

DANIELLE ANDREAZZI LOBATO

EFEITOS DA APLICAÇÃO DO LASER A DIODO DE ARSENETO
DE GÁLIO (As-Ga) NA OSTEOARTRITE EXPERIMENTAL EM
COELHOS.

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Viçosa, como
requisito parcial para obtenção do título
de "*Magister Scientiae*".

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

DANIELLE ANDREAZZI LOBATO

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DO LASER A DIODO DE ARSENETO
DE GÁLIO (As-Ga) NA OSTEOARTRITE EXPERIMENTAL
EM COELHOS.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, como requisito parcial para obtenção do título de “*Magister Scientiae*”.

APROVADA: 15 de dezembro de 2003.

Prof^a. Marlene Isabel Vargas Vitoria
(Conselheira)

Prof. Luiz Gonzaga Pompermayer
(Conselheiro)

Prof. José Antônio Viana

Prof. Antônio José Natali

Prof. Ricardo Junqueira Del Carlo
(Orientador)

Ao meu avô, que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida e que hoje se encontra mais uma vez ao meu lado, pois a distância que nos separa é apenas física.

AGRADECIMENTOS

Reconhecer as colaborações em um trabalho como este é uma tarefa difícil por que podemos não mencionar todos que, de algum modo, contribuíram para sua realização.

Contudo, desejo expressar a minha gratidão a Deus que me guarda e ilumina.

Aos meus pais pela dedicação, conselhos, apoio e o eterno amor.

Ao meu irmão, pelo carinho e incentivo em todos os momentos.

Aos animais pelo amor incondicional, especialmente aos cães e às coelhas, que sem elas nada disso seria possível.

Ao Prof. Ricardo, orientador e amigo, por sua dedicação, apoio permanente e exemplo de profissional.

À Doutora Maria Cristina de Souza Lamas, pela amizade, atenção e carinho constantes.

À Profª Marlene, pelas orientações e dedicação na realização deste trabalho.

Aos professores Cláudio Fonseca, José Antônio Viana e Luiz Gonzaga Pompermayer, por transmitirem com profissionalismo, dedicação e com carinho seus ensinamentos.

À Simone pelo auxílio na correção e carinho sempre.

Aos demais professores do Departamento de Veterinária da UFV pelo convívio e apoio constante.

Aos colegas, que se tornaram grandes amigos e que contribuíram com a realização deste trabalho, Betânia, Denise, Paloma e os “meninos”.

Aos meus amigos que sempre estiveram próximos, mesmo estando distantes, sempre me apoiando com muito carinho, nunca me deixando fraquejar.

A todos os funcionários do DVT, por me receberem com tanto carinho, especialmente: Cláudio, Adão e Rose.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade e receptividade.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE TABELAS	VI
RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
1.0 - INTRODUÇÃO	1
2.0 - REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Articulação normal	2
2.2 Osteoartrite	4
2.3 Laserterapia na osteoartrite	9
2.4 Osteoartrite Experimental	11
3.0 - MATERIAL E MÉTODOS	13
4.0 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5.0 - CONCLUSÕES	25
6.0 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1	5
Anatomia normal e alterações patológicas associadas com a osteoartrite da articulação do joelho de um cão. As alterações patológicas envolvem a superfície articular, o osso subcondral, a cápsula articular e os ligamentos vizinhos (Adaptado de SOUZA JÚNIOR, 1999).	
Figura 2	22
Secções da cartilagem articular. A) Fissura e perda discreta da organização celular em fêmur de animal do GCI (HE, 100X). B) Camada superficial celularizada e organização celular similar à fisiológica em fêmur de animal do GTI (HE, 333,3X).	
Figura 3	23
Secções da cartilagem articular do fêmur de animais do GCIII. A) Fissura atingindo o osso subcondral e desorganização celular (HE, 83,3X). B) Hipocelularidade com necrose celular na camada superficial (HE, 320X) e descontinuidade cartilaginosa.	
Figura 4	24
Secções da cartilagem articular do fêmur de animal do GTIII. Presença de clones celulares. (Safranina O; 285,7X).	
Figura 5	25
Secções de cartilagem articular demonstrando diferenças na intensidade de coloração da matriz extracelular. A) Fêmur de animal do GCIII. (Safranina O; 83,3X). B) Fêmur de animal do GTIII (Safranina O; 80X).	

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Pontuação qualitativa das principais lesões observadas à microscopia de luz para determinar a degradação da cartilagem articular (Adaptado de PODWORNÝ et al., 1999).	15
Tabela 2	Pontuação qualitativa das principais lesões observadas à microscopia de luz para determinar o grau de sinovite (Adaptado de PODWORNÝ et al., 1999).	15
Tabela 3	Frequência de achados macroscópicos no fluido sinovial, após osteoartrite experimental, em animais dos grupos controle e tratado com laser a diodo de As-Ga, por 10, 20 e 30 dias, na dose diária de 3J/cm ² .	17
Tabela 4	Frequência de achados macroscópicos no fêmur de animais portadores de osteoartrite experimental associada ou não ao tratamento com laser a diodo de As-Ga, aos 10, 20 e 30 dias, na dose diária de 3J/cm ² .	19
Tabela 5	Frequência de achados macroscópicos na tíbia de animais portadores de osteoartrite experimental associada ou não ao tratamento com laser a diodo de As-Ga, por 10, 20 e 30 dias, na dose diária de 3J/cm ² .	20
Tabela 6	Pontuação qualitativa das principais lesões observadas à microscopia de luz referentes à degradação da cartilagem articular. Valores médios por grupo de animais, segundo PODWORNÝ et al. (1999).	21
Tabela 7	Pontuação qualitativa das principais lesões observadas à microscopia de luz referentes ao grau de sinovite. Valores médios por grupo de animais, segundo PODWORNÝ et al. (1999).	21

RESUMO

LOBATO, Danielle Andreazzi, MS. Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2003. **Efeitos da aplicação do Laser a Diodo de Arseneto de Gálio (As-Ga) na osteoartrite experimental em coelhos.** Orientador: Prof. Ricardo Junqueira Del Carlo. Conselheiros: Prof. Luiz Gonzaga Pompermayer e Marlene Isabel Vargas Vitoria.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do laser a diodo de Arseneto de Gálio (As-Ga) aplicado no joelho de coelhos portadores de osteoartrite induzida pela aplicação intrarticular de carragenina. A avaliação clínica *in vivo* demonstrou diminuição dos sinais inflamatórios e da dor, permitindo melhor desempenho e maior amplitude de movimento do joelho dos coelhos tratados em comparação aos dos animais não tratados. A avaliação macroscópica e microscópica *post-mortem* evidenciaram os processos degenerativos decorrentes da administração de carragenina em ambos os grupos, tratado e controle. Os resultados permitiram inferir que o laser diminuiu a presença de mediadores químicos reduzindo, assim, a resposta inflamatória e as lesões locais, inclusive a degradação dos glicosaminoglicanos. A análise histológica da membrana sinovial demonstrou a presença de células inflamatórias, distribuídas difusamente ou em focos, em maior intensidade nos grupos controle. Concluiu-se, portanto, que o caráter progressivo da osteoartrite foi retardado pela laserterapia.

Palavras-chave: Laserterapia, Osteoartrite, Carragenina.

ABSTRACT

LOBATO, Danielle Andreazzi, MS. Universidade Federal de Viçosa, december of 2003. **Effects of Gallium Arsenate (Ga-As) Diodo Laser on experimental osteoarthritis in rabbits.** Orientation: Prof. Ricardo Junqueira Del Carlo. Counselors: Prof. Luiz Gonzaga Pompermayer e Marlene Isabel Vargas Vilorio.

The aim of this study was to evaluate the effects of gallium arsenite (Ga-As) diode laser application on rabbits knees with osteoarthritis induced by intrarticular injection of carrageenan. Clinical evaluation *in vivo* showed that there was reduction in inflammatory signs and pain, with treated animals presenting a better performance and greater amplitude of movements, if compared with untreated animals. The degenerative processes resulting from the administration of carrageenan were evidenced in both groups by *post-mortem* macroscopic and microscopic assessment in both treated and control groups, which allowed inferring that laser diminished the presence of chemical mediators, reducing the inflammatory response and local lesions, including the degradation of glycosaminoglycans. Histological analysis of the synovial membrane revealed the presence of inflammatory cells distributed diffusely or in foci, the intensity of which was higher in control groups. It was concluded therefore that the rate of progression of osteoarthritis was slowed down by lasertherapy.

Key words: Lasertherapy, Osteoarthritis, Carrageenan.

1.0 - INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é uma condição degenerativa, de progressão lenta, que afeta as articulações móveis caracterizada por dor articular, sensibilidade aumentada à palpação, limitação dos movimentos, crepitação, efusão ocasional e variáveis graus de inflamação local sem, contudo, gerar manifestações sistêmicas (SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001; MELO, 2001).

A condição não está limitada a alterações da cartilagem articular, mas também afeta a sinóvia, cápsula articular, osso subcondral, ligamentos, músculos e tendões (SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001).

O tratamento tradicional empregado em cães com osteoartrite inclui a diminuição do peso em animais obesos, manejo farmacológico para inflamação e dor, mudanças na atividade física e cirurgia (MILLIS & LEVINE, 1997; JOHNSTON, 2001).

A partir do final da década de 60, a laserterapia tem sido apontada como um método seguro e efetivo no tratamento de distúrbios neurológicos e de alterações musculoesqueléticas e dos tecidos moles (LAMAS, 1999). Os chamados “soft-lasers” ou lasers de baixa energia, tais como os de Hélio-Neônio, os diodos de Rubi, de Argônio e de Arseneto de Gálio (As-Ga), motivam controvérsias no meio científico, pois os efeitos bioestimulantes atribuídos por alguns pesquisadores são contestados por outros (LAMAS, 1999).

