

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DIFERENTES TERAPIAS NA OSTEOARTRITE INDUZIDA
POR PAPAÍNA EM JOELHOS DE RATOS**

Laryssa Petrocini Rosseto

Médica Veterinária

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**DIFERENTES TERAPIAS NA OSTEOARTRITE INDUZIDA
POR PAPAÍNA EM JOELHOS DE RATOS**

Laryssa Petrocini Rosseto

Orientadora: Profa. Dra. Paola Castro Moraes

Coorientador: Prof. Dr. Luis Gustavo Gosuen Gonçalves Dias

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área: Cirurgia Veterinária

2016

R829d Rosseto, Laryssa Petrocini
Diferentes terapias na osteoartrite induzida por papaína em joelhos
de ratos / Laryssa Petrocini Rosseto. – – Jaboticabal, 2016
viii, 107 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientadora: Paola Castro Moraes
Coorientador: Luis Gustavo Gosuen Golçalves Dias
Banca examinadora: Geórgia Modé Magalhães, Annelise Carla
Camplesi dos Santos.
Bibliografia

1. Laser. 2. PRP. 3. Sinovite. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.72:599.323

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DIFERENTES TERAPIAS NA OSTEOARTRITE INDUZIDA POR PAPAÍNA EM JOELHOS DE RATOS

AUTORA: LARYSSA PETROCINI ROSSETO

ORIENTADORA: PAOLA CASTRO MORAES

COORIENTADOR: LUIS GUSTAVO GOSUEN GONÇALVES DIAS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. PAOLA CASTRO MORAES
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV/UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. GEORGIA MODÉ MAGALHÃES
Universidade de Franca / UNIFRAN - Franca/SP


Profa. Dra. ANNELISE CARLA CAMPLESI DOS SANTOS
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV/UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 26 de fevereiro de 2016

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Laryssa Petrocini Rosseto, filha de Marcos Rosseto e Maristela Petrocini Brizante Rosseto, nasceu em Morro Agudo – SP, no dia 21 de dezembro de 1984, é médica veterinária graduada pelo Centro Universitário Barão de Mauá- Ribeirão Preto – SP, em dezembro de 2007. Aprimoramento em Clínica Médica e Cirúrgica em Pequenos Animais pelo Centro Universitário Barão de Mauá, Ribeirão Preto- SP, em fevereiro de 2010. É pós-graduada lato sensu em Fisioterapia Veterinária pelo Instituto Bioethicus, Botucatu -SP em junho de 2010, e pós-graduada lato sensu em Acupuntura Veterinária pelo Instituto Bioethicus, Botucatu – SP em agosto de 2013. Atualmente atua como médica veterinária fisioterapeuta e acupunturista na Fisiopet- Ribeirão Preto- SP desde 2010 até dias atuais. Ingressou no curso de mestrado pelo programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária da FCAV- Unesp, Jaboticabal em 2014 sob orientação da Profa. Dra. Paola Castro Moraes.

EPÍGRAFE

“Todo o conhecimento é uma resposta a uma pergunta”
(G. Bachelard)

DEDICATÓRIA

Dedico a todos que me apoiaram e incentivaram para a realização deste projeto, em especial aos meus pais Marcos Rosseto e Maristela Petrocini B. Rosseto, e ao meu namorado Jalter Roberto da Silva, que pacientemente me auxiliaram e acreditaram na realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por me permitir ter condições para esse trabalho.

Agradeço, de uma forma especial, a minha orientadora Profa. Dra. Paola Castro Moraes pela sua amizade, incentivo, orientação profissional.

Aos meus familiares pelo incentivo e força para a minha formação.

Às minhas amigas e companheiras de experimento Patrícia, Aline e Andréia, que me auxiliaram ativamente durante o processo de todo o trabalho.

À Denise por sempre se preocupar comigo e me apoiar nas horas que mais precisei.

Ao Prof. Dr. Luis Gustavo Gosuen Gonçalves Dias por aceitar a ser meu coorientador.

Àqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), ao Laboratório de Fisiologia (LAFEA), em especial ao Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz por me aceitar em seu laboratório em contribuir para a melhoria deste trabalho.

Ao Serviço de Patologia da Universidade de Franca (UNIFRAN), em especial à Profa. Dra. Geórgia Modé Magalhães por contribuir nas análises histopatológicas apresentados neste trabalho.

E a CAPES que colaborou para que este trabalho fosse realizado.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE ABREVIACÕES.....	v
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 Osteoartrite.....	03
2.2 Laser.....	05
2.3 Ultrassom terapêutico.....	07
2.4 Plasma Rico em Plaquetas.....	09
2.5 Termografia.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1 Aspéctos éticos.....	12
3.2 Animais e grupos experimentais.....	12
3.3 Anestesia e indução da osteoartrite.....	16
3.4 Protocolo de tratamento.....	16
3.4.1 Ultrassom terapêutico	16
3.4.2 Laser.....	17
3.4.3 Coleta e preparo do plasma rico em plaquetas (PRP).....	17
3.5 Avaliações.....	18
3.5.1 Avaliação da perimetria	18
3.5.2 Avaliação câmara termográfica (CT).....	18
3.6. Eutanásia e obtenção de material para análise.....	20
3.7 Análise macroscópica.....	20
3.8 Análise microscópica	20
3.9 Análise estatística.....	22
4. RESULTADOS.....	23
4.1 Técnica de indução da osteoartrite.....	23
4.2 Processo de preparação do PRP.....	23

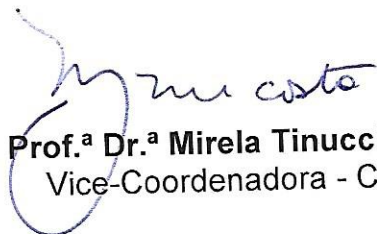
4.3 Interação entre grupo e momento nas avaliações perimétricas e termográficas.....	24
4.4 Avaliação da perimetria	25
4.5 Avaliação câmera termográfica.....	27
4.6 Análise macroscópica	29
4.7 Análise histopatológica	30
4.7.1 Avaliação histopatológica com coloração HE.....	30
4.7.2 Avaliação histopatológica com coloração Picrosirius.....	38
5. DISCUSSÃO	40
6. CONCLUSÃO	51
7. REFERÊNCIAS.....	51
8. APÊNDICES.....	62
8.1 Apêndice A.....	62
8.2 Apêndice B.....	83

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 04179/14 do trabalho de pesquisa intitulado **"Estudo comparativo do ultrassom terapêutico e da terapia de laser de baixa intensidade na osteoartrite induzida em ratos"**, sob a responsabilidade da Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 11 de março de 2014.

Jaboticabal, 11 de março de 2014.



Prof.^a Dr.^a Mirela Tinucci Costa
Vice-Coordenadora - CEUA

DIFERENTES TERAPIAS NA OSTEOARTRITE INDUZIDA POR PAPAÍNA EM JOELHOS DE RATOS.

RESUMO - Devido ao aumento da expectativa de vida dos animais e o crescente número de pessoas, a osteoartrite (OA), também conhecida como artrose, surge como uma das afecções mais relevantes na medicina veterinária e humana. Diversos tratamentos são utilizados e propostos, porém não há ainda consenso sobre a melhor terapia. Objetivou-se investigar e comparar a eficácia do Laser de baixa intensidade e o ultrassom terapêutico em conjunto com plasma rico em plaquetas (PRP), no tratamento da osteoartrite induzida em joelhos de ratos. Foram utilizados 72 ratos distribuídos aleatoriamente em nove grupos de oito animais: Grupo Controle (GC), Grupo solução fisiológica (GCF), Grupo osteoartrite 21 dias (GOA21), Grupo osteoartrite 42 dias (GOA42), Grupo osteoartrite e Laser (GOALa), Grupo osteoartrite e Ultrassom terapêutico (GOAUS), Grupo osteoartrite e PRP (GOAPrp), Grupo osteoartrite, PRP e Laser (GOAPrpLa) e Grupo osteoartrite, PRP e ultrassom terapêutico (GOAPrpUS). Foi realizada infiltração intra-articular de papaína 4% e cisteína 0,03M e, 21 dias após a indução, iniciou-se tratamento por três semanas com laser, ultrassom e/ou PRP. Foram realizadas avaliações perimétricas, termográficas, macro e microscópicas. Os resultados mostraram interação significativa entre os grupos em relação ao tempo para as avaliações perimétricas e termográficas, comprovando que a termografia foi eficaz para avaliar o comportamento da inflamação articular. Não foram observadas alterações macroscópicas na cartilagem articular em nenhum animal, fato este confirmado na avaliação histopatológica, onde evidenciou-se distensão e inflamação da cápsula articular, indicando a presença de sinovite. Com base nos resultados foi possível concluir que a aplicação de uma única dose de papaína 4% intra-articular não é suficiente para induzir a osteoartrite em joelhos de ratos, e sim sinovite. Além disso, os melhores resultados obtidos para a inflamação da sinóvia foram com o uso de PRP isolado ou combinado com laser.

Palavra-chave:

Laser, sinovite, PRP, termografia, ultrassom terapêutico.

THERAPIES IN DIFFERENT OSTEOARTHRITIS INDUCED PAPAIN KNEES IN RATS.

ABSTRACT - Due to increasing life expectancy of animals and the growing number of people, osteoarthritis (OA), also known as arthrosis, appears as one of the most important diseases in veterinary and human medicine. Several treatments are use and proposed, but there is no consensus about the best therapy. This study aimed to investigate and compare the efficacy of Low-level laser therapy and therapeutic ultrasound in conjunction with platelet-rich plasma (PRP) in the treatment of osteoarthritis induced in rats' knees. Randomly were used 72 mice divided into nine groups of eight animals: Control Group (CG), group saline (GCF), Group osteoarthritis 21 days (GOA21), Group osteoarthritis 42 days (GOA42), Group osteoarthritis and Laser (GOALa), Group osteoarthritis and therapeutic Ultrasound (GOAUS), osteoarthritis and PRP Group (GOAPrp), osteoarthritis Group, PRP and Laser (GOAPrpLa) and Group osteoarthritis, PRP and therapeutic ultrasound (GOAPrpUS). It was performed intra-articular infiltration of papain and cysteine 0.03M 4% and 21 days after the induction started three weeks treatment with laser, ultrasound and / or PRP. Evaluations were performed perimeter, thermographic, macro and microscopic. A significant interaction between the groups with respect to time to the perimeter and thermographic ratings, proving that thermography was effective to evaluate the behavior of articular inflammation. Macroscopic changes were observe in the articular cartilage in any animal, a fact confirmed in the histopathological evaluation, which showed up distension and inflammation of the joint capsule, indicating the presence of synovitis. Based on these results it was conclude that the application of a single dose of 4% papain intraarticular is not sufficient to induce osteoarthritis in the knees of mice, but synovitis. In addition, the best results to inflammation of the synovium were using PRP alone or in combination with a laser.

