são aceitas. Referências a "dados não publicados" não são aceitas. Conclua sua discussão com uma curta afirmação sobre a significância dos seus resultados.

**CONCLUSÕES** - preferencialmente redigir a conclusão em parágrafo único, baseada nos objetivos. Devem se apresentar de forma clara e sem abreviações. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Conclusão” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

**AGRADECIMENTOS** - os agradecimentos pelo apoio à pesquisa serão incluídos nesta seção. Seja breve nos seus agradecimentos. Não deve haver agradecimento a autores do trabalho. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Agradecimento” (escrita em caixa baixa).

**NOTAS INFORMATIVAS** - quando for o caso, antes das referências, deverá ser incluído parágrafo com informações e número de protocolo de aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética e ou Biossegurança. (quando a Comissão de Ética pertencer à própria instituição onde a pesquisa foi realizada, deverá constar apenas o número do protocolo).

**REFERÊNCIAS** - o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Referências” (escrita em caixa alta e negrito). Omitir a palavra bibliográficas. Alinhada somente à esquerda. Usar como base as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (NBR 10520 (NB 896) - 08/2002). Devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es). Os destaques deverão ser em NEGRITO e os nomes científicos, em ITÁLICO. NÃO ABREVIAR O TÍTULO DOS PERIÓDICOS. Indica-se o(s) autor(es) com entrada pelo último sobrenome seguido do(s) prenome(s) abreviado (s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes. Mencionam-se os autores separados por ponto e vírgula. Digitá-las em espaço simples e formatá-las segundo as seguintes instruções: no menu FORMATAR, escolha a opção PARÁGRAFO... ESPAÇAMENTO... ANTES... 6 pts. **Exemplo de como referenciar:**

#### **ARTIGOS DE PERIÓDICOS:**

**(citar os 3 primeiros autores seguido de "et al.")**

JOCHLE, W.; LAMOND, D.R.; ANDERSEN, A.C. et al. Mestranol as an abortifacient in the bitch. *Theriogenology*, v.4, n.1, p.1-9, 1975.

**Livros e capítulos de livro.** Os elementos essenciais são: autor(es), título e subtítulo (se houver), seguidos da expressão "In:", e da referência completa como um todo. No final da referência, deve-se informar a paginação. Quando a editora não é identificada, deve-se indicar a expressão *sinenome*, abreviada, entre colchetes [s.n.]. Quando o editor e local não puderem ser indicados na publicação, utilizam-se ambas as expressões, abreviadas, e entre colchetes [S.l.: s.n.].

**REFERÊNCIA DE LIVROS (*in totum*):**

BICHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Small animal practice**. Philadelphia : W.B. Saunders, 1997. 1467 p.

**REFERÊNCIA DE PARTES DE LIVROS:** (Capítulo com autoria)

SMITH, M. Anestrus, pseudopregnancy and cystic follicles. In: MORROW, D.A. **Current Therapy in Theriogenology**. 2.ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1986, Cap.x, p.585-586.

**REFERÊNCIA DE PARTES DE LIVROS:** (Capítulo sem autoria)

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In \_\_\_\_\_. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4., p.72-90.

**OBRAS DE RESPONSABILIDADE DE UMA ENTIDADE COLETIVA:** A entidade é tida como autora e deve ser escrita por extenso, acompanhada por sua respectiva abreviatura. No texto, é citada somente a abreviatura correspondente. Quando a editora é a mesma instituição responsável pela autoria e já tiver sido mencionada, não é indicada.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p.

**REFERÊNCIA DE TESE/DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA:**

BACILA, M. **Contribuição ao estudo do metabolismo glicídico em eritrócitos de animais domésticos**. 1989. Curitiba, 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.

**REFERÊNCIA DE PUBLICAÇÕES EM CONGRESSOS:**

KOZICKI, L.E.; SHIBATA, F.K. Perfil de progesterona em vacas leiteiras no período do puerpério, determinado pelo radioimunoensaio (RIA). In: CONGRESSO

BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, XXIV., 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Goiana de Veterinária, 1996, p. 106-107.

RESTLE, J.; SOUZA, E.V.T.; NUCCI, E.P.D. et al. Performance of cattle and buffalo fed with different sources of roughage. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos, 1994. p.301-303.

**REFERÊNCIA DE ARTIGOS DE PERIÓDICOS ELETRÔNICOS:** Quando se tratar de obras consultadas *on-line*, são essenciais as informações sobre o endereço eletrônico, apresentado entre os sinais <>, precedido da expressão “Disponível em: xx/xx/xxxx” e a data de acesso do documento, precedida da expressão “Acesso em: xx/xx/xxxx.”