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da aplicação do laser a diodo de Arseneto de Gálio (As-Ga) no joelho de coelhos portadores de osteoartrite experimental, pois admite-se que nestas circunstâncias, o “soft-laser” estimula a recuperação funcional da articulação, possui efeito analgésico, aumenta a amplitude do movimento articular e a recuperação funcional. Além disso, promove ação antiinflamatória, aumento da síntese de proteoglicanos e de colágeno e redução de edemas.

2.0 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Articulação normal

A articulação normal é composta por superfícies ósseas cobertas por camada uniforme de cartilagem hialina, sustentada pela cápsula articular, cuja parte externa é formada por tecido fibroso e a interna por membrana sinovial, que permite o movimento angular e a transferência e distribuição de forças de uma superfície para outra (PALMER & BERTONE, 1994; SOUZA JÚNIOR, 1999).

A cartilagem articular é uma complexa estrutura projetada para absorver choque e diminuir a fricção durante o movimento. É composta por uma matriz extracelular avascular, aneural e alinfática, constituída por colágeno em associação com proteoglicanos, sendo sintetizada pelos condrócitos, que representam 5 % do volume tecidual (PALMER & BERTONE, 1994; VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997; SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001).

Os condrócitos possuem atividade anabólica necessária para compensar o lento desgaste da matriz cartilaginosa sadia (VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997; SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001). Sob condições metabólicas normais, as atividades anabólica e catabólica coexistem igualmente para manter a cartilagem saudável (SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001).

A atividade catabólica dos condrócitos inclui a formação de enzimas degradativas, as metaloproteinases, sendo as principais a colagenase e a estromelisinase. A primeira atua sobre as fibrilas de colágeno para decompor o esqueleto estrutural da cartilagem e a segunda desdobra tanto os proteoglicanos como o colágeno (CREAMER & HOCHBERG, 1997; JOHNSTON, 2001).

Segundo JOHNSTON (2001), os proteoglicanos são moléculas compostas principalmente de uma proteína central a que estão ligadas cadeias laterais de glicosaminoglicanos (condroitina e sulfato de queratina) formando um monômero proteoglicano, sendo o agrecano o mais comumente encontrado. Muitos destes monômeros agrecanos ligam-se a uma molécula de hialuronato para formar um agregado de agrecanos.

Os glicosaminoglicanos (condroitin-sulfato, queratan-sulfato e hialuronato de sódio principalmente) são cadeias de unidades de dissacarídeos que se repetem e têm

carga negativa. Esta carga negativa faz com que haja uma repelência entre eles, resultando em resistência à compressão (PALMER & BERTONE, 1994; CREAMER & HOCHBERG, 1997; VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997).

A estrutura dos proteoglicanos lhes confere propriedades físicas específicas. As cadeias hidrofílicas dos glicosaminoglicanos e seu formato ramificado tornam-no uma molécula altamente expandida quando em solução aquosa e permeável, permitindo absorção e manutenção de grande quantidade de água (PALMER & BERTONE, 1994), que confere à cartilagem turgidez e rigidez compressiva (JOHNSTON, 2001).

A grande retenção de água nesse tecido cria um efeito de amortecimento semelhante ao de uma esponja. Quando sob pressão, ocorre uma perda de turgidez e saída de líquido. As degenerações da cartilagem levam a perdas de cadeias de glicosaminoglicanos no proteoglicano e de proteoglicanos nos agregados, com conseqüente diminuição de função desta estrutura (PALMER & BERTONE, 1994).

A principal função das fibrilas de colágeno é dar suporte estrutural para a matriz da cartilagem, com resistência às forças de tração (PALMER & BERTONE, 1994; CREAMER & HOCHBERG, 1997; JOHNSTON, 2001).

De modo geral, a orientação dos condrócitos e do colágeno dentro da matriz cartilaginosa permite maior resistência diante de forças mecânicas. Morfologicamente, há um padrão zonal baseado na organização dos condrócitos, orientação das fibrilas de colágeno e distribuição de proteoglicanos (JOHNSTON, 2001). Esta orientação das fibras de colágeno e proteoglicanos forma um material composto, que resiste às forças de compressão e tração sem sofrer danos, transmitindo-as ao osso subcondral subjacente. A ruptura desta organização é uma das características da osteoartrite (OA) (JOHNSTON, 2001).

As estruturas periarticulares também são parte integrante da função articular normal. A sinóvia ou camada de revestimento e o tecido subsinovial (composto por tecido conjuntivo frouxo, terminações nervosas livres e vasos sanguíneos), envolvem a articulação (JOHNSTON, 2001).

Os sinoviócitos produzem fluido sinovial (ultrafiltrado plasmático, rico em hialuronato de sódio), que permite menor fricção entre as superfícies articulares, bem como entre a superfície articular e a própria sinóvia (SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001). A sinóvia também desempenha importante papel na fagocitose, troca de fluido e na manutenção do ambiente articular (SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001).

A cápsula articular fibrosa envolve a sinóvia e contribui para a estabilidade física da articulação, assim como os ligamentos que podem estar inseridos dentro da cápsula (PALMER & BERTONE, 1994; JOHNSTON, 2001).

A região de osso subcondral consiste de uma estreita placa de osso localizada diretamente sob a cartilagem articular, juntamente com o osso esponjoso de sustentação. É uma região maleável, que absorve cargas (PIERMATTEI & FLO, 1999; SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001).

Os receptores para dor são encontrados em todos os tecidos da articulação com exceção da cartilagem articular. Eles estão mais concentrados dentro da cápsula articular, mas também aparecem no osso subcondral e nos ligamentos e têm a função de fornecer um sistema de alerta quando os movimentos ou forças excedem os limites fisiologicamente seguros (SOUZA JÚNIOR, 1999).

2.2. Osteoartrite

A osteoartrite (OA) é uma condição potencialmente debilitante que atinge uma porcentagem significativa de cães (ODDIS, 1996; VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997; PIERMATTEI & FLO, 1999; SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001; MELO, 2001). Apesar das atenções principais serem atribuídas à cartilagem quando se discute a OA, os tecidos periarticulares, como o osso subcondral, cápsula articular, ligamentos, sinóvia, tendões e musculatura adjacente (Figura 1), têm importante papel no desenvolvimento da dor e da disfunção associada à doença (SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001).

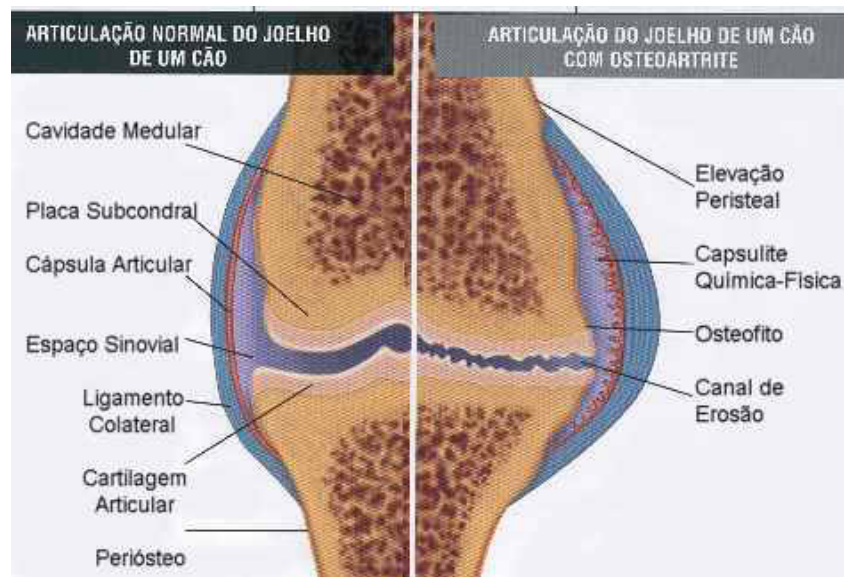


Figura 1: Anatomia normal (à esquerda) e alterações patológicas associadas com a osteoartrite (à direita) da articulação do joelho de um cão. As alterações patológicas envolvem a superfície articular, o osso subcondral, a cápsula articular e os ligamentos vizinhos (Adaptado de SOUZA JÚNIOR, 1999).

A patologia articular tem como origem o estresse mecânico da articulação, conseqüente a fatores predisponentes, como tensões anormais, alterações articulares concomitantes, excesso de peso corporal e de atividade física, dentre outros. O desgaste da cartilagem articular é precoce no curso da doença (PALMER & BERTONE, 1994; ODDIS, 1996; BENNET & MAY, 1997; SOUZA JÚNIOR, 1999).

Para CREAMER & HOCHBERG (1997), VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR (1997), SOUZA JÚNIOR (1999) e JOHNSTON (2001), enquanto a degeneração articular progride, há redução no conteúdo de proteoglicanos, ácido hialurônico e, em menor proporção, de colágeno, atribuída a enzimas proteolíticas liberadas nos estágios precoces da osteoartrite. Há quatro grupos principais de enzimas envolvidas na degradação cartilaginosa: proteinases aspárticas; proteinases de cisteína (catepsina e outras); proteinases serinas e metaloproteinases (colagenase desdobrando o colágeno; gelatinase e estromelisinase desdobrando proteoglicanos e colágeno).

Estas enzimas são produzidas por sinoviócitos, condrócitos e outros tipos celulares em resposta às citocinas, as quais incluem o fator de necrose tumoral (FNT), a interleucina-1 (IL-1) e a interleucina-6 (IL-6). Uma lesão articular, que usualmente resulta em danos aos condrócitos, parece acarretar um rompimento na homeostasia e

induzir a produção de tais mediadores inflamatórios (CREAMER & HOCHBERG, 1997; VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997; SOUZA JÚNIOR, 1999).

Na osteoartrite verifica-se inicialmente uma síntese elevada de proteoglicanos pelos condrócitos (PALMER & BERTONE, 1994; VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997; SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001). Entretanto, eles têm uma estrutura bioquímica anormal e são mais facilmente perdidos, por não se ligarem adequadamente ao hialuronato (VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997).