Keyword:

Laser, synovitis, PRP, thermography, therapeutic ultrasound.

LISTA DE ABREVIATURAS

μL- Microlitros

AH - Ácido hialurônico

AINEs - Anti-inflamatórios não esteroidais

ANOVA- análise de variância de medidas repetidas

ATP- Trifosfato de adenosina

Ca⁺- Cálcio

Cm- Centímetros

DNA- Ácido a desoxirribonucleico

EDTA- ácido etilenodiamino tetra acético

EGF- Fator de crescimento epidermal

ERA- área efetiva de radiação

GaAs- Arsenieto de gálio

GC- Grupo controle

GCF- Grupo Controle Solução NaCl 0,9%

GOA21- Grupo com osteoartrite eutanásia 21 dias

GOA42- Grupo com osteoartrite eutanásia com 42 dias

GOALa- Grupo com osteoartrite tratado com Laser

GOAPrp Grupo com osteoartrite tratado com plasma rico em plaqueta

GOAPrpLa- Grupo com osteoartrite tratado com PRP e Laser

GOAPrpUS- Grupo com osteoartrite tratado com PRP e ultrassom terapêutico

GOAUS- Grupo com osteoartrite tratado com ultrassom terapêutico.

H.E.- Hematoxilina e eosina

H⁺- Hidrogênio

Hz- Hetz

IGF-Fator de crescimento semelhante a insulina

IL-1RA- Antagonista do receptor de interleucina-1

IL-1α- Interleucina 1 alfa

IL-1β- Interleucina 1 beta

IR- *infra-red*

J- Joules

LTBI- Laserterapia de baixa intensidade

M- Metros

MEC- Matriz extracelular da cartilagem

mEq- miliequivalente

MHz- Megahertz

Min- Minuto

ML- Mililitros

MMP- Metaloproteinase

mW- miliwatts

NaCl- cloreto de sódio

Nm- Nanômetros

NS- Nanossegundo

OA- Osteoartrite

OC- Osteocalcina

ON- Osteonectina

PDGF- Fator de crescimento derivado de plaqueta

PF4- Fator plaquetário 4

PG- Proteoglicanos

PRP- Plasma rico em plaqueta

PZT- chumbo, zircônio e titânio

RNA- Ácido ribonucleico

RPM- Rotações por minuto

TGF- Fator de crescimento transformador

TGF- B1- Fator de crescimento transformador beta 1

TIMP-1- Inibidores da metaloproteinase 1

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa

TNF-RI- Receptor do fator de necrose tumoral 1

TSP-1- Trombospondina-1

UST- Ultrassom terapêutico

VEGF- Fator de crescimento do endotélio vascular

W- Watts

λ - Comprimento de onda (*lambda*)

1. INTRODUÇÃO

Devido ao aumento da expectativa de vida dos animais e o crescente número de indivíduos obesos e sedentários, a osteoartrite (OA), também conhecida como artrose, surge como uma das afecções mais relevantes na medicina veterinária e humana. A OA é definida, segundo o Colégio Americano de Reumatologia, como o conjunto de alterações na cartilagem articular e na margem do osso subcondral, produzindo sinais e sintomas que muitas vezes levam a perda ou a diminuição da função articular (ALTMAN et al., 1986). A OA não se limita somente à cartilagem articular, mas afeta todas as estruturas adjacentes como ligamentos, membranas sinoviais, meniscos e músculos periarticulares (ARDEN; LEYLAND, 2013; LOESER, 2013). Apresenta alta incidência em humanos e animais, especialmente, caninos e equinos, sendo considerada uma das afecções mais comuns nestas espécies (BROOKS, 2002; LEITE, 2011; RASERA et al., 2007).

Recentemente, por meio de novas pesquisas, comprovou-se que a cartilagem é um tecido metabolicamente ativo, possuindo capacidade de regenerar-se através da produção de tecido fibrocartilaginoso ou por mitose dos condrócitos, substituindo o tecido cartilaginoso lesado. Esse processo de reparação pode ser estimulado de diversas formas, dentre elas por meio de equipamentos fisioterápicos (como terapia de laser de baixa intensidade ou ultrassom terapêutico) ou pela aplicação intra-articular de substâncias capazes de promover a proliferação celular como plasma rico em plaquetas (PRP) (ALVES, 2012; REZENDE et al., 2011; SPAKOVÁ et al., 2012).

Além da cartilagem articular, a membrana sinovial vem gerando relevante destaque nos estudos atuais. Muito se discute e pouco se sabe como a membrana sinovial seria capaz de influenciar no processo de OA. Ayral et al. (2005) sugere que o aspecto inflamatório da sinóvia poderia ser considerado como um fator preditivo do subsequente aumento da condropatia.

Técnicas diagnósticas como tomografia computadorizada e ressonância magnética visibilizam com maior exatidão as lesões ocasionadas pela OA nas superfícies articulares, meniscos e ligamentos. São técnicas usadas com maior

frequência na medicina humana, porém menos utilizadas na medicina veterinária (MOSHER et al., 2013).

Outras técnicas de avaliação estão sendo desenvolvidas para auxiliar o diagnóstico precoce de OA de uma forma pouco invasiva e objetiva. Câmeras infravermelhas ou *infra-red* (IR) passaram a ser ferramentas úteis para o diagnóstico de OA. Trata-se de uma câmera que capta e transforma essencialmente a radiação infravermelha emitida naturalmente pela superfície corpórea. Apesar de fornecer apenas imagem da temperatura da pele, fornece uma imagem térmica de forma segura, inofensiva e rápida (RING; AMMER, 2012; VARJU et al., 2004).

O tratamento da OA, na maioria das vezes, consiste em tratar os sinais clínicos de modo conservador, uma vez que ainda não existe tratamento eficaz capaz de reverter totalmente os danos causados na cartilagem. Na rotina veterinária, o tratamento clínico consiste no uso oral de analgésicos, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e suplementação com condroprotetores como sulfato de condroitina e glicosamina (COIMBRA et al., 2004; LINDLEY; WATSON, 2010). No entanto, o uso prolongado desses fármacos pode, na maioria das vezes, ocasionar distúrbios gastrointestinais e ter menor aceitação pelos pacientes com histórico de doenças hepáticas e renais (LINDLEY; WATSON, 2010).

Na tentativa de encontrar melhores protocolos terapêuticos para a OA, novas técnicas são estudadas no intuito de conseguir uma resposta regenerativa da matriz extracelular da cartilagem (MEC) e reduzir a perda de cartilagem articular. A aplicação de substâncias intra-articulares mostrou-se eficaz no controle da dor e no aumento da capacidade regenerativa cartilaginosa. Em estudos com coelhos, o uso de ácido hialurônico (AH), bloqueadores de citocinas e plasma rico em plaquetas (PRP), se mostrou eficaz no controle da OA e na involução dos sinais clínicos (ALBANO et al., 2010; REZENDE et al., 2011).

Na hipótese de que terapias como o Laser e ultrassom podem auxiliar no tratamento de osteoartrite e que vários trabalhos mostram a ação benéfica do PRP intra-articular para a mesma afecção, a associação entre essas terapias seria benéfica? Haveria somatória dos efeitos?

No intuito de responder a essas questões, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito das terapias com Laser, ultrassom e PRP xenógeno na osteoartrite

induzida por papaína 4% em joelhos de ratos Wistar e a eficácia das possíveis interações do PRP xenógeno com aparelhos fisioterápicos. Avaliou-se também como o tratamento fisioterápico e PRP podem influenciar nas análises termográficas e histopatológicas na infiltração de papaína em joelhos de ratos.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Osteoartrite

Em estudos mais recentes, houve aumento na prevalência da OA nas últimas décadas na medicina humana, resultantes das alterações mecânicas e/ou biológicas geradas pelo desequilíbrio entre a matriz extracelular da cartilagem e do osso subcondral. Os múltiplos fatores desencadeantes como fatores genéticos, alterações metabólicas como a obesidade, redução da força muscular, e o próprio processo de degeneração secundário ao envelhecimento afetam principalmente as articulações dos joelhos, quadril, carpo e coluna (ARDEN; LEYLAND, 2013; LOESER, 2013). De acordo com Sandell (2012) nos homens, a OA pode ter um componente hereditário considerável, e análises genéticas revelaram genes associados com OA relacionada com o processo de desenvolvimento da articulação sinovial, podendo as mutações nesses genes causar diretamente OA. Além disso, estes genes poderiam determinar a idade em que se torna aparente a OA, os locais de articulação envolvida, a gravidade da doença e quão rapidamente ele progride. A OA, quando em fase inicial, o paciente pode apresentar-se assintomático, mas quando apresenta-se sintomático pode apresentar perda funcional do membro, dor frequente e queda na qualidade de vida.

A articulação saudável apresenta uma cartilagem com matriz extracelular (MEC) abundante e altamente hidratada, com pouca concentração de condrócitos os quais apresentam apenas cerca de 1 a 2% do volume total da cartilagem. 70% do peso da cartilagem é água, e mais de 90% do seu peso seco corresponde aos dois principais componentes de sua MEC, o colágeno tipo II e o agrecan (GOLDRING; GOLDRING, 2005). Agrecan é um proteoglicano de molécula complexa, possuindo um centro proteico, capaz de compor um complexo ternário na cartilagem, composto de agrecan, ácido hialurônico e proteína de ligação (JUNIOR, 2007). Diversas moléculas participam, em minoria, da formação do MEC. A cartilagem inclui os

colágenos menores (tipo VI, IX, X, XI, XII e XIV), proteoglicanos (decorina, biglican, perlecan, versican), ácido hialurônico, proteínas de ligação, dentre outras. Enquanto que o colágeno tipo II forma o arcabouço das fibrilas, o colágeno tipo XI está localizado no seu interior, sendo primordial para a fibrinogênese. Na superfície das fibrilas o colágeno tipo IX atua interligando diferentes fibrilas de colágeno entre si e com o colágeno tipo II, participando também da interação das fibras colágenas com proteoglicanos (PG) e outros elementos da matriz extracelular (GOLDRING; GOLDRING, 2005).