PRADA, F.; MENDONÇA Jr., C. X.; CARCIOFI, A. C. [1998]. Concentração de cobre e molibdênio em algumas plantas forrageiras do Estado do Mato Grosso do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, n.6, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/> Acesso em: 05/09/2000.

MÜELLER, Suzana Pinheiro Machado. A comunicação científica e o movimento de acesso livre ao conhecimento. *Ciência da Informação*, Brasília, v. 35, n. 2, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-19652006000200004&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-19652006000200004&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 13/05/2007.

REBOLLAR, P.G.; BLAS, C. [2002]. **Digestión de la soja integral em ruminantes**. Disponível em: [http://www.ussoymeal.org/ruminant\\_s.pdf](http://www.ussoymeal.org/ruminant_s.pdf). Acesso em: 12/10/2002.

SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. [1996]. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URPE, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônico...** Recife: Universidade Federal do Pernambuco, 1996. Disponível em: <http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>> Acesso em: 21/01/1997.

**CITAÇÃO DE TRABALHOS PUBLICADOS EM CD ROM:** Na citação de material bibliográfico publicado em CD ROM, o autor deve proceder como o exemplo abaixo:

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA

DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Gmosis, 1999, 17par. CD-ROM. Forragicultura. Avaliação com animais. FOR-020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE INFORMAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **Bases de dados em Ciência e Tecnologia.** Brasília, n. 1, 1996. CD-ROM.

**E.mail**Autor, < e-mail do autor. “Assunto”, Data de postagem, e-mail pessoal, (data da leitura)

**Web Site** Autor [se conhecido], “Título” (título principal, se aplicável), última data da revisão [se conhecida], < URL (data que foi acessado)

**FTP**Autor [se conhecido] “Título do documento” (Data da publicação) [se disponível], Endereço FTP (data que foi acessado)

**CITAÇÕES NO TEXTO:** As citações no texto deverão ser feitas em caixa baixa. Quando se tratar de dois autores, ambos devem ser citados, seguido apenas do ano da publicação; três ou mais autores, citar o sobrenome do primeiro autor seguido de et al. obedecendo aos exemplos abaixo:

Silva e Oliveira (1999)

Schmidt et al. (1999)

(Silva et al., 2000)

Archives of Veterinary Science

Setor de Ciências Agrárias

Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Rua dos Funcionários, 1540 80035-050 - Curitiba - Paraná – Brasil

Itens de Verificação para Submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

## Política de Privacidade

Os nomes e endereços de e-mail neste site serão usados exclusivamente para os propósitos da revista, não estando disponíveis para outros fins.

## ANEXO 2 – SISTEMA OARSI PARA AVALIAÇÃO DA CARTILAGEM OA – GRAU

**Grau(característica Principal)**  
**Subgrau Critérios associados**  
**(reação tecidual)**

### **Grau 0**

Superfície e morfologia intactas

Matriz: arquitetura normal

Células: intactas, orientação apropriada

### **Grau 1**

Superfície intacta

1,0: células intactas

1,5: necrose

Matriz: zona superficial intacta, edema e/ou fibrilação

Células: hipertrofia, proliferação (*clusters*), perda de polarização.

Mais que fibrilação superficial somente.

### **Grau 2**

Descontinuidade superficial

2,0: fibrilação através da zona superficial

2,5: abrasão com perda superficial de matriz

Como acima

+ descontinuação da zona superficial

± depleção de cloração catiônica (Safranina O ou azul de toluidina) até a zona média

± desorientação dos condrócitos

### **Grau 3**

Fissuras verticais

3,0: fissuras simples

3,5: fissuras angulares ou complexas

Como acima

± depleção de cloração catiônica (Safranina O ou azul de toluidina) até a zona profunda

± neoformação de colágeno (microscopia de luz polarizada, coloração

PicroSiriusRed)

Células: necrose, proliferação (*clusters*), especialmente próximo às fissuras

### **Grau 4**

Erosão

4,0: delaminação da zona superficial

4,5: escavação na zona média

Formação cística na matriz da cartilagem

### **Grau 5**

Denudação

5,0: superfície óssea intacta

5,5: presença de fibrocartilagem de reparo

Superfície óssea esclerótica. Microfratura com reparo limitado à superfície óssea.

**Grau 6**

Deformação

6,0: osteófitos marginais

6,5: osteófitos centrais e marginais

Remodelagem óssea. Deformação do contorno da superfície articular (mais que osteofitose somente)

Reparo ósseo estendendo-se acima da superfície prévia

Fonte: PRITZKER *et al.*, 2006.

**Estágio Comprometimento superficial**

Estágio 0 Sem atividade OA observada

Estágio 1 < 10%

Estágio 2 10-25%

Estágio 3 25%-50%

Estágio 4 >50%

Fonte: PRITZKER *et al.*, 2006.