A ligação entre os proteoglicanos e o hialuronato é feita pelo colágeno, que danificado pelas metaloproteinases, perde a capacidade de formar ligações cruzadas, gerando a condromalácia (modificação da cartilagem e exposição do osso subcondral) (VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997; SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001).

Quando isso ocorre, os proteoglicanos hidrofílicos absorvem água causando “inchaço” da matriz cartilaginosa. Esta cartilagem “inchada” está alterada biomecanicamente e não resiste às forças que nela distribuem-se, originando sobrecarga em pequenas áreas da superfície articular, causando maior estresse no tecido subcondral subjacente e induzindo o surgimento de microfraturas e espessamentos na placa de osso subcondral (VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997; SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001).

O aumento da rigidez do osso subcondral resulta em menor complacência da articulação quando submetida a forças mecânicas, deixando a cartilagem articular ainda mais sobrecarregada. As forças concentradas em pequenas áreas de osso subcondral estimulam receptores dolorosos, danificam a matriz, lesam os condrócitos e contribuem para o desconforto do paciente (SOUZA JÚNIOR, 1999).

Fragmentos livres de colágeno e proteoglicanos são liberados no fluido articular, de onde são removidos pelos linfáticos presentes na sinóvia. A sinóvia e a cápsula articular fibrosa respondem à presença destes fragmentos e de outros mediadores bioquímicos, como citocinas e leucotrienos, aumentando a espessura e a produção de líquido sinovial, causando distensão dolorosa da cápsula (SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001).

A sinovite se caracteriza pela hiperplasia e hipertrofia das células de revestimento sinovial, aumento da vascularização de tecidos subsinoviócitos, proliferação vilosa e leve infiltração de linfócitos, plasmócitos e fagócitos mononucleares. Pode ocorrer deposição de hemossiderina, fibronectina e complexos

imunes. Nos casos graves ocorre fibrose periarticular intensa (LIPOWITZ, 1993; ODDIS, 1996; BENNET & MAY, 1997; MELO, 2001).

Além das alterações que ocorrem na cartilagem articular e no osso subcondral, os mediadores inflamatórios produzidos têm influência nos tecidos moles adjacentes e neuroceptores. Eles podem ser algésicos como a bradicinina, íons H^+ , serotonina e substância P, ou atuar como as prostaglandinas, citocinas e leucotrienos que ampliam a sensibilidade dos nociceptores (presentes em abundância nos tecidos periarticulares como cápsula articular, ligamentos, tendões, músculos e osso subcondral) a estímulos mecânicos e químicos. Assim, a resposta dolorosa pode ocorrer mesmo quando a articulação é submetida a estímulos mecânicos normalmente inócuos como a extensão, movimentação ou pressão (ODDIS, 1996; SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001).

O surgimento de osteófitos periarticulares na OA denota instabilidade articular, podendo ser um sinal radiográfico evidente, assim como a remodelação óssea. O papel desempenhado pelos osteófitos no processo da doença não está claro, ainda que possam contribuir para a estabilidade eles resultam em dor articular pela sua intromissão na sinóvia e na interface com tecidos moles periarticulares (LIPOWITZ, 1993; ODDIS, 1996; PIERMATTEI & FLO, 1999; SOUZA JÚNIOR, 1999; JOHNSTON, 2001). Sua forma é determinada pelas forças mecânicas e pelo contorno da superfície das quais eles se projetam (PIERMATTEI & FLO, 1999).

A severidade da doença é progressiva e as alterações associadas ocorrem de modo simultâneo e interdependente. Além disso, ainda que os sinais clínicos sejam intermitentes por natureza, sabe-se que as modificações tendem à permanência por causa da limitada capacidade de reparação da superfície articular ou incapacidade de reversão da cápsula articular fibrótica (SOUZA JÚNIOR, 1999).

A redução da viscosidade do líquido sinovial, em decorrência de diminuição da concentração de ácido hialurônico, o aumento do volume e maiores quantidades de células fagocitárias mononucleares (monócitos-macrófagos) confirmam, freqüentemente, a presença de processo inflamatório intrarticular de baixa intensidade (LIPOWITZ, 1993; ODDIS, 1996).

As alterações macroscópicas mais precoces consistem na perda da integridade superficial da cartilagem com o surgimento de áreas localizadas de amolecimento, associadas à ruptura ou fibrilação na superfície da matriz cartilaginosa (LIPOWITZ,

1993; ODDIS, 1996; BENNET & MAY, 1997; CREAMER & HOCHBERG, 1997; JOHNSTON, 2001).

Quando essa ruptura é superficial e a fragmentação é tangencial à superfície cartilaginosa trata-se de “floculação/fibrilação”. Quando é mais profunda, origina fragmentos perpendiculares à superfície cartilaginosa e é denominada “fissura” (ODDIS, 1996; BENNET & MAY, 1997; CREAMER & HOCHBERG, 1997; VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997).

Outras alterações precoces na cartilagem articular, consistem de áreas lisas e aveludadas que mudam para amarelo ou branco sem brilho, com orifícios, depressões e ranhuras lineares tornando-se aparentes. Na forma crônica, a cartilagem pode ser mole e esponjosa (PIERMATTEI & FLO, 1999).

A formação de fissuras progride até a perda cartilaginosa em toda a sua espessura e exposição de osso subcondral, existindo uma relação complexa entre as alterações da cartilagem e as do osso periarticular e subcondral (ODDIS, 1996; BENNET & MAY, 1997; CREAMER & HOCHBERG, 1997; VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997; JOHNSTON, 2001; MELO, 2001).

Segundo PIERMATTEI & FLO (1999), sob áreas de erosão da cartilagem ocorre modificação do osso que se torna polido e lembra grosseiramente um marfim ou mármore. O estágio inicial dessa condição resulta da ossificação endocondral das camadas inferiores da cartilagem, que é denominada, histologicamente, por “linhas de maré” (linhas onduladas com coloração de hematoxilina demarcando a interface entre as cartilagens hialinas calcificadas e não-calcificadas).

A progressão histológica da OA pode ser definida como perda da superfície da camada cartilaginosa; aumento difuso no número de células; diminuição moderada na coloração metacromática, indicando perda de proteoglicanos; vasos subcondrais crescendo para dentro através das “linhas de maré”; floculação; fissuras verticais que começam na superfície e estendem-se profundamente; perda de coloração metacromática; clonagem ou confecção de grumos de condrócitos; áreas focais de erosão, levando à exposição do osso subcondral; formação de cistos subcondrais; trechos de nova cartilagem observados sobre as áreas erodidas e osteófitos (PIERMATTEI & FLO, 1999).

2.3. Laserterapia na osteoartrite

O termo laser vem da abreviação de Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação (MINOR & SANFORD, 1993; ACOEM, 2003). Segundo BASKO (1983), SEITZ & KLEINKORT (1986), LAMAS (1999), ORTIZ (2001) e ACOEM (2003) o laser emite luz, de mesmo comprimento de onda e frequência, pois tem uma só cor (monocromática) que difere em cada categoria de laser; são coerentes, pois não há variação no comportamento dos fótons e alcançam o alvo segundo um formato que não sofre variação; os fótons viajam em paralelo, ao contrário da luz doméstica que diverge depois de sair da fonte; produzem intensidade capaz de criar uma força de radiação por centímetro quadrado (cm²) muito grande, pois os fótons chegam ao ponto final com igual carga de energia luminosa que tinham no momento inicial.

O laser exerce ação antiinflamatória, antiálgica, vasodilatadora, redutora de edemaciações e efeito regenerativo sobre os tecidos moles (BASFORD, 1989; MINOR & SANFORD, 1993; PUETT & GRIFFIN, 1994; ORTIZ, 2001; ACOEM, 2003). Está indicado em lesões articulares, musculares, tendíneas, ligamentares e dérmicas, proporcionando regeneração tecidual devido ao incremento metabólico e redução de processos catabólicos (BASKO, 1983; MCAULEY & YSLA, 1985; SCHULTZ et al., 1985; BASFORD, 1989; KOSACHENCO et al., 1995; LAMAS, 1999; ACOEM, 2003).

Pode-se classificar os lasers como “high-lasers” ou lasers de alta potência e os “soft-lasers”, que são de baixa potência (As-Ga). Os primeiros causam alterações térmicas nos tecidos e são empregados na área cirúrgica, produzindo a evaporação dos líquidos teciduais e a coagulação sanguínea, nos pequenos vasos. Dentre eles, destacam-se os lasers de (CO₂) e de Neodímio-Yag (Nd-Yag) (SEITZ & KLEINKORT, 1986; HILÁRIO, 1988; BASFORD, 1989; MINOR & SANFORD, 1993; LAMAS, 1999; ORTIZ, 2001; ACOEM, 2003).

Quanto maior o comprimento de onda, maior a penetração do laser nos tecidos, obtendo-se efeito imediato e mais eficiente em processos inflamatórios agudos ou que sofreram agudização (BASKO, 1983; HARRIS, 1991; MIKAIL, 1997; LAMAS, 1999). A penetração tissular do laser de As-Ga está em torno de 50mm, podendo atingir até cinco centímetros (BASKO, 1983; SEITZ & KLEINKORT, 1986; LAMAS, 1999).

A terapia com “soft-laser” é caracterizada por irradiação de baixa intensidade, com ação direta da radiação e não pela elevação de temperatura, que fica em torno de

0,1 a 0,5°C (SEITZ & KLEINKORT, 1986; BASFORD, 1989; RITSON, 1993; PUETT & GRIFFIN, 1994; LAMAS, 1999; ORTIZ, 2001). A elevação de temperatura, por sua vez está relacionada ao aumento do metabolismo celular e à vasodilatação local (CRUAÑES, 1984; RITSON, 1993; LAMAS, 1999).