A OA inicialmente, apresenta lesões bem localizadas e focais, indicando na maioria das vezes, uma área de maior sobrecarga mecânica na superfície da articulação. Inicialmente existe a degradação das fibras de colágeno tipo II, localizadas na superfície articular e pericelular. A medida que a doença progride, as lesões se estendem horizontalmente e progressivamente. De acordo com a gravidade do processo, existe a perda de áreas mais profundas, resultando na exposição do osso subcondral. Esta progressão pode ser graduada de forma semi-quantitativa, o que permite uma avaliação da evolução da OA (CASTRO, 2008; PRITZKER et al., 2006).

A degradação e remodelação da matriz extracelular da cartilagem (MEC) ocorrem quando existe desequilíbrio nas atividades de algumas proteases, em particular das metaloproteinases de matriz (MMPs), que degradam os constituintes da MEC. A progressão lenta da OA é explicada pela intensa atividade tanto pelos catabólicos (degradação condrócitos) como anabólicos (tentativa de reparo dos condrócitos) (LOESER, 2013; REDDI, 2003; ROSA, 2009).

Segundo Pelletier (2004) a inflamação da membrana sinovial pode ter relação com a progressão das lesões da cartilagem, onde possíveis fragmentos formados pela proteólise poderiam provocar a inflamação sinovial, piorando a degradação da cartilagem, gerando um ciclo vicioso. As características inflamatórias que a membrana sinovial pode apresentar são: espessamento da camada interna, formação de agregados linfóides e angiogênese. A sinóvia artrítica produz mediadores inflamatórios como IL-1 α , IL-1 β e TNF- α (HAYWOOD et al., 2003).

No entanto, há evidências crescentes de que a inflamação da sinóvia desempenha um papel importante em todas as fases do processo patogênico da OA,

incluindo as fases iniciais da doença. Provavelmente a sinovite tem um papel etiológico no aparecimento da OA, podendo ser um precursor em vez de apenas uma consequência da OA. Em um estudo, foram avaliados joelhos de 120 pacientes com histórico clínico de traumas, pós cirurgicos ou artroscopia, e/ou com algum grau de sintomatologia de OA inicial, mas com escore de Kellgre Lawrence igual a 0 (sistema de grau radiológico de osteoartrose que varia de 0 para ausência de alterações a 4 com alterações radiográficas severas). Estes pacientes foram avaliados anualmente por radiografias e ressonância magnética por 4 anos. Nas ressonâncias foram verificadas a presença de efusão sinovial e síndrome de Hoffa (inflamação da gordura infrapatelar) antes mesmo do aparecimento de sinais radiográficos, e que posteriormente evoluíram para OA com presença de alterações radiográficas. O estudo concluiu que a presença da sinovite aumenta o risco de perda de cartilagem e que pode ser fator de aceleração de inflamação no início da doença (ATUKORALO et al., 2015).

2.2 Laser

Na constante busca por técnicas terapêuticas menos invasivas e mais eficazes para OA, o laser tem se destacado por minimizar os efeitos da inflamação tecidual por meio de bioestimulação celular, tendo como consequência, o controle da dor e do edema e por acelerar processos cicatriciais, atuando no tecido lesionado sem causar efeitos colaterais ou deletérios aos tecidos circunvizinhos (GUSMÃO, 2011; TUNÉR; HODE, 2010).

O termo LASER vem de um acrônimo de "*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*" ou "Luz Amplificada por Emissão Estimulada de Radiação". Os primeiros estudos sobre os efeitos terapêuticos do feixe de luz começaram por volta de 1960, enfatizando no tratamento de lesões de pele e analgesia. A medida que os estudos avançaram, novos efeitos foram reportados, aumentando o interesse científico sobre a terapia por emissão de luz (GUSMÃO, 2011; TUNÉR; HODE, 2010).

Para que ocorra o efeito fotobiomodulador ou fotobioestimulativo, o laser deve ser capaz de atingir as organelas celulares, como mitocôndria e a membrana celular. Cromóforos e citocromos da cadeia respiratória, presentes nas membranas celulares e mitocôndrias são estimulados por fótons, ativando e iniciando a produção de

trifosfato de adenosina (ATP), modificando o transporte iônico, aumentando em curto prazo a glicólise, a oxidação fosforilativa e posteriormente a replicação do ácido desoxirribonucleico (DNA). As mitocôndrias quando irradiadas com fótons, são induzidas a alterações na homeostasia celular, levando à uma cascata de reações que ativa a cadeia respiratória. Segundo Farivar, Malekshahi e Shiari (2014), a laserterapia de baixa intensidade (LTBI) a curto prazo altera as curvas de íons hidrogênio (H^+) intracelular, altera a permeabilidade da membrana celular aumentando o influxo de cálcio (Ca^{++}) para o meio intracelular. As concentrações altas de Ca^{++} intracelular modulam a síntese de DNA e do ácido ribonucleico (RNA). Os fótons estimulam a produção de ROS (espécies reativas de oxigênio) em baixa quantidade, que ativa os fatores de transcrição, e induzem a transcrição de genes responsáveis pelos efeitos benéficos da LTBI. ROS em níveis baixos estimulam a proliferação celular, mas pode inibir a proliferação e matar células quando em níveis elevados. O óxido nítrico também está envolvido no LTBI, no qual participam na cadeia respiratória e contribuem para a vasodilatação local (FARIVAR; MALEKSHAHABI; SHIARI, 2014). Outras enzimas também são ativadas com os fótons, desencadeando reações químicas no organismo e a liberação de substâncias pré-formadas como a serotonina e opióides endógenos. Os efeitos fotofísicos, fotobiológico e fotoquímicos gerados atingem não somente a área irradiada, mas também tecidos adjacentes. Podemos dizer que os efeitos fotobiológicos possuem ação direta e indireta. Os efeitos diretos são observados durante a irradiação, na qual envolve a síntese de ATP e a fotoestimulação da taxa respiratória. Os efeitos indiretos são observados horas ou até mesmo dias após a irradiação, como os efeitos analgésicos, anti-inflamatório e cicatrizante (TUNÉR; HODE, 2010).

As lesões na cartilagem, um tecido com limitações na regeneração, são um desafio para o clínico e vários protocolos terapêuticos são propostos para o tratamento deste tipo de afecção. A LTBI é uma das opções que vem se mostrando eficaz e não invasivo. Os protocolos utilizados são os mais variados e o interesse vai desde a regeneração cartilaginosa até os efeitos analgésicos e anti-inflamatórios que LTBI possui (TUNÉR; HODE, 2010).

Mangueira et al. (2015) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar as alterações bioquímicas associadas com Laser usando 660 e 780 nm, em modelo

experimental de OA em joelhos de ratos induzida com collagenase. Na avaliação por histomorfometria e por bandas Raman foi observado que a LTBI acelerou a decomposição inicial de cartilagem destruída por collagenase e estimulou fibroblastos a sintetizar a reparação do colágeno III, o que sugere efeito benéfico de LTBI na OA.

Na tentativa de avaliar os efeitos analgésicos e a biomodulação sobre a microcirculação que o LTBI gera, Hegedüs et al. (2009) utilizaram termografia para a avaliação de pessoas com osteoartrite no joelho separados em grupos placebo e grupo tratados com laser. Foi utilizado laser de 830 nm contínuo, na dose de 6J/ponto e termografia antes do exame, imediatamente após, 2 semanas, e 2 meses depois de completar a terapia. A flexão da articulação, circunferência, e sensibilidade à pressão foram medidos para verificar os efeitos analgésicos. Concluíram que no grupo tratado com LTBI houve redução da dor e melhora a microcirculação da região tratada.

Assis et al. (2015), verificaram os efeitos do treinamento físico aeróbio e da LTBI sobre as lesões degenerativas e sobre os mediadores inflamatórios na cartilagem articular, utilizando um modelo experimental de OA em ratos. Após a indução por ruptura do ligamento cruzado cranial, os grupos tratados com treinamento físico (esteira, 16 m / min; 50 min / dia) associado com laser 808 nm na dose de 50 J/cm², 3 dias / semana, foram avaliados e demonstraram melhor padrão de organização do tecido em comparação com o grupo OA não tratado, sugerindo que o treinamento físico e a LTBI foram eficazes na prevenção da degeneração da cartilagem e na modulação do processo inflamatório.

Em contrapartida, um estudo retrospectivo de 612 artigos publicados entre 2000 e 2014 sobre a eficácia do laser em joelhos com OA nenhuma diferença significativa foi identificada nos estudos conforme a Associação Mundial de Laser Terapia, não comprovando a eficácia do LTBI como uma terapia para pacientes humanos com OA em joelhos (HUANG et al., 2015).

2.3 Ultrassom terapêutico

O ultrassom terapêutico (UST) é definido como ondas acústicas de alta frequência. Essas ondas são produzidas por um transdutor, normalmente de quartzo ou cerâmica sintética chamada PZT (chumbo, zircônio e titânio), que vibra e transmite ondas acústicas longitudinais absorvidas pelo tecido por meio de gel condutor. As

ondas variam de 1 a 3MHz podendo produzir efeitos térmicos e não térmicos, que respectivamente determinam a penetração da onda em profundidades que variam entre 2 a 5 cm e 0,5 a 3 cm (AGNES, 2010; LEVINE et al., 2008).

A absorção das ondas sonoras ocorre através de um meio que recebe e a transforma em energia cinética, podendo ser total ou parcial. A capacidade de absorção dos tecidos é um importante fator para que a energia aplicada resulte em um efeito terapêutico. Os tecidos com maior quantidade proteica absorverão melhor as ondas sonoras comparado aos tecidos com alto teor de água, como sangue e gordura. Sendo assim, os tecidos foram classificados de acordo com o coeficiente de absorção acústica, onde os melhores absorventes são os tecidos com alto conteúdo colágeno, como ligamento, tendão, fáscia, cápsula articular e tecido cicatricial (AGNES, 2010).

O UST possui dois efeitos distintos, podendo funcionar como efeito térmico ou diatermia e efeitos atérmicos ou mecânicos e biológicos. Os efeitos térmicos produzidos aumentam a extensibilidade do colágeno, do fluxo sanguíneo, aumentam a velocidade de condução do estímulo nervoso, aumenta a atividade enzimática e macrofágica e o limiar de dor. Os efeitos não térmicos são resultado da vibração molecular gerada pelas ondas acústicas, provocando compressão e rarefação. Esse fenômeno é chamado de corrente acústica. Os efeitos não térmicos incluem alterações na permeabilidade da membrana celular aumentando o influxo de Ca^{++} intracelular, na fagocitose, aumento da liberação de histamina e o aumento da liberação de fatores de crescimento estimulando a deposição de colágeno, angiogênese e proliferação de fibroblasto (AGNES, 2010).

Comparando a eficiência do UST contínuo e pulsado em tendões, Bertoline et al. (2012) verificaram dois protocolos de ultrassom terapêutico sobre dor e edema em tendões de ratos após trauma. Verificaram que o UST causou diminuição de dor e edema, principalmente na forma pulsada.

Coradine et al. (2013) avaliaram a eficácia do UST e da LTBI para o controle da dor musculoesquelética em ratos com hiperestesia induzida. Foram avaliados os efeitos antinociceptivos do laser e do UST separadamente ou em conjunto. Os animais tratados com UST receberam a dose de 1 MHz, 0,4 W/cm² e os animais com LTBI receberam a dose de 830 nm, 8 J/cm². Utilizou-se como agente indutor de

hiperestesia 100 µL de solução de formalina 5% no joelho direito. Ao avaliar os efeitos das terapias, os autores verificaram que as terapias quando utilizadas de forma isolada apresentavam melhores resultados do que quando usadas em associação. Ambas as modalidades apresentaram efeitos analgésicos, porém o UST demonstrou ser mais eficaz que a LTBI.

Um estudo recente foi feito para avaliar os efeitos e mecanismo do ultrassom pulsado de baixa intensidade sobre a matriz extracelular de joelhos com OA em coelhos. Sessenta coelhas adultas foram induzidas a OA pelo método Hulth e duas semanas após a indução, os coelhos no grupo experimental foram tratados com ultrassom e no grupo controle foi realizada a mesma metodologia de indução, porém sem a produção de energia (aparelho desligado). Observou-se que no grupo experimental a OA foi mais discreta do que no grupo controle, provavelmente pelo uso da terapia por ultrassom (XU et al., 2014).

Zhang et al. (2015) realizaram uma revisão de artigos que exploravam os efeitos do UST sobre a dor, atividade funcional do membro e a segurança de aplicação em joelhos humanos com OA. Os autores verificaram 10 artigos nas quais possuíam ensaios clínicos controlados em pacientes com OA em joelhos, e concluíram que o UST mostrou ter um efeito positivo sobre a dor e a função física. A escala de dor dos pacientes foi avaliada através de questionários aplicados e por avaliação da capacidade funcional do indivíduo.

Carlos, Belli e Alfredo (2012) compararam a eficácia das terapias do UST contínuo com UST pulsado associado com a exercício na redução da dor, melhora da amplitude de movimento, força muscular, qualidade de vida e funcionalidade de pacientes humanos com OA em joelhos. Na comparação intergrupos, o Grupo UST contínuo apresentou melhora significativa quando comparado aos demais grupos quando associado a exercícios.

2.4 Plasma Rico em Plaquetas (PRP)

De acordo com Mehexas et al. (2015) o plasma rico em plaquetas (PRP) é um derivado autólogo do sangue total, que contém concentrações elevadas de vários fatores de crescimento, em especial o fator de crescimento transformador beta 1 (TGF-B1) que influencia na cura de tecidos como tendão, ligamento, músculo, e ossos.

Devido ao potencial destes fatores, vários estudos são realizados investigando a sua eficácia no tratamentos de diversas afecções osteomusculares degenerativas, incluindo a OA. Além dos fatores de crescimento, o PRP também demonstra potencial para diminuição mediadores pró-inflamatórios .

Quando o PRP é aplicado de forma intra-articular, trombinas endógenas são liberadas pelo tecido ou cartilagem lesionada, estimulando as plaquetas a liberarem fatores de crescimento por degranulação. Dos diversos mediadores liberados, alguns agem como agentes anticatabólico e anti-inflamatório, como: fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF), receptores solúveis do fator de necrose tumoral (TNF-RI), antagonistas do receptor de interleucina-1 (IL-1RA), fatores de crescimento do endotélio vascular (VEGF), fator de crescimento transformador (TGF), fator plaquetário 4 (PF4), fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento semelhante a insulina (IGF), osteocalcina (Oc), osteonectina (On), fibrinogênio, vitronectina, fibronectina e trombospondina-1 (TSP-1). O TNF-RI e IL-1RA, respectivamente inibem a sinalização de substâncias pró-inflamatórias e de apoptose. Atuando como inibidor da lesão cartilaginosa, o TGF-1 age também como regulador dos genes inibidores da metaloproteinases (TIMP-1), aumentando a concentração deste gene. Os elementos IGF-1, PDGF e TGF-1, aumentam a proliferação de condrócitos, auxiliam na regulação metabólica do osso subcondral, favorecendo a preservação da cartilagem, através da homeostase entre a síntese e a degradação dos proteoglicanos. Do mesmo modo, foi visto que o PDGF possui capacidade de estimular fibroblastos sinoviais a produzir AH (KNOP; PAULA; FULLER, 2015).

Em um aspecto geral, a maioria dos trabalhos que revisaram artigos sobre PRP intra-articular, demonstraram bons resultados quanto ao controle da dor e função em pacientes humanos com OA sintomáticos, com melhoria significativa de até 12 meses. Porém muitos parâmetros são discutidos, como uso comparativo entre ácido hialurônico e PRP, a ausência de padrão no processo de obtenção do PRP, assim como a ausência de padrão dos pacientes tratados. A deficiência de evidências consistentes sobre a ação do PRP sobre a cartilagem articular nos exames de imagem também é um fator conflitante (KNOP; PAULA; FULLER, 2015; LAI et al., 2015; MEHEUX et al., 2015).

Em um modelo de estudo com cães, utilizou-se PRP leucoreduzido para avaliar a eficiência no controle da dor, cicatrização meniscal e melhora funcional em joelhos com ruptura de ligamento cruzado cranial. As cinco injeções intra-articulares de PRP feitas com redução de leucócitos obtiveram efeitos benéficos para a cicatrização da cartilagem, melhora da amplitude articular, diminuição da dor e melhora da função do membro por um tempo superior a seis meses neste modelo (COOK et al., 2015).

Görmeli et al. (2015), comparam a eficácia de aplicações únicas ou múltiplas de PRP intra-articular, assim como a aplicação de AH em diferentes estágios de OA em joelhos de pacientes humanos. Pacientes com OA inicial apresentaram boa resposta quando tratados com múltiplas aplicações intraarticulares de PRP e AH, mas para OA avançada não houve melhora significativa entre os resultados clínicos dos pacientes.

Em outro estudo foi avaliado se o PRP intra-articular poderia reduzir a apoptose pós-traumática de condrócitos em coelhos, utilizando PRP humano. Comparou-se o uso de PRP com solução fisiológica intra-articular pós-trauma, e concluiu-se que a injeção intra-articular de PRP feita imediatamente após trauma, reduziu as taxas de apoptose de condrócitos de coelhos (REZENDE et al., 2011).

2.5 Termografia diagnóstica

A termografia por infravermelho é um exame complementar de imagem, e vem sendo usada como uma importante ferramenta, auxiliando no diagnóstico de afecções musculoesqueléticas tanto na medicina humana quanto na veterinária. Porém, a avaliação pela termografia ainda está susceptível a variações de métodos. A falta de métodos precisos para a utilização clínica no diagnóstico de fenômenos fisiológicos anormais, dificulta a padronização e a correta interpretação da termografia. A avaliação da temperatura superficial da pele é intimamente dependente das condições ambientais e do metabolismo do indivíduo (DELLA NINA, 2012; DENOBLE, 2010).

Brioschi (2011) teve como objetivos verificar e propor uma normalização térmica cutânea considerando temperatura ambiente e do paciente humano para estudo termográfico infravermelho. Foram avaliados com sucesso alterações em pacientes com tumor de mama e doenças benignas da mama (displasia mamária,

cistos, mastite), artrite em joelhos, síndrome de dor miofascial, síndrome fibromiálgica, febre e amputação parcial de extremidade sugerindo que o uso de câmera termográfica é viável e eficaz para diagnóstico de enfermidades que comumente causam anormalidades na distribuição de temperatura cutânea.

Avaliação termográfica permite uma avaliação rápida, não invasiva e sem contato, possibilitando avaliação mais completa de pacientes que, algumas vezes, são de difícil manejo (DELLA NINA, 2012). Całkosiński et al. (2015) induziram experimentalmente reações inflamatórias em diferentes áreas em ratos para avaliação termográfica em diferentes estágios. Concluiu-se que a análise termográfica permite indicar a presença de reação inflamatória dentro de tecidos examinados (lábios, pleura, dígitos e membros) e determinar a dinâmica deste processo.

Denoble et al. (2010) assim como Varjú et al. (2004), avaliaram a reprodutibilidade das medições de infravermelhos em joelhos e associaram com gravidade radiográfica da OA. As alterações na temperatura da pele da região patelar mostraram-se correlacionadas com a severidade de raio-x da OA do joelho, mostrando-se eficaz como medida objetiva de um sinal de inflamação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos

O presente trabalho foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP – Câmpus Jaboticabal, aprovado e executado de acordo com as normas em experimentação animal do CONCEA (Protocolo CEUA nº 04179/14).

4.2 Animais e Grupos Experimentais

Foram utilizados 72 ratos Wistar machos adultos (*Rattus norvegicus albinus*), provenientes do Biotério Central de Botucatu – Unesp - Câmpus de Botucatu- SP. Os animais foram alojados em caixa de polímero de forma individual, mantidos sobre condições controladas de luz, ruído, umidade e temperatura, ração comercial para a

espécie e água à vontade, mantidos no Laboratório de Fisiologia – LAFEA – Unesp – Câmpus Jaboticabal- SP.

Foram também utilizados 5 coelhos da raça Nova Zelândia, do mesmo biotério, para a coleta e confecção do PRP.

Em todos os animais, exceto os do grupo controle (GC) e grupo controle solução NaCl 0,9% (GCF), induziu-se a OA experimentalmente mediante aplicação intra-articular de papaína 4% no joelho esquerdo.