Em processos osteoartríticos o “soft-laser” estimula a recuperação funcional da articulação, possui efeito analgésico e aumenta a amplitude do movimento articular. Além disso, promove ação antiinflamatória, aumento da síntese de proteoglicanos e de colágeno e redução de edemas (BASKO, 1983; CRUAÑES, 1984; SCHULTZ et al., 1985; SEITZ & KLEINKORT, 1986; HARRIS, 1991; MINOR & SANFORD, 1993; RITSON, 1993; PUETT & GRIFFIN, 1994; LAMAS, 1999; BROSSEAU et al., 2000; ORTIZ, 2001; ACOEM, 2003).

A ação vasodilatadora capilar do “soft-laser” melhora a circulação, aumenta a oxigenação, o aporte de nutrientes, a retirada de catabólitos e promove modificações na pressão hidrostática, favorecendo a reabsorção de edemas (BASKO, 1983; CRUAÑES, 1984; SEITZ & KLEINKORT, 1986; BASFORD, 1989; HARRIS, 1991; KOSACHENCO et al., 1995; LAMAS, 1999; ACOEM, 2003).

Os efeitos fisiológicos do “soft-laser” dependem do comprimento de onda, do tempo de exposição, da potência e do tipo de tecido onde é aplicado. Uma vez que nem toda radiação é absorvida e que parte dela pode ser refletida, a densidade e composição química do tecido são fatores consideráveis (BASKO, 1983; BASFORD et al., 1987; KOSACHENCO et al., 1995; LAMAS, 1999; ORTIZ, 2001).

Os lasers inibem a síntese de prostaglandinas, elevam o limiar da dor, estimulam a produção de endorfinas endógenas, inibem a quimiotaxia, restabelecem a homeostase celular e atuam positivamente sobre a regeneração tecidual pela elevação do metabolismo (aceleração na síntese de colágeno) (BASKO, 1983; CRUAÑES, 1984; SEITZ & KLEINKORT, 1986; BASFORD, 1989; HARRIS, 1991; MIKAIL, 1997; LAMAS, 1999; ORTIZ, 2001; ACOEM, 2003) e determinam diminuição local de microorganismos (SEITZ & KLEINKORT, 1986; LAMAS, 1999).

A ação analgésica ocorre também por normalização e favorecimento da produção de peptídeos endógenos e por modificação nas interferências elétricas celulares, interrompendo a propagação da dor, por efeito inibidor repolarizante (RITSON, 1993; PUETT & GRIFFIN, 1994; KOSACHENCO et al., 1995).

A laserterapia deverá ser realizada após preparação e demarcação da área a ser tratada, através de uma caneta, de forma pontual ou em varredura, podendo ser

realizadas de 12 a 25 sessões, diariamente ou com intervalos de dois a quatro dias. A área a ser tratada deve ser dividida em cm^2 e o raio deve incidir por 15 a 30 segundos, direta e perpendicularmente ao centro da área assim concebida (LAMAS, 1999).

A dosimetria varia de acordo com a finalidade terapêutica, sendo recomendado 1 a $3\text{j}/\text{cm}^2$ (joules/centímetro quadrado): ação antiinflamatória e vasodilatadora; 2 a $4\text{j}/\text{cm}^2$: ação antiálgica; 3 a $4\text{j}/\text{cm}^2$: drenagem de edemaciações; $4\text{j}/\text{cm}^2$: cicatrização cutânea; 3 a $6\text{j}/\text{cm}^2$: ação regenerativa. Não é aconselhável ultrapassar a dose de $7\text{j}/\text{cm}^2$, pois poderá ocorrer um efeito inibidor do metabolismo (LAMAS, 1999).

Entre as contra-indicações do laser estão as aplicações em pacientes com neoplasias, fêmeas gestantes e sobre placas epifisárias abertas. Dentre as precauções, está a exposição direta nos olhos do aplicador, que devem estar protegidos (CRUAÑES, 1984; SEITZ & KLEINKORT, 1986; LAMAS, 1999).

2.4. Osteoartrite Experimental

A OA tem sido induzida nos animais domésticos por meio da imobilização temporária da articulação, da promoção da instabilidade da articulação por métodos cirúrgicos (menisctomia parcial e pela ruptura de ligamentos colateral e/ou central) ou pela aplicação intrarticular de substâncias (carragenina, papaína, colagenase, dentre outras) que irão interferir no metabolismo da cartilagem (TROYER, 1982; KRAAN et al., 1992).

Durante a imobilização os nutrientes não chegam aos condrócitos assim como os produtos de degradação não são retirados, resultando em morte celular, redução dos proteoglicanos e conseqüentes fibrilações e fissuras cartilaginosas (TROYER, 1982). Já a instabilidade articular determina lenta e progressiva patologia que se assemelha à osteoartrite de ocorrência natural (TROYER, 1982).

A aplicação intrarticular da carragenina é um método simples, de fácil execução e indução rápida, reproduzível, de baixo custo, determina somente efeitos locais, não é tóxica ao animal e apresenta um quadro clínico, macroscópico e histológico semelhante ao da OA de ocorrência natural (GARDNER, 1960; LOWTHER & GILLARD, 1976; TROYER, 1982; SANTER et al., 1983; KRAAN et al., 1992, PODWORNÝ et al., 1999).

A carragenina é um mucopolissacarídeo (poligalactose) sulfatado de cadeia longa, com alto peso molecular, obtida de um musgo irlandês (*Chondrus crispus*) ou de

uma concha marinha encontrada na costa holandesa (GARDNER, 1960; MARROQUIN & AJMAL, 1970; SANTER et al., 1983). É de fácil dissolução em salina isotônica, apresenta-se na forma de gel em temperatura ambiente, mas se torna menos viscosa com aquecimento, e sua esterilização pode ser obtida pelo aquecimento até a ebulição, sem alterar sua capacidade de promover o processo inflamatório (GARDNER, 1960).

Como a osteoartrite é uma lesão de caráter progressivo, para se obter um padrão semelhante ao da patologia articular, com uma resposta osteoartrítica prolongada, é necessário o uso de aplicações intrarticulares de carragenina em intervalos de três a sete dias, sendo quatro dias o intervalo ideal. Para esse propósito a solução a 1% é a mais conveniente (GARDNER, 1960; LOWTHER & GILLARD, 1976; BYERS et al., 1985; PODWORNÝ et al., 1999). As aplicações repetidas possivelmente mantêm uma resposta inflamatória uniforme, não causando agravamento com relação às respostas locais inflamatórias (GARDNER, 1960; GILLARD & LOWTHER, 1976; SANTER et al., 1983).

As principais lesões desenvolvidas pela carragenina compreendem a promoção de sinovite em graus leve a moderado, aumento na proliferação de sinoviócitos e da membrana sinovial, substituição progressiva dos locais de perda cartilaginosa por tecido conjuntivo fibroso, presença de linfócitos e disposição perivascular de infiltrados inflamatórios (GARDNER, 1960; MARROQUIN & AJMAL, 1970; LOWTHER et al., 1976; SANTER et al., 1983; BYERS et al., 1985; PODWORNÝ et al., 1999).

A sinovite difusa é caracterizada pela hiperplasia das células da membrana basal sinovial, fibrose subsinovial, espessamento da sinóvia, inflamação, presença de histiócitos, neutrófilos, células gigantes e linfócitos (MARROQUIN & AJMAL, 1970; SANTER et al., 1983; PODWORNÝ et al., 1999).

A aplicação intrarticular de carragenina resulta em influxo de leucócitos polimorfonucleares ao líquido sinovial, aumento da atividade de enzimas proteolíticas como as proteinases originárias destas células, que podem ser responsáveis pela depleção do metabolismo dos condrócitos, inclusive quanto ao transporte de aminoácidos, estando diretamente relacionada à concentração das enzimas com a depleção de proteoglicanos. Os macrófagos e monócitos, por fagocitose, absorvem e armazenam a carragenina em seus lisossomos secundários que, subseqüentemente, aumentam de volume por osmolaridade e se rompem (LOWTHER et al., 1976; LOWTHER & GILLARD, 1976; SANTER et al., 1983; BYERS et al., 1985; PODWORNÝ et al., 1999).

A perda parcial da capacidade de síntese dos condrócitos é devida, em grande parte, aos produtos da reação inflamatória e em menor quantidade à ação direta da carragenina, podendo ser observada necrose dos mesmos (GILLARD & LOWTHER, 1976; LOWTHER & GILLARD, 1976; BYERS et al., 1985; PODWORNÝ et al., 1999).

Em função da reação inflamatória gerada é observada uma perda de até 75% na taxa de síntese de proteoglicanos pelos condrócitos com conseqüente perda da matriz cartilaginosa, destruição de fibras colágenas, erosão superficial e periarticular, quebras na barreira osteocondral e edema na articulação (GILLARD & LOWTHER, 1976; LOWTHER et al., 1976; LOWTHER & GILLARD, 1976; SANTER et al., 1983; BYERS et al., 1985; PODWORNÝ et al., 1999).

3.0 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 30 coelhas clinicamente sadias, da raça Nova Zelândia Branca, com peso entre 3 a 4 Kg e idade entre seis e sete meses, que foram mantidas em gaiolas individuais e alimentadas com ração comercial balanceada¹, feno e água.

Em todos os animais, após sedação com acepromazina² (0,2mg/kg, IV), foi aplicada na articulação femorotibio Patelar direita 0,3mL da carragenina³ a 1% (solução obtida pela dissolução de um grama de carragenina em 100mL de solução salina), através de uma agulha de 25 gauges, inserida lateralmente à região inferior da patela em direção ao tendão suprapatelar evitando-se assim, lesão mecânica à cartilagem do platô tibial e do fêmur. Após cada aplicação a articulação foi ritmicamente fletida e estendida, durante um minuto, objetivando a distribuição da carragenina de maneira uniforme.

A injeção intrarticular foi realizada a cada quatro dias, até o total de seis, segundo metodologia proposta por PODWORNÝ et al. (1999) que estabeleceram que este intervalo determina resposta osteoartrítica prolongada e um padrão uniforme de reação inflamatória, não causando agravamento com relação às respostas locais.

As coelhas foram distribuídas, aleatoriamente, em três grupos experimentais (GI, GII e GIII), cada um deles contendo 10 animais, que foram submetidos à aplicação de

¹ Ração Linha Natural para Coelhos, Purina®.

² Acepran 1%, Univet S.A., São Paulo.

³ Carragenina 1 %, Tipo IV, Lambda, Sigma Chemical CO.

laser As-Ga, na dose de 3J/cm², durante 30 segundos por ponto irradiado, na articulação femorotibiopatelar direita, diariamente, por 10 dias (10 sessões) em cinco animais (GI-T); por 20 dias (20 sessões) em cinco animais (GII-T) e por 30 dias (30 sessões) em cinco animais (GIII-T). Os outros cinco animais de cada grupo (15 no total) não receberam irradiação laser e serviram como controle (GI-C, GII-C e GIII-C).

As aplicações de laser As-Ga foram realizadas com um aparelho⁴ de 45 W (watts) de potência máxima e comprimento de onda de 904 nm e óculos apropriados protegeram os olhos do operador contra os raios emitidos. Os animais foram colocados em decúbito lateral esquerdo e a extremidade da ampola, em contato com a pele, foi posicionada de modo a incidir perpendicularmente à articulação. Os limites da área irradiada foram previamente identificados com a ajuda de um marcador à base de tinta, em quatro pontos, padronizando-se as aplicações.

A aplicação do laser teve início 4 h após a primeira injeção intrarticular, quando já estava presente manifestação de sintomatologia osteoartrítica, sendo repetida diariamente, até o sacrifício dos animais, de acordo com o número de sessões de cada grupo.

Foi avaliado o comportamento dos animais, a articulação femorotibiopatelar direita foi inspecionada, palpada (presença de sinais inflamatórios e crepitação) e a amplitude de movimento foi analisada.

Após o sacrifício dos animais dos três grupos, com sobredosagem anestésica, as articulações femorotibiopatelares envolvidas foram dissecadas e avaliadas macroscopicamente. Foram anotadas, em fichas individuais, a presença de edemaciações, hemorragias, alterações do líquido sinovial (viscosidade, coloração e transparência), assim como presença de fibrilações, fissuras, erosões, perda da cartilagem com exposição do osso subcondral e presença de osteófitos marginais.

Para permitir exames histológicos, foi realizado um corte sagital no sulco intercondilar femoral e coletado os cêndilos. O platô tibial foi coletado após secção transversal proximal da tibia. As amostras foram fixadas em líquido de Bouin por 24h, descalcificadas em ácido fórmico a 10%, tamponado com citrato de sódio para pH 4,5, sob vácuo moderado, desidratadas em concentrações crescentes de álcool etílico, incluídas em parafina, seccionadas a 5µm de espessura e coradas por Hematoxilina & Eosina (HE) e Safranina O & Fast Green (SF) (devido a sua alta afinidade por

⁴ Laser® Infra-Red 904 – KLD, Biossistemas Equipamentos Eletrônicos Ltda., São Paulo.

proteoglicanos). Também foi feita a análise histológica da membrana sinovial, na região de transição com a cartilagem articular.

Os cortes histológicos foram avaliados à microscopia de luz e as principais lesões foram avaliadas qualitativamente, por meio de pontuações para se determinar a degradação da cartilagem articular. Para esta pontuação utilizou-se uma adaptação do modelo (Tabela 1) proposto por PODWORNÝ et al. (1999). A graduação foi obtida pelo somatório dos resultados, sendo que o total máximo de 14 pontos indicou as alterações mais severas.

Também foram relatadas as alterações do grau de sinovite, cuja avaliação qualitativa seguiu modificações no modelo (Tabela 2) proposto por PODWORNÝ et al. (1999). A graduação foi obtida pelo somatório dos resultados, sendo que o total máximo de 11 pontos indicou as alterações mais severas.

Tabela 1 - Pontuação qualitativa das principais lesões observadas à microscopia de luz para determinar a degradação da cartilagem articular (Adaptado de PODWORNÝ et al., 1999).

I	Estrutura	II	Células
0	Normal	0	Normais
1	Alterações superficiais discretas	1	Hiper celularidade difusa
2	Irregularidades superficiais e presença de tecido de granulação	2	Presença de grumos
3	Fissuras até a zona de transição	3	Hipocelularidade
4	Fissuras até o osso subcondral superficial		
5	Fissuras até o osso subcondral profundo		
6	Completa desorganização		
III	Coloração por Safranina O	IV	Integridade da barreira osteocondral
0	Normal	0	Intacta
1	Intensidade ligeiramente reduzida	1	Quebra
2	Perda de coloração em pequenas áreas focais		
3	Perda de coloração difusa		
4	Ausência de coloração		

Tabela 2 - Pontuação qualitativa das principais lesões observadas à microscopia de luz para determinar o grau de sinovite (Adaptado de PODWORNÝ et al., 1999).

I	Hiperplasia das células sinoviais	II	Fibrose
0	Ausente	0	Ausente
1	< 50% das células sinoviais apresentam alterações	1	Pequena e focal
2	> 50% das células sinoviais apresentam alterações	2	Difusa
III	Inflamação	IV	Necrose
0	Ausente	0	Ausente
1	Histiócitos presentes	1	Focal
2	Focal	2	Multifocal
3	Intermediária	3	Difusa
4	Intensa		

4.0 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais do grupo controle, nos três períodos de observações, apresentaram diminuição considerável da ingestão de alimentos, com redução de peso, quando comparados aos grupos tratados. Segundo SLUKA & WESTLUND (1993), SLUKA et al. (1998) e SLUKA et al. (1999), que trabalharam com modelos experimentais de osteoartrite, a dor em grau avançado, como foi observada, deve ser responsabilizada por este achado.

Os animais dos grupos tratados manifestaram menor desconforto e sintomatologia dolorosa articular, que deve ser imputada ao laser, assim como foi observado por PUETT & GRIFFIN (1994), KOSACHENCO et al. (1995), TAM (1999), BROSSEAU et al. (2000) e ACOEM (2003). O efeito analgésico do laser se deve à inibição da síntese de prostaglandinas, estimulação da produção de endorfinas endógenas, normalização e favorecimento da produção de peptídeos endógenos e por modificação na condução elétrica celular interrompendo a propagação da dor (RITSON, 1993; PUETT & GRIFFIN, 1994; KOSACHENCO et al., 1995; MIKAIL, 1997; LAMAS, 1999; ACOEM, 2003).

As articulações dos animais tratados apresentaram redução do edema, observada à inspeção e palpação, quando comparadas com as dos animais dos respectivos grupos controle, que apresentaram edemaciação e aumento de temperatura local, de forma progressiva. Esta capacidade do laser, de favorecer a absorção de edemas deve-se, principalmente, à sua ação vasodilatadora capilar (RITSON, 1993; KOSACHENCO et al., 1995; LAMAS, 1999; BROSSEAU et al., 2000; ACOEM, 2003).

Durante a laserterapia, as coelhas permitiram a manipulação dos membros, sem necessidade de administração de drogas sedativas ou contenção, não interferindo no procedimento e não apresentando sinais de desconforto durante as aplicações, que perduraram cerca de 2 minutos. Segundo LAMAS (1999) a ausência de sensação dolorosa à aplicação é uma das principais vantagens da utilização do laser e, nesta pesquisa, não somente este efeito facilitador foi evidenciado, mas, também o antiálgico e o antiinflamatório.

Ao contrário, as articulações dos animais dos grupos controle apresentavam-se sensíveis, com as coelhas resistindo à manipulação, com comportamento agressivo e vocalização, de forma progressiva em relação ao tempo, como observado nos resultados

obtidos por SLUKA & WESTLUND (1993), SLUKA et al. (1998), SLUKA et al. (1999).

A amplitude de movimentos foi reduzida em todas as articulações dos animais dos grupos controle e crepitação com atrofia muscular estava evidente no GIII-C. Resultados semelhantes foram demonstrados por SLUKA et al. (1999) e caracterizaram a forma progressiva da doença articular degenerativa. Já, nas coelhas tratadas, a redução da amplitude de movimento foi discreta e pouco perceptível, comparativamente à dos animais controle, que pode ser justificada pelos efeitos analgésico e antiinflamatório induzidos pelo laser e ao menor agravamento do processo degenerativo.

A avaliação macroscópica da articulação femorotibiopatelar evidenciou processos degenerativos, principalmente na cartilagem articular, decorrentes da administração intrarticular de carragenina a 1%, assim como a perpetuação e agravamento das lesões pelo processo patológico iniciado pelo mucopolissacarídeo, em ambos os grupos. Apesar da aplicação repetida da carragenina não incrementar os danos articulares (GARDNER, 1960 e GILLARD & LOWTHER, 1976) pode-se justificar a progressividade da sintomatologia, nos grupos tratados e controles, por aspectos inerentes aos mecanismos fisiopatológicos da osteoartrite.

A pequena quantidade de líquido sinovial, em todas as articulações avaliadas, não permitiu análise laboratorial. Já os resultados da análise macroscópica estão representados na Tabela 3.

Tabela 3 - Frequência de achados macroscópicos no fluido sinovial, após osteoartrite experimental, em animais dos grupos controle e tratado com laser a diodo de As-Ga, por 10, 20 e 30 dias, na dose diária de 3J/cm².

Achados Macroscópicos	10 dias (GI)		20 dias (GII)		30 dias (GIII)	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado
Coloração Amarelada	3/5	0/5	3/5	1/5	4/5	0/5
Transparência	4/5	5/5	3/5	4/5	1/5	5/5
Viscosidade Baixa	5/5	0/5	5/5	2/5	3/5	1/5
Viscosidade Normal	0/5	5/5	0/5	3/5	0/5	4/5
Viscosidade Alta	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/5

Um animal do grupo controle apresentou discreta alteração na transparência do líquido sinovial, aos 10 dias, enquanto que aos 20 dias, dois animais desse grupo apresentaram redução na transparência com discreta turbidez. Estes achados caracterizam a progressividade das lesões tanto no que diz respeito ao aspecto do líquido quanto à quantidade de animais afetados.