Os 72 animais foram distribuídos em 9 grupos, ilustrados nos diagramas abaixo:

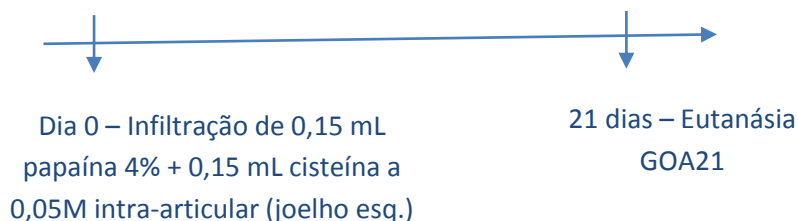
Grupo 1 (GC): grupo controle (n=8), onde não foi realizada nenhum tipo de indução/intervenção.



Grupo 2 (GCF): Grupo Controle Solução NaCl 0,9% (n=8). Neste grupo os animais receberam solução fisiológica intra-articular.



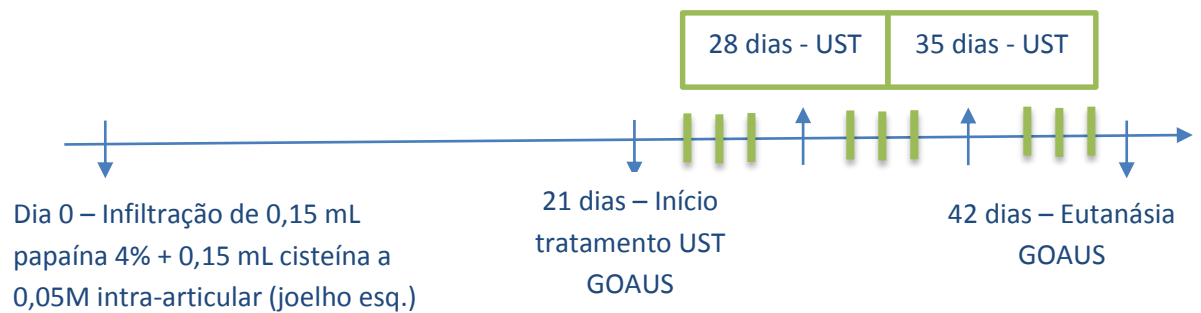
Grupo 3 (GOA21): neste grupo (n=8) foi realizada a OA experimental com a aplicação intra-articular da papaína a 4% nos joelhos esquerdos.



Grupo 4 (GOALa): após a indução de OA, neste grupo (n=8) foi realizada a aplicação de LTBI três vezes por semana durante três semanas.



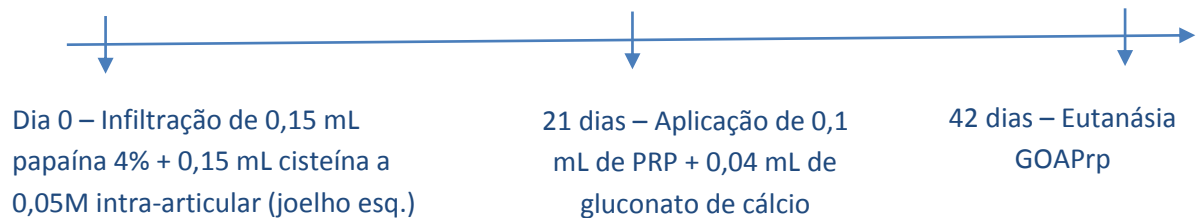
Grupo 5 (GOAUS): após a indução da OA, neste grupo (n=8) foi realizada a aplicação de UST três vezes por semana durante três semanas.



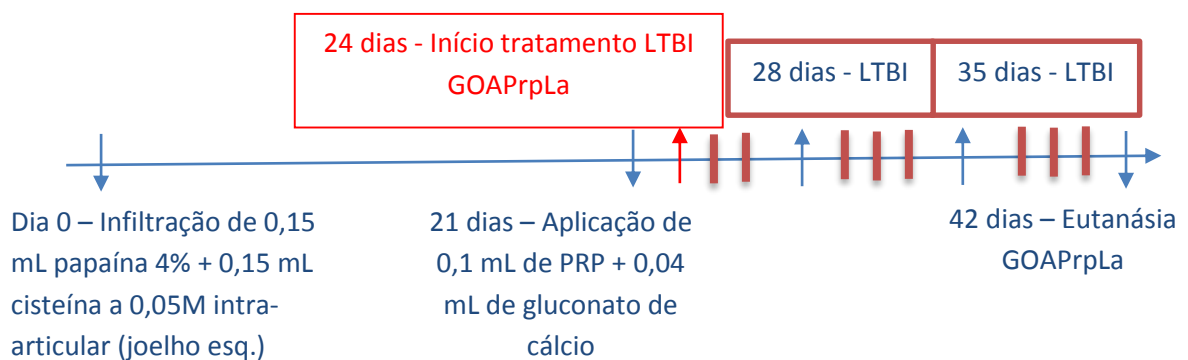
Grupo 6 (GOA42): neste grupo (n=8) foi realizada a OA experimental com a aplicação intra-articular da papaína a 4% nos joelhos esquerdos.



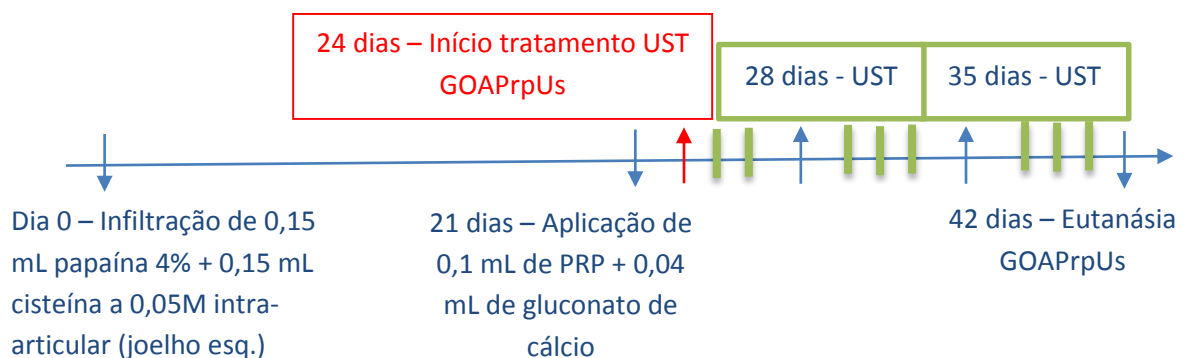
GRUPO 7 (GOAPrp): neste grupo (n=8) os animais foram induzidos a OA experimental e depois tratados somente com uma aplicação de PRP intra-articular.



GRUPO 8 (GOAPrpLa): Após 21 dias da indução a OA, neste grupo (n=8), foi realizada uma aplicação de PRP intra-articular e, após três dias, foi iniciado tratamento com LTBI três vezes por semana durante três semanas.



GRUPO 9 (GOAPrpUS): neste grupo (n=8), 21 dias após a indução a OA, foi realizada a aplicação de PRP intra-articular e, após três dias, foi dado início ao tratamento com UST três vezes durante a semana durante três semanas.



3.3 Anestesia e indução da osteoartrite

Os animais antes do procedimento de indução de osteoartrite foram submetidos à anestesia dissociativa pela associação de cetamina (90mg/kg) + xilazina 2% (10mg/kg) intraperitoneal. Ato contínuo, foram realizadas tricotomia e antisepsia do membro pélvico esquerdo, envolvendo a articulação do joelho, onde foi infiltrada a substância indutora de OA.

A solução indutora de OA constituiu de 15 µL de papaína 4% (Injectcenter^{®2}) e 15 µL de cisteína 0,03 M (Injectcenter^{®2}), usado como ativador da papaína, totalizando 30 µL de solução indutora. Foi feita uma única infiltração intra-articular no joelho esquerdo de cada animal (MURAT et al., 2007; LITTLE; SMITH, 2008; ROSA, 2009; LIU; YUAN; ZHANG, 2011) e, após 21 dias, iniciado o tratamento com UST e LTBI como descrito anteriormente.

O GSF recebeu uma aplicação de 30 µL no joelho esquerdo de solução salina 0,9%.

Imediatamente após a indução da OA e durante três dias consecutivos, todos os animais receberam cloridrato de tramadol na dose de 2mg/kg, por via subcutânea, a cada 12 horas.

3.4 Protocolos de tratamento

3.4.1 Ultrassom terapêutico

O aparelho escolhido para tratamento do GOAUS e do GOAPrpUS foi o da marca IBRAMED^{®1}, modelo SONOPULSE 1.0 MHz e 3.0 MHz, utilizando-se o transdutor de 1.0 MHz com ERA de 3,0cm², com potência média de saída de ultrassom de 2W, utilizado no modo de emissão pulsado, sendo a frequência de repetição do pulso de 100Hz, com razão de pulso de 1/2 (50%), intensidade efetiva de 0,4W/cm² e potência efetiva de 0,4W (CORADINI et al., 2013) durante um minuto, sobre a face medial da articulação esquerda e acoplamento com gel, realizando

¹ Industria Brasileira de Equipamentos Médicos, Amparo, São Paulo

² Injectcenter Manipulação de Produtos Farmacêuticos LTDA. EPP., Ribeirão Preto, São Paulo

movimentos circulares lentos. O tratamento foi iniciado 21 dias após a indução OA e repetido três vezes por semana, durante 21 dias.

3.4.2 Laser

O aparelho escolhido para tratamento do GOALa e do GOAPrpLa foi da marca IBRAMED^{®1}, modelo LASERPULSE, classe 3B, PROBE com diodo semiconductor de arsenieto de gálio (GaAs), com potência de saída de $70W \pm 20\%$, comprimento de onda λ de 830nm, área de contato de $0,11600\text{cm}^2$, duração do pulso de 60ns, com aplicação transcutânea pontual, com densidade de energia de 3J/cm^2 e tempo de 12 segundos em cada ponto (PALLOTTA et al., 2013) em quatro pontos ao redor da articulação do joelho esquerdo (um ponto na lateral, um ponto medial, um ponto sobre tendão patelar e um ponto caudal ao joelho esquerdo). O tratamento foi iniciado 21 dias após a indução da OA e repetido três vezes por semana, durante 21 dias.

3.4.3 Coleta e preparo do Plasma Rico em Plaquetas (PRP)

Para a confecção do PRP, foram coletados 5 mL de sangue periférico total de cada coelho de cinco coelhos diferentes, utilizando frascos a vácuo de citrato de sódio e 1mL de sangue em frasco a vácuo com EDTA para verificar a contagem plaquetária inicial de cada amostra. Após a coleta, os frascos com EDTA foram para a análise de contagem de plaquetas e só depois disso, as amostras com citrato foram encaminhados ao laboratório de Patologia Clínica da FCAV-Unesp Jaboticabal. Os hemogramas foram analisados antes do processo de preparo do PRP para verificação plaquetária no aparelho Poch-100iV Diff[®] através do método de detecção por corrente direta com foco hidrodinâmico. No laboratório as amostras com citrato foram centrifugados duas vezes (a primeira vez foi centrifugado a 1.600 rpm por 10 minutos e a segunda centrifugação a 2.000 rpm por 10 minutos para concentrar as plaquetas) (PAZZANI, 2014). O concentrado de plaquetas foi separado e o restante do centrifugado desprezado, produzindo uma média de 0,5mL de PRP de cada frasco coletado. Após processamento, uma pequena amostra do PRP foi retirada para avaliar a concentração de plaquetas. A avaliação foi feita através da contagem em câmara de Neubauer utilizando liquido diluidor de Brecher. Para evitar excesso na diluição da amostra, foi determinado uma linearidade de contagem em relação ao desvio padrão

dos valores referências da espécie (>700.000 plaquetas). Após a verificação da concentração plaquetárias das amostras, o PRP produzido foi imediatamente aplicado nas articulações do joelho esquerdo de cada animal na quantidade de 0,1 mL. Antes das aplicações foi adicionado gluconato de cálcio na dose 0,22 mEq/mL de PRP (0,04mL de gluconato de cálcio) (PAZZANI, 2014) para a ativação plaquetária. O PRP foi aplicado após 21 dias da indução da OA e nos grupos GOAPrpLa e GOAPrpUS os tratamentos iniciaram três dias após a aplicação do PRP.

3.5. Avaliações

3.5.1 Avaliação da perimetria

No intuito de estimar o edema causado pelo processo inflamatório produzido pela injeção de papaína intra-articular e avaliar o efeito antiedematogênico do laser e ultrassom foi utilizada trena antropométrica a fim de quantificar o diâmetro articular (milímetros) do joelho, usando como resultado a média dos joelhos injetado com a papaína (CALADO et al., 2015).

As mensurações foram realizadas a partir da flexura do joelho seguindo todo seu diâmetro, imediatamente antes da indução de OA e aos 3, 7, 15, 21, 28, 35 e 42 dias após a indução.

3.5.2 Avaliação câmera termográfica (CT)

Para a avaliação termográfica das articulações em tratamento, foi utilizada a câmera utilizada da marca FLIR® modelo i50 com sensibilidade térmica de 0,1 graus Celsius. Antes de cada avaliação os animais foram mantidos por 15 minutos dentro da sala de avaliação com temperatura controlada variando entre 20 a 22 graus Celsius, com a finalidade de padronizar a temperatura ambiente e adaptar o animal a temperatura ambiental. Previamente, foi realizada tricotomia da região da articulação fêmoro-tibio-patelar de ambos os membros, 15 minutos antes da avaliação. A tricotomia foi necessária para melhor comparação individual das articulações e para a realização dos tratamentos nos grupos. A câmera era posicionada a 30 cm de distância da área avaliada, coletando imagem da região medial da articulação alvo. A

câmera era ajustada com emissividade 0,98. Para avaliação os animais foram contidos manualmente e mantidos em posição ventro-dorsal para melhor análise do joelho esquerdo. Foram coletadas imagens nos momentos 3, 7, 15 e 21 dias após indução OA, e antes e após cada tratamento com UST ou LTBI ao longo dos 21 dias de tratamento. Os animais dos GC, GF, GOA21, GOA42 e GOAPrp foram avaliados em conjunto aos animais tratados.

As imagens termográficas captadas foram analisadas pelo software de imagens FLIR Tools®, fornecido de forma *online* pelo *site* do fabricante da câmera termográfica FLIR®. No programa, as imagens foram analisadas de modo a padronizar o quadrante a ser avaliado no joelho. Como padronização, foi priorizado avaliar região caudal à patela, tomando como referência as delimitações anatômicas para tornar a avaliação mais fidedigna (Figura 1).

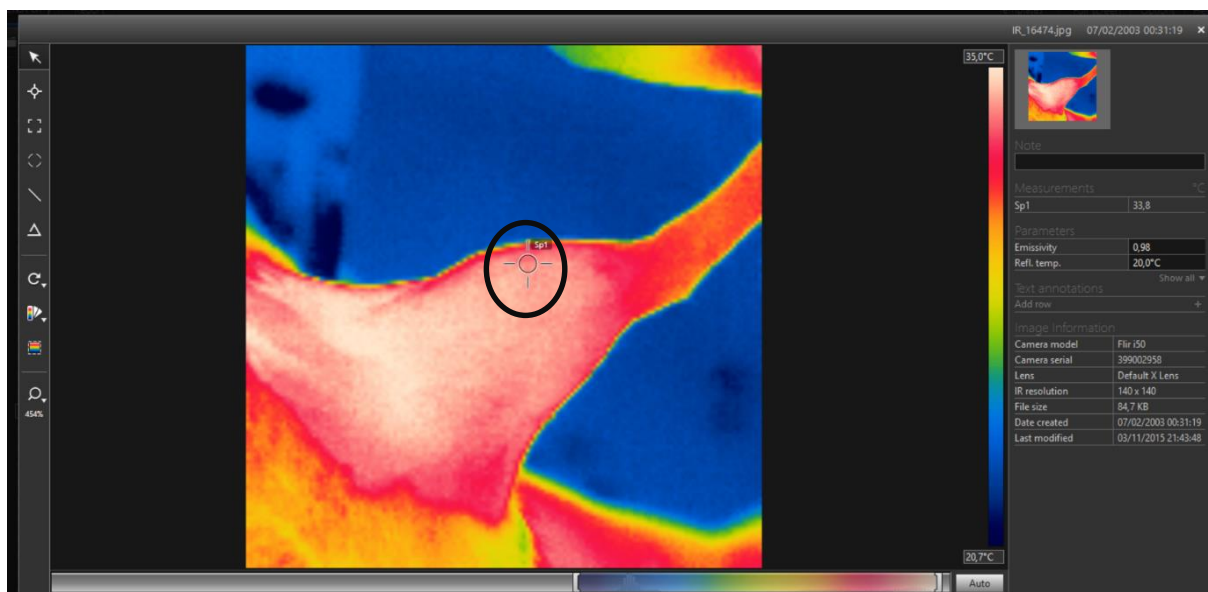


Figura 1: Avaliação da imagem termográfica de joelho de rato Wistar e padronização local de avaliação por meio do software FLIR Tools® evidenciado pelo círculo preto-Jaboticabal, 2015.

3.6. Eutanásia e obtenção do material para análise

Após completarem 42 dias de indução OA e de 21 dias de tratamento, com exceção do grupo GOA21, os animais foram submetidos à eutanásia em caixa hermeticamente fechada, contendo algodão embebido com isofluorano sem contato com o meio externo. Após eutanásia, as articulações foram acessadas para avaliação macroscópica da superfície articular. O padrão será descrito posteriormente. Após a avaliação, foram coletadas amostras da cápsula articular e da articulação do joelho esquerdo. Após a retirada do material, as amostras eram fixadas em formol tamponado a 10% e encaminhadas para análise histopatológica.

3.7 Análise macroscópica

Conforme citado anteriormente, a análise macroscópica da superfície articular foi realizada imediatamente após a eutanásia e utilizou-se o critério de classificação de acordo com o Quadro 1.

Quadro 1. Classificação das alterações macroscópicas da superfície articular cartilaginosa

GRAU DA LESÃO	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DA LESÃO
S/A	- superfície articular lisa; sem alterações de relevo
+	- superfície articular rugosa, com perda do brilho, mas sem alterações do relevo
++	- superfície rugosa, com perda do brilho e depressões na superfície
+++	- exposição do osso subcondral

Fonte: Adaptado de ALBANO et al. (2010)

3.8. Análise Microscópica

O processamento do material foi realizado no Serviço de Patologia da Universidade de Franca, UNIFRAN, Franca- SP. As lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) e com Picrosirius, para avaliação mais detalhada da

densidade e organização das fibras colágenas. Os fragmentos de cápsula articular e osso adjacente foram coletados de todos os grupos e fixados em formol 10%. Seguiu-se para o processamento para indução em blocos de parafina e coloração H.E. e Picrosirius. Os fragmentos ósseos passaram por descalcificação antes do processamento. As imagens foram capturadas com câmera fotográfica Sony CCD101 e enviadas para um monitor, congeladas e escaneadas.

Na avaliação histopatológica com coloração com Picrosirius, estimou-se quantificar a densidade e organização das fibras colágenas de forma mais detalhada por meio do *software* Image Pro-Plus® 4.5 para Windows Media Cybernetic. Uma pequena área de cada lâmina foi selecionada para análise e estudo da densidade e organização das fibras colágenas (Figura 2). O colágeno emite um brilho de birrefringência, sendo possível observar uma variedade de cores fluorescentes (vermelho, verde e amarelo).