Aos 30 dias, quatro animais do grupo controle apresentaram aumento da quantidade de líquido que se encontrava amarelo-esbranquiçado, turbido e com aparência similar ao pus. De acordo com BIASI (2001), a turbidez do fluido sinovial sugere aumento na contagem de células, ao passo que a mudança de cor indica hemorragia se esta se encontra avermelhada ou reação inflamatória se amarelo-esbranquiçada. Estes achados podem ser explicados pelo maior afluxo de células mononucleares, confirmando processo inflamatório intrarticular e concomitante quadro de sinovite.

A turbidez aumentada também foi relatada nos experimentos de BENNET & MAY (1997), PODWORNÝ et al. (1999), SOUZA JÚNIOR (1999) e MELO (2001) e provavelmente, está relacionada à presença de mediadores inflamatórios que aumentam a permeabilidade vascular e o metabolismo de sinoviócitos e conseqüentemente, o número de células e de proteínas aumentados, resulta em turbidez.

A progressiva redução da viscosidade do líquido sinovial, encontrada no grupo controle, deve-se provavelmente, à diminuição da concentração de ácido hialurônico, ao aumento do volume de líquido e à maior quantidade de células fagocitárias mononucleares, confirmando o processo inflamatório intrarticular. Segundo ODDIS (1996), na inflamação, a quantidade e qualidade do líquido sinovial são rapidamente afetadas, podendo desenvolver efusão sinovial como resultado de um desequilíbrio entre a produção e a remoção do líquido.

Nos animais dos grupos tratados o líquido sinovial apresentou características próximas ao normal. A exceção aconteceu em dois coelhos do GII-T e em um do GIII-T, cuja redução da viscosidade pode ter sido decorrente da diminuição da concentração de ácido hialurônico característica de um quadro de osteoartrite leve (LIPOWITZ, 1993; ODDIS, 1996). Deve ser considerado também, que o laser atua aumentando a taxa de fagocitose que, associada ao seu efeito antiinflamatório, participa da manutenção das características do líquido sinovial, como relataram LAMAS (1999) e TAM (1999).

Não foram observadas alterações macroscópicas nas patelas de todos os animais do experimento, o que, segundo PODWORNÝ et al. (1999), deve-se à ausência de sobrecarga mecânica, pois a carragenina, em aplicações repetidas, possivelmente, mantêm uma resposta inflamatória uniforme, não determinando lesões macroscópicas evidentes que, segundo PODWORNÝ et al. (1999), quando presentes, representam agravamento do processo de osteoartrite.

Na avaliação macroscópica do fêmur foram observadas lesões na cartilagem articular, principalmente na região intercondilar e no côndilo medial, sugestivas de processo degenerativo de caráter progressivo (Tabela 4).

Tabela 4 - Frequência de achados macroscópicos no fêmur de animais portadores de osteoartrite experimental associada ou não ao tratamento com laser a diodo de As-Ga, aos 10, 20 e 30 dias, na dose diária de 3J/cm².

Achados Macroscópicos	10 dias (GI)		20 dias (GII)		30 dias (GIII)	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado
Hiperemia	5/5	1/5	3/5	2/5	4/5	2/5
Fibrilação	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Fissura	1/5	1/5	2/5	0/5	3/5	0/5
Erosão	4/5	2/5	4/5	0/5	3/5	2/5
Exposição osso subcondral	1/5	0/5	2/5	0/5	2/5	1/5
Presença de osteófitos	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5

Aos 10 dias, alterações macroscópicas, classificadas como precoces nas osteoartrites (SANTER et al., 1983; PODWORNÝ et al., 1999), foram observadas nos animais do grupo controle e se caracterizaram por hiperemia, erosões superficiais e em apenas um animal fissura da cartilagem e exposição do osso subcondral. Aos 20 e 30 dias, foi evidenciada a progressividade das lesões, com perda da integridade superficial (fibrilações) e profunda da matriz cartilaginosa (fissuras) (Tabela 4).

Em alguns animais do grupo controle as fissuras progrediram até a perda de cartilagem, em toda a sua espessura, com exposição do osso subcondral, como relataram em seus experimentos, GILLARD & LOWTHER (1976) e PODWORNÝ et al. (1999).

Aos 30 dias, a presença de osteófitos periarticulares em um animal do GCIII, associados à instabilidade articular, caracterizaram o caráter progressivo das lesões, podendo ser um sinal de remodelação óssea que, segundo PIERMATTEI & FLO (1999) ainda que possam contribuir para a estabilidade eles resultam em dor articular pela sua intromissão na sinóvia e na interface com tecidos moles periarticulares.

Os animais tratados com laser apresentaram lesões discretas quando comparados aos respectivos controles. Apesar do caráter progressivo da osteoartrite induzida, as lesões macroscópicas observadas no GTIII caracterizam um quadro menos grave quando comparadas ao GCI. Entretanto, na análise dos diferentes grupos tratados (Tabela 4), também fica evidente a progressividade das lesões, com a macroscopia demonstrando maior gravidade aos 30 dias (GTIII) em relação ao GCI. Provavelmente, as modificações tenderam a permanência por causa da limitada capacidade de reparação da superfície articular ou incapacidade de reversão da cápsula articular fibrótica.

É sabido que mediadores como as citocinas, quando presentes em grande quantidade na cartilagem articular, promovem a liberação de enzimas proteolíticas (PUETT & GRIFFIN, 1994) e o laser é capaz de diminuir a presença deles. Além disso, o laser estimula a síntese de proteoglicanos e de colágeno, por mecanismos ainda não descritos, repondo parcialmente os que foram degradados enzimaticamente (RITSON, 1993; ACOEM, 2003). Portanto, é possível inferir que o tratamento diminuiu a quantidade de tais mediadores e enzimas reduzindo as lesões locais. Já no grupo controle, esses mediadores influenciaram negativamente o conteúdo de proteoglicanos, ácido hialurônico e colágeno, resultando nos achados macroscópicos observados.

Na tíbia, os achados macroscópicos na cartilagem articular caracterizaram lesões discretas, características da OA (Tabela 5) e localizaram-se, em todos os animais, na região do platô tibial lateral.

Tabela 5 - Frequência de achados macroscópicos na tíbia de animais portadores de osteoartrite experimental associada ou não ao tratamento com laser a diodo de As-Ga, por 10, 20 e 30 dias, na dose diária de 3J/cm².

Achados Macroscópicos	10 dias (GI)		20 dias (GII)		30 dias (GIII)	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado
Hiperemia	4/5	4/5	5/5	4/5	5/5	2/5
Erosão	2/5	0/5	0/5	1/5	2/5	0/5
Exposição do osso subcondral	1/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5

Segundo PODWORNÝ et al. (1999) e ORTIZ (2001) a observância de tais lesões nesta região deve-se a uma maior rigidez e menor complacência da cartilagem no platô tibial lateral, indicando que nesta região há uma maior descarga de peso devido à atividade apresentada pelos coelhos, conseqüentemente ocorre um maior número de lesões por estresse mecânico.

Assim como no fêmur, as lesões macroscópicas na tíbia caracterizaram OA mais grave e progressiva entre os animais dos grupos controle em relação aos tratados. Tanto as alterações quanto o caráter progressivo da patologia foram semelhantes à osteoartrite de ocorrência natural.

As alterações histológicas encontradas, características de um processo osteoartítico, refletiram a reação inicial da cartilagem a carragenina, assim como a evolução do processo e estão representadas, qualitativamente, nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6 - Pontuação qualitativa das principais lesões observadas à microscopia de luz referentes a degradação da cartilagem articular. Valores médios por grupo de animais, segundo PODWORNÝ et al. (1999).

Achados Microscópicos	10 dias (GI)		20 dias (GII)		30 dias (GIII)	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado
Estrutura	2	1	4	2	4	2
Células	3	0	1	1	3	2
Coloração por Safranina O	2	1	3	1	3	2
Integridade da barreira osteocondral	0	0	0	0	0	0
Escore	7	2	8	4	10	6

Tabela 7 - Pontuação qualitativa das principais lesões observadas à microscopia de luz referentes ao grau de sinovite. Valores médios por grupo de animais, segundo PODWORNÝ et al. (1999).

Achados Microscópicos	10 dias (GI)		20 dias (GII)		30 dias (GIII)	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado
Hiperplasia das células sinoviais	1	1	2	1	2	2
Fibrose	1	0	1	1	2	1
Inflamação	2	1	3	2	4	2
Necrose	1	0	1	1	1	1
Escore	5	2	7	5	9	6

Aos 10 dias, as alterações mais marcantes no GCI, foram observadas na cartilagem articular com a camada superficial irregular, apresentando sinais de inflamação pouco intensa e perda discreta da organização celular (Figura 2A). Já, a cartilagem articular dos animais tratados por 10 dias apresentava, na maioria das vezes, camada superficial celularizada e os condrócitos de forma colunar, similar à cartilagem normal (Figura 2B). Foi também observada a presença de infiltrado inflamatório discreto em pequenas áreas focais.