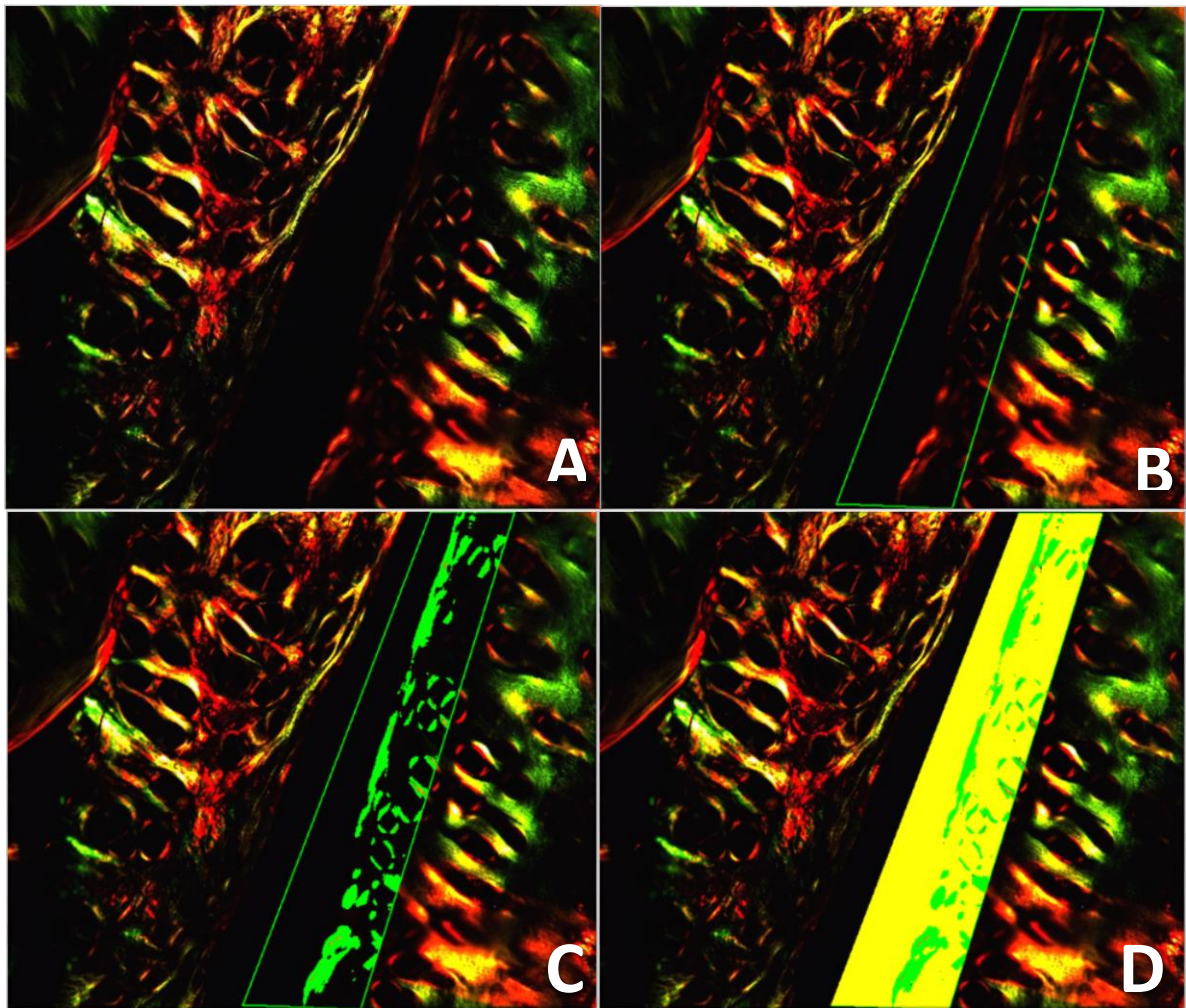


Figura 2- Análise de lâmina com coloração Picrosirius em software Image Pró-Plus. (A). Após a visualização da superfície articular, (B) é feita a seleção da área a ser avaliada e quantificada na densidade colágeno. (C) As fibras colágenas são selecionadas e (D) evidenciado a área restante para a diferenciação na leitura pelo software - Jaboticabal, 2015.

3.9. Análise estatística

A análise estatística foi feita com base na análise de variância das médias das variáveis da termografia e da perimetria. A técnica estatística usada para avaliar foi a análise de variância de medidas repetidas (ANOVA), utilizando o programa computacional SAS. As variáveis foram constituídas pelos grupos (GC, GCF, GOA21, GOA42, GOALa, GOAUS, GOAPrp, GOAPrpLa, GOAPrpUS) e joelhos, formando delineamento experimental 2x2 nas parcelas, e os momentos (0, 7, 14, 21, 28, 35 e

42 dias pós indução OA) como sub parcelas. Para cada grupo foram utilizados 8 animais. As comparações das medias foram feitas usando procedimento de Tukey, na qual o valor de $P \leq 0.05$ foi considerada significativa. A avaliação estatística para microscopia das lâminas de Picrosirius utilizou o procedimento de Duncan, com variável transformada no log (+1) na proporção por base em área. A transformação foi feita devido a variabilidade dos dados ser muito alta. Foi levado em consideração o valor de $P \leq 0,05$ para ser considerada significativa. Para a realização do teste foi utilizado o programa computacional Prisma.

4. RESULTADOS

4.1 Técnica de indução da osteoartrite

Os procedimentos referentes à indução ou tratamento da osteoartrite ocorreram sem intercorrências. Todos os animais se alimentaram logo após o retorno da anestesia e não foram observadas alterações que pudessem ser atribuídas ao protocolo experimental.

4.2 Processo de preparação do PRP

Os valores das amostras do sangue total coletado e o valor da concentração plaquetária do PRP estão ilustrados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores das concentrações plaquetárias antes e depois da preparação PRP de coelhos – Jaboticabal, 2015.

	Valor concentração plaqueta sangue total	Valor concentração plaqueta PRP
Coelho 1	220 X10 ³ / μ L	410 X10 ³ / μ L
Coelho 2	249 X10 ³ / μ L	> 700 X10 ³ / μ L
Coelho 3	239 X10 ³ / μ L	> 700 X10 ³ / μ L
Coelho 4	314 X10 ³ / μ L	> 700 X10 ³ / μ L
Coelho 5	204 X10 ³ / μ L	> 700 X10 ³ / μ L

4.3 Interação entre grupo e momento nas avaliações perimétricas e termográficas

Os resultados das análises estatísticas das avaliações perimétricas e termográficas demonstraram que o teste F da interação entre grupos e momentos foi significativa ($P \leq 0,001$), mostrando que os grupos têm comportamento diferente ao longo dos momentos/ tempo. As interpretações dos significados de grupo e tempo feitas individualmente ficam prejudicadas (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados da análise de variância segundo Teste de Tukey à 5% . Escrito em vermelho, estão os valores que apresentaram diferença estatística significativa– Jaboticabal, 2015.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Valores de P do Teste de F	
		Termografia	Perimetria
Grupo	8	<0,0001	<0,0001
Joelho	1	0,0239	0,3492
GrupoXJoelho	8	0,4364	0,9951
Momento (tempo)	6	<0,0001	<0,0001
Grupo X Momento	45	<0,0001	<0,0001
Joelho X Momento	6	0,4809	0,9069
GrupoX MomentoXJoelho	45	0,9752	1,000
C.V.	-	1,37	5,9
R.S.	-	0,83	0,66

Observação: C.V: Coeficiente variância; R.S: R- square

4.4 Avaliação da perimetria

Na avaliação estatística, houve diferença no comportamento das médias da perimetria na comparação entre as variáveis. Foram feitas médias de cada grupo respeitando a avaliação segundo o tempo e articulação. As médias apresentaram pouca variância entre os animais do mesmo grupo ou quando foram comparados os joelhos no mesmo animal, porém na análise de variância houve interação significativa entre os grupos em relação ao tempo para a perimetria ($P < 0,0001$) exemplificados na Figura 3 e Tabela 3.

Para a avaliação do gráfico (Figura 3), foi levada em consideração a média do joelho esquerdo, articulação da qual foi induzida a OA. No dia 14 (pós indução OA), nota-se diferença ($P<0,0001$) no GC (com média de 3,50 cm) em comparação ao GOAPrp (com média de 4,19 cm). Foi observado no dia 21 diferença da média da perimetria ($P<0,0001$) entre o GC (média de 3,50 cm) e o GOA42 (média de 4,28 cm). No dia 28 verificou diferença ($P<0,0001$) do GC (média de 3,50 cm) em relação ao GOAPrp (média de 4,31 cm). Por último, observa-se diferença ($P<0,0001$) de todos os grupos (média de 4,05, $\pm 0,2$ cm) em relação ao GC (média de 3,56 cm) no dia 35. Os demais dias não houve diferença estatística relevante. Na Tabela 3, podemos observar com mais detalhe, os valores das médias e compará-las.

As mensurações realizadas a fim de quantificar o diâmetro articular (centímetros) do joelho, imediatamente antes da indução de OA, aos 7, 15, 21, 28, 35 e 42 dias após a indução estão relatados de forma detalhada no Apêndice A.

Tabela 3. Resultado do estudo comparando o comportamento da perimetria dos grupos em cada momento/ tempo.

	Dia 0	DIA 7	DIA 14	DIA 21	DIA 28	DIA 35	DIA 42
GC	4,50 A	3,93 A	3,50 B	3,50 B	3,50 B	3,56 B	3,88 A
GCF	4,50 A	3,75 A	3,75 B	3,75 B	3,88 B	3,94 A	3,94 A
GOA21	4,00 B	3,66 B	3,44 B	3,69 B	0,00 C	0,00 C	0,00 B
GOALa	4,00 B	3,78 A	3,66 B	3,81 B	3,81 B	3,97 A	4,19 A
GOAUS	4,19 B	3,88 A	3,63 B	3,63 B	3,59 B	3,94 A	3,88 A
GOA42	4,00 B	4,00 A	4,09 A	4,28 A	4,20 A	4,20 A	4,20 A
GOAPrp	4,00 B	4,00 A	4,19 A	4,06 A	4,31 A	4,03 A	4,03 A
GOAPrpLa	4,13 B	3,94 A	4,00 A	4,19 A	4,15 A	4,15 A	4,15 A
GOAPrpUS	4,00 B	4,00 A	4,03 A	4,00 A	4,13 A	4,19 A	4,19 A

GC: grupo controle; GCF: grupo solução fisiológica; GOA21: grupo osteoartrite 21 dias; GOALa: grupo osteoartrite laser; GOAUS: grupo osteoartrite ultrassom; GOA42: grupo osteoartrite 42 dias; GOAPrp: grupo osteoartrite PRP; GOAPrpLa: grupo osteoartrite PRP laser; GOAPrpUS: grupo osteoartrite PRP ultrassom. As médias seguidas por letras iguais nas colunas, não diferem entre si pelo Teste de Tukey – Jaboticabal, 2015.