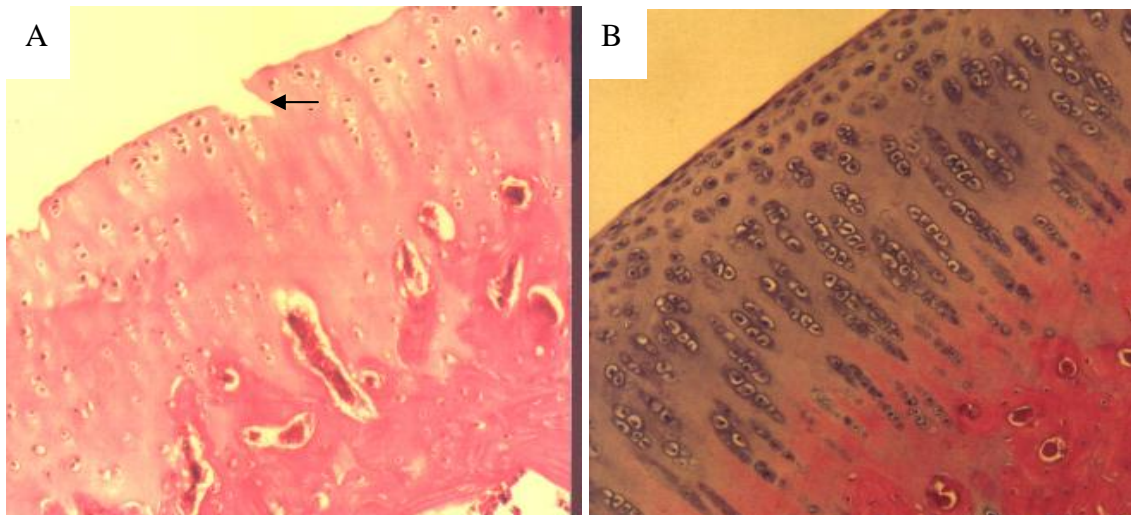


Figura 2 - Secções da cartilagem articular. A) Fissura (seta) e perda discreta da organização celular em fêmur de animal do GCI (HE, 100X). B) Camada superficial celularizada e organização celular similar à fisiológica em fêmur de animal do GTI (HE, 333,3X).

Aos 20 dias, nos animais do grupo controle, ocorreu evolução do processo inflamatório, que se tornou mais intenso, com exposição das fibrilas de colágeno (fibrilação), fissuras, aumento da hidratação da cartilagem (edemaciação) e hiper celularidade. De acordo com PIERMATTEI & FLO (1999) e PODWORNÝ et al. (1999), no processo inflamatório induzido pela carragenina ocorre ruptura dos arranjos de proteoglicanos com aumento das metaloproteinases e da hidratação da cartilagem, determinando estes resultados. Já o aumento no número de células (hiper celularidade) é determinado pela divisão dos condrócitos, nas zonas média e profunda, em resposta ao estresse anormal, como um mecanismo de defesa natural da cartilagem (PIERMATTEI & FLO, 1999 e MELO, 2001).

Os achados histológicos, assim como os macroscópicos, demonstraram natureza progressiva da OA, sendo que aos 20 dias (GTII) constatou-se pequenas fibrilações, desorganização celular focal e presença de infiltrado focal um pouco mais intenso próximo ao que se observou no GCI, assim como pequenas e discretas áreas de necrose focais.

Aos 30 dias (GCIII) foi observado processo inflamatório intenso, caracterizado por polimorfonucleares, assim como fissuras até o osso subcondral, desorganização celular (Figura 3A), descontinuidade cartilaginosa e hipocelularidade (Figura 3B). A cartilagem articular apresentou acentuada hipocelularidade ou mesmo ausência celular na camada superficial (necrose) (Figura 3B). Isso também foi observado por

PIERMATTEI & FLO (1999), PODWORNÝ et al. (1999) e MELO (2001) que consideram a redução do número de condrócitos como uma das lesões mais marcantes da fase mais avançada da osteoartrite.

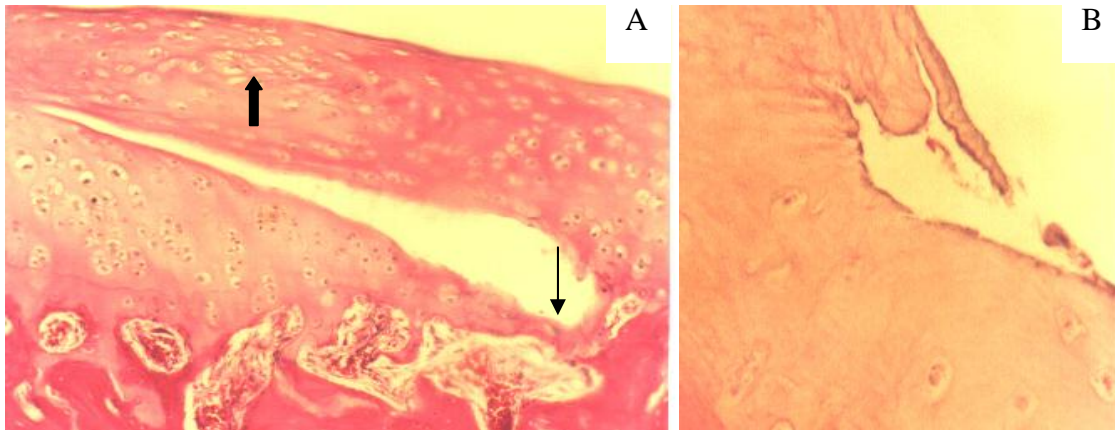


Figura 3 - Secções da cartilagem articular do fêmur de animais do GCIII. A) Fissura atingindo o osso subcondral (seta fina) e desorganização celular (seta grossa) (HE, 83,3X). B) Hipocelularidade com necrose celular na camada superficial (HE, 320X) e descontinuidade cartilaginosa.

Nesta época, no GTIII, foi observada discreta evolução dos achados, sendo evidente o aumento do infiltrado inflamatório, com presença, em alguns animais, de agregados de linfócitos. Apesar disso, os condrócitos mantiveram a capacidade de proliferação e, o aparecimento de clones celulares (Figura 4) demonstrou tentativa de reparação da superfície articular lesada, assim como o aumento da densidade celular nas camadas média e profunda. Estes achados refletem uma hiperatividade dos condrócitos e divisão celular, mimetizando o retorno ao crescimento da cartilagem, objetivando seu restabelecimento. Segundo PUETT & GRIFFIN (1994), KOSACHENCO et al. (1995), BROSSEAU et al. (2000) e ORTIZ (2001) o laser promove regeneração tecidual devido ao incremento metabólico e redução de processos catabólicos, determinando a hiperatividade dos condrócitos, aumento da síntese de proteoglicanos e de colágeno objetivando normalidade cartilaginosa.

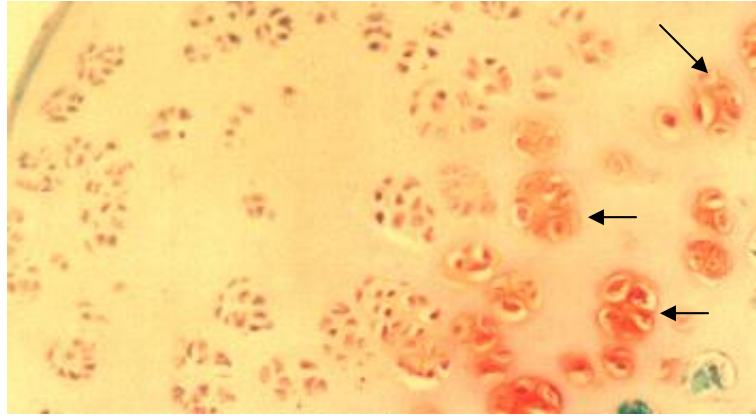


Figura 4 - Secções da cartilagem articular do fêmur de animal do GTIII. Presença de clones celulares (setas). (Safranina O; 285,7X).

Em GCI, II e III foi observada proliferação de tecido conjuntivo aderido e sobre a superfície articular, que tem sido referido como pânus ou tecido especial de granulação (MELO, 2001; ORTIZ, 2001), sendo um fenômeno freqüente nas osteoartrites. Provavelmente, a formação de pânus se deveu à possibilidade dos condrócitos superficiais transformarem-se em fibroblastos, como resposta à alterações do ambiente celular, localizando-se principalmente nas áreas de inserção da membrana sinovial.

Na cartilagem articular dos animais dos grupos controle, foi observada perda gradativa de coloração por Safranina O & Fast Green (Figura 5A), que foi total no GCIII, caracterizando perda significativa e gradativa no conteúdo de glicosaminoglicanos, bem como o caráter progressivo da OA. Nos grupos tratados a perda foi discreta, sendo que o GTIII (Figura 5B) assemelhou-se aos animais do GCI. Sugerindo que os condrócitos foram ativos e sintetizaram os glicosaminoglicanos da matriz numa proporção maior, por incremento metabólico, sendo estes achados semelhantes aos de BROSSEAU et al. (2000) e ORTIZ (2001).

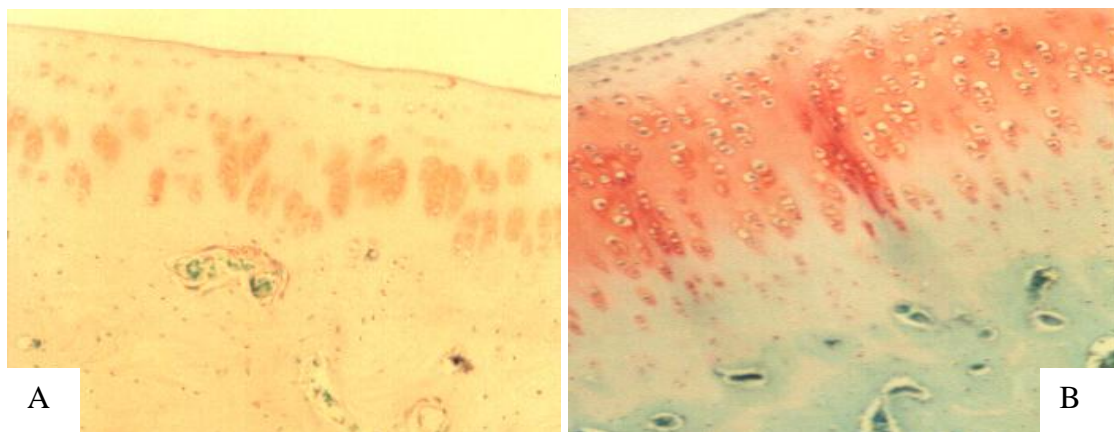


Figura 5 - Secções de cartilagem articular demonstrando diferenças na intensidade de coloração da matriz extracelular. A) Fêmur de animal do GCIII. (Safranina O; 83,3X). B) Fêmur de animal do GTIII (Safranina O; 80X).

A análise histológica da membrana sinovial demonstrou áreas de proliferação, com as vilosidades formando projeções papilares, sendo comum a presença de células inflamatórias, distribuídas difusamente ou em focos. Em algumas áreas, as células inflamatórias formaram aglomerados de linfócitos mimetizando nódulos linfóides, semelhantemente ao observado por MELO (2001) e foram encontrados, principalmente, nos animais do GCIII.

5.0 - CONCLUSÕES

O laser a diodo de Arseneto de Gálio (As-Ga) aplicado no joelho de coelhos portadores de osteoartrite experimental na dose ($3\text{J}/\text{cm}^2$) e frequência utilizada reduz e retarda os efeitos inflamatórios e degenerativos locais.

Clinicamente, diminuiu os sinais inflamatórios e a dor, permitindo um melhor desempenho e maior amplitude de movimento.

A evolução, caráter progressivo da osteoartrite, é retardada pela laserterapia.

6.0 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOEM. Microcurrent electrical neuromuscular stimulation (MENS) and low energy laser (LEL). Disponível em: <<http://www.acoem.org/guidelines/article/>>. Acesso em 01 setembro 2003.
- BASFORD, J.R. Low-energy laser therapy: controversies and new research findings. **Lasers in Surgery and Medicine**, v.9, n.1, p.1-5, 1989.
- BASFORD, J.R., SHEFFIELD, C.G., MAIR, S.D. Low-energy Helium Neon laser treatment of thumb osteoarthritis. **Archives of Physical Medicine Rehabilitation**, v.68, n.11, p.794-797, 1987.
- BASKO, I.J. A new Frontier: Laser Therapy. **California Veterinarian**, v.37, n.10, p.17-18, 1983.
- BENNET, D., MAY, C. Moléstias articulares de cães e gatos. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária: Moléstias do Cão e Gato**, São Paulo: Manole, 1997, v.2, p. 2805-2866.
- BIASI, F., RAHAL, S.C., LOPES, R.S. et al. Alterações no líquido sinovial do joelho de cães com osteoartrite induzida pelo modelo Pond e Nuki. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v.53, n.5, p.563-567, 2001.
- BROSSEAU, L., WELCH, V., WELLS, G. et al. Low level laser therapy for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: A metaanalysis. **J. Rheumat.**, v.27, n.8, p. 1961-1969, 2000.
- BYERS, S., HANDLEY, C.J., LOWTHER, D.A. et al. Carrageenin-induced arthritis VI- Alterations in amino acid transport by articular cartilage in acute inflammatory arthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v.44, n.7, p.477-484, 1985.
- CREAMER, P., HOCHBERG, M.C. Osteoarthritis. **The Lancet**, v.350, n.16, p.503-508, 1997.
- CRUAÑES, J.C. **La terapia laser, hoy**. Barcelona: Centro Documentación Láser de Meditec, S.A., 1984, 164p.
- GARDNER, D.L. Production of arthritis by the local injection of the mucopolysaccharide caragheenin. **Annals Rheumatic Dis.**, v.19, p.369-376, 1960.
- GILLARD, G.C., LOWTHER, D.A. Carrageenin-induced arthritis II- Effect of intraarticular carrageenin on the synthesis of proteoglycan in articular cartilage. **Arthritis and Rheumatism**, v.19, n.5, p.918-922, 1976.
- HARRIS, D.M. Biomolecular mechanisms of laser biostimulation. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**, v.9, n.4, p.277-280, 1991.

- HILÁRIO, M. Softlaser: um novo recurso terapêutico. **Ciência Hoje**, v.7, n.40, p.8, 1988.
- JOHNSTON, S.A. Osteoartrite: Fisiopatologia e expectativas relacionadas ao tratamento. **Tópicos em Medicina Veterinária para Animais de Companhia**, v.3, n.2, p.16-25, 2001.
- KOSACHENCO, B.G., SCHIMITT, I., FRATOCCHI, C.L.G. et al. Avaliação clínico-funcional e radiológica dos efeitos da terapia laser arseneto de gálio na reparação de tecido ósseo em cães. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.17, n.2, p.79-84, 1995.
- KRAAN, P.M., VITTERS, E.L., BEUNINGEN, H.M. et al. Proteoglycan synthesis and osteophyte formation in “metabolically” and “mechanically” induced murine degenerative joint disease: an in-vivo autoradiographic study. **Int. Journal of Experimental Pathology**, v.73, n.3, p.335-350, 1992.
- LAMAS, M.C.S. **Laser a diodo de Arseneto de Gálio (As-Ga) aplicado às fraturas do terço médio do rádio em cães** [dissertação]. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1999.
- LIPOWITZ, A.J. Degenerative Joint Disease. In: SLATTER, D. **Textbook of Small Animal Surgery**, Philadelphia: Saunders, 1993, v.2, cap. 143, p. 1921-1927.
- LOWTHER, D.A., GILLARD, G.C. Carrageenin-induced arthritis I- The effect of intraarticular carrageenin on the chemical composition of articular cartilage. **Arthritis and Rheumatism**, v.19, n.4, p.769-776, 1976.
- LOWTHER, D.A., GILLARD, G.C., BAXTER, E. et al. Carrageenin-induced arthritis III- Proteolytic enzymes present in rabbit knee joints after a single intraarticular injection of carrageenin. **Arthritis and Rheumatism**, v.19, n.6, p.1287-1294, 1976.
- MARROQUIN, A.U., AJMAL, M. Carrageenin-induced arthritis in the specific pathogen free pig. **Journal of Comp. Pathology**, v.80, n.4, p.607-611, 1970.
- MCAULEY, R., YSLA, R. Soft Laser: a treatment for osteoarthritis of the knee? **Archives of Physical Medicine Rehabilitation**, v.66, n.9, p.553, 1985.
- MELO, E.G. **Sulfato de condroitina e hialuronato de sódio no tratamento da doença articular degenerativa em cães. Estudo Experimental** [dissertação]. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 2001.
- MIKAIL, S. Laser e ultra-som: novas abordagens. **Saúde Equina**, n.3, p.9, 1997.
- MILLIS, D.L., LEVINE, D. The role of exercise and physical modalities in the treatment of osteoarthritis. In: JOHNSTON, S.A. Osteoarthritis. **Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.**, v.27, n.4, p.913-930, 1997.
- MINOR, M.A., SANFORD, M.K. Physical interventions in the management of pain in arthritis. **Physical Intervention**, v.6, n.4, p.197-206, 1993.

- ODDIS, C.V. New perspectives on osteoarthritis. **Am. J. Med.**, v.100, n.6, suppl 2A, p.10s-15s, 1996.
- ORTIZ, M.C. **Efeito do laser de baixa potência sobre o processo inflamatório articular de coelhos** [dissertação]. São Carlos: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFSC, 2001.
- PALMER, J.L., BERTONE, A.L. Joint Structure, biochemical disequilibrium in synovitis and equine joint disease. **Equine Veterinary Journal**, v.26, n.4, p.263-277, 1994.
- PIERMATTEI, D.L., FLO, G.L. **Manual de ortopedia e tratamento das fraturas dos pequenos animais**, São Paulo: Manole, 1999, c.6, p. 161-176.
- PODWORNY, N.V., KANDEL, R.A., RENLUND, R.C. et al. Partial chondroprotective effect of zoledronate in a rabbit model of inflammatory arthritis. **J. Rheumat.**, v.26, n.9, p.1972-1982, 1999.
- PUETT, D.W., GRIFFIN, M.R. Published trials of nonmedicinal and noninvasive therapies for hip and knee osteoarthritis. **Annals Int. Med.**, v.121, n.2, p.133-140, 1994.
- RITSON, D.F. Lasers and Osteoarthritis. **Orthopaedics**, v.16, p.541-542, 1993.
- SANTER, V., SRIRATANA, A., LOWTHER, D.A. Carrageenin-Induced arthritis: V. A morphologic study of the development of inflammation in acute arthritis. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v.13, n.2, p.160-168, 1983.
- SCHULTZ, R.J., KRISHNAMURTHY, S., THELMO, W. Effects of varying intensities of laser energy on articular cartilage: A preliminary study. **Lasers in Surgery and Medicine**, v.5, n.6, p.577-588, 1985.
- SEITZ, L.M., KLEINKORT, M.A. Low-Power Laser: Its Applications in Physical Therapy. In: MICHLOVITZ, S.L., WOLF, S.L. **Thermal Agents in Rehabilitation**, Philadelphia: F.A. Davis Company, 1986, p. 217-238.
- SLUKA, K.A., BAILEY, K., BOGUSH, J. et al. Treatment with either high or low frequency TENS reduces the secondary hyperalgesia observed after injection of kaolin and carrageenan into the knee joint. **Pain**, v.77, n.1, p.97-102, 1998.
- SLUKA, K.A., CHRISTY M.R., PETERSON, W.L. et al. Reduction of pain-related behaviors with either cold or heat treatment in an animal model of acute arthritis. **Arch. Phys. Med. Rehab.**, v.80, n.3, p.313-317, 1999.
- SLUKA, K.A., WESTLUND, K.N. Behavioral and immunohistochemical changes in an experimental arthritis model in rats. **Pain**, v.55, n.3, p.367-377, 1993.
- SOUZA JÚNIOR, P. Osteoartrite Canina. **Prêmio de Pesquisa Waltham**, p.01-20, 1999.

TAM, G. Low Power laser therapy and analgesic action. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v.17, n.1, p.29-33, 1999.

TROYER, H. Experimental models of osteoarthritis: a review. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v.11, n.3, p. 362-374, 1982.

VAUGHAN-SCOTT, T., TAYLOR, J.H. The pathophysiology and medical management of canine osteoarthritis. **J.S. Afric. Vet. Assoc.**, v.68, n.1, p.21-25, 1997.