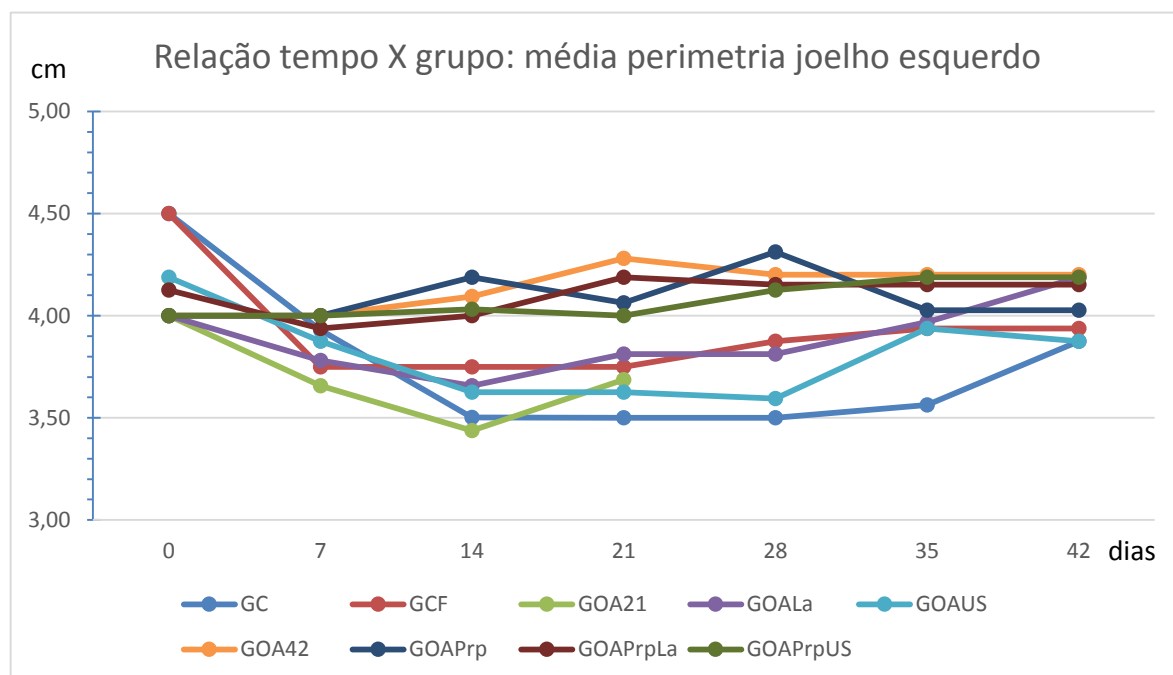


Figura 3. Resultados obtidos da média do diâmetro articular (joelhos esquerdos) para avaliação perimetria. Nota-se interação estatística relevante na relação grupos vs. tempo. Os grupos foram comparados entre si ao longo do tempo, na qual os são expressos em centímetros.

GC: grupo controle; GCF: grupo solução fisiológica; GOA21: grupo osteoartrite 21 dias; GOALa: grupo osteoartrite laser; GOAUS: grupo osteoartrite ultrassom; GOA42: grupo osteoartrite 42 dias; GOAPrp: grupo osteoartrite PRP; GOAPrpLa: grupo osteoartrite PRP laser; GOAPrpUS: grupo osteoartrite PRP ultrassom – Jaboticabal, 2015.

4.5 Avaliação câmera termográfica

Todos os valores foram analisados estatisticamente para determinar o nível de significância dos resultados dentro de cada grupo e da correlação entre eles. As alterações relevantes foram demonstradas em forma de gráfico (Figura 4). As médias apresentaram pouca variância entre os animais do mesmo grupo ou quando comparando os joelhos no mesmo animal ($P=1,000$). Na análise do comportamento dos grupos em relação ao tempo, houve interação significativa na média termográfica ($P<0,0001$). Foram feitas médias das temperaturas dos joelhos esquerdo ao longo dos dias e comparando o comportamento dos grupos nos dias 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42. Os grupos GCF e GOA21 ($35,5^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$) apresentaram comportamento diferente ($P<0,0001$) nos dias 0 e 7 quando comparado ao GC ($33,20^{\circ}\text{C}$). No dia 14, os grupos GCF e GOA21 ($36,5^{\circ}\text{C}, \pm 0,2^{\circ}\text{C}$) mantiveram diferença ($P<0,0001$) comparado ao

grupo GC (34,66°C). Com 21 dias, os grupos GCF e GOA21 (32,05°C, $\pm 0,2^\circ\text{C}$) mantiveram comportamento distinto ($P < 0,0001$) dos demais grupos, com maior evidência com o GC (34,60°C). No dia 28, os grupos GCF e GOA42 (33,60°C) apresentaram comportamento distinto ($P < 0,0001$) comparado com os outros grupos. Não foram observadas diferenças significativas quando comparado os valores dentro do mesmo grupo ou entre os joelhos do mesmo animal. O GOA21 apresentou queda no gráfico no dia 21, pois realizou-se eutanásia do grupo com 21 dias para verificação da OA. Assim como foi feito para a avaliação da perimetria na Tabela 4, podemos contemplar com detalhes, os valores das médias termográficas e compara-las. Os valores obtidos de cada animal durante todo o estudo são demonstrados com detalhes no Apêndice B.

Tabela 4. Resultado do estudo comparando o comportamento termográficos dos grupos em cada momento/tempo.

	Dia 0	DIA 7	DIA 14	DIA 21	DIA 28	DIA 35	DIA 42
GC	33,14 C	33,37 C	34,66 C	34,60 A	34,15 A	34,08 A	34,16 A
GCF	35,48 A	35,36 A	36,66 A	32,22 C	33,36 B	34,15 A	33,57 B
GOA21	35,63 A	35,53 A	36,40 A	32,05 C	0,00 C	0,00 B	0,00 C
GOALa	33,83 B	34,99 A	34,91 B	34,13 B	34,41 A	34,45 A	34,30 A
GOAUS	33,62 B	35,26 A	35,42 B	33,86 B	33,96 A	34,40 A	34,27 A
GOA42	32,99 C	34,65 B	34,96 B	33,80 B	33,67 B	34,25 A	34,22 A
GOAPrp	32,94 C	34,83 B	34,51 C	33,63 B	33,90 A	33,93 A	33,93 A
GOAPrpLa	32,69 C	34,50 B	34,16 C	33,65 B	34,12 A	33,92 A	33,55 B
GOAPrpUS	33,30 B	34,95 A	34,70 C	33,78 B	34,23 A	33,90 A	33,88 A

GC: grupo controle; GCF: grupo solução fisiológica; GOA21: grupo osteoartrite 21 dias; GOALa: grupo osteoartrite laser; GOAUS: grupo osteoartrite ultrassom; GOA42: grupo osteoartrite 42 dias; GOAPrp: grupo osteoartrite PRP; GOAPrpLa: grupo osteoartrite PRP laser; GOAPrpUS: grupo osteoartrite PRP ultrassom. As médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas colunas, não diferem entre si pelo Teste de Tukey. As médias são expressas em grau Centígrados– Jaboticabal, 2015.

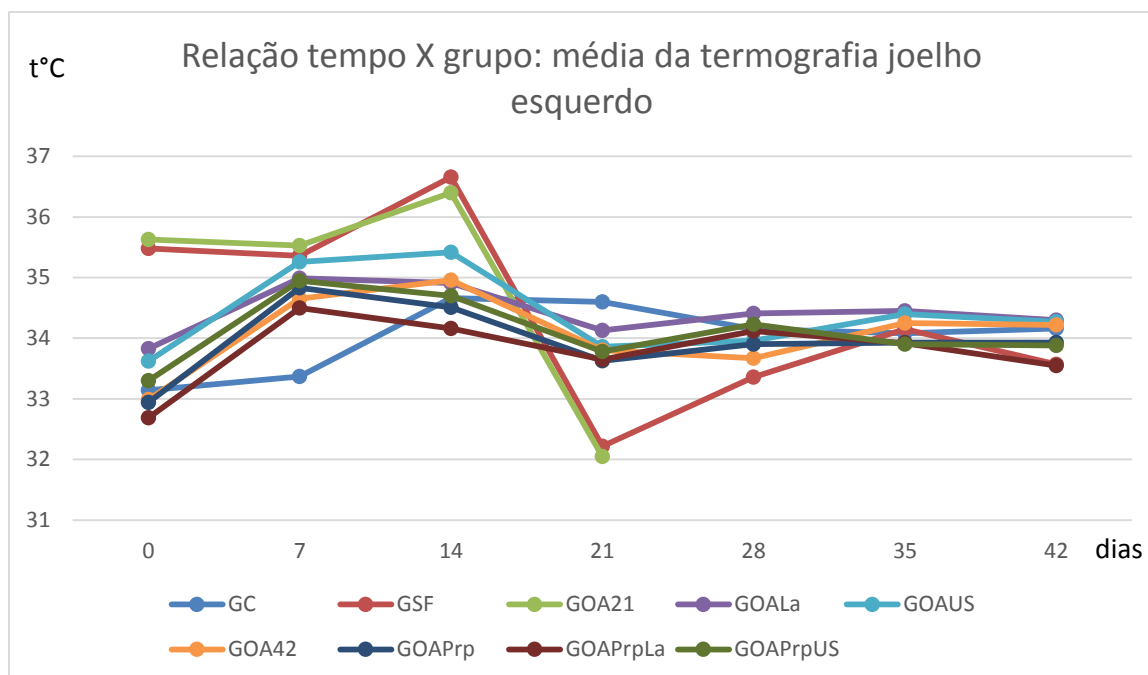


Figura 4. O gráfico mostra o comportamento das medições termográficas de cada grupo ao longo dos 42 dias de tratamento e observação. Foram feitas médias das temperaturas do joelho esquerdo.

GC: grupo controle; GCF: grupo solução fisiológica; GOA21: grupo osteoartrite 21 dias; GOALa: grupo osteoartrite laser; GOAUS: grupo osteoartrite ultrassom; GOA42: grupo osteoartrite 42 dias; GOAPrp: grupo osteoartrite PRP; GOAPrpLa: grupo osteoartrite PRP laser; GOAPrpUS: grupo osteoartrite PRP ultrassom.

4.6 Análise macroscópica

De um modo geral, o aspecto macroscópico nas articulações após a eutanásia foi semelhante em todos os animais em todos os grupos. Ao avaliar a porção distal do fêmur (côndilos femorais) após retirada da patela e ligamento patelar, observou-se a cartilagem articular brilhante, lisa, sem alterações de relevo e, conseqüentemente, sem exposição do osso subcondral. Como ilustra a Figura 5, de acordo com a classificação proposta (ALBANO et al., 2010), a análise macroscópica se manteve com grau S/A, apesar de pequenas variações entre os animais mas que não eram significativas ou justificavam outras classificações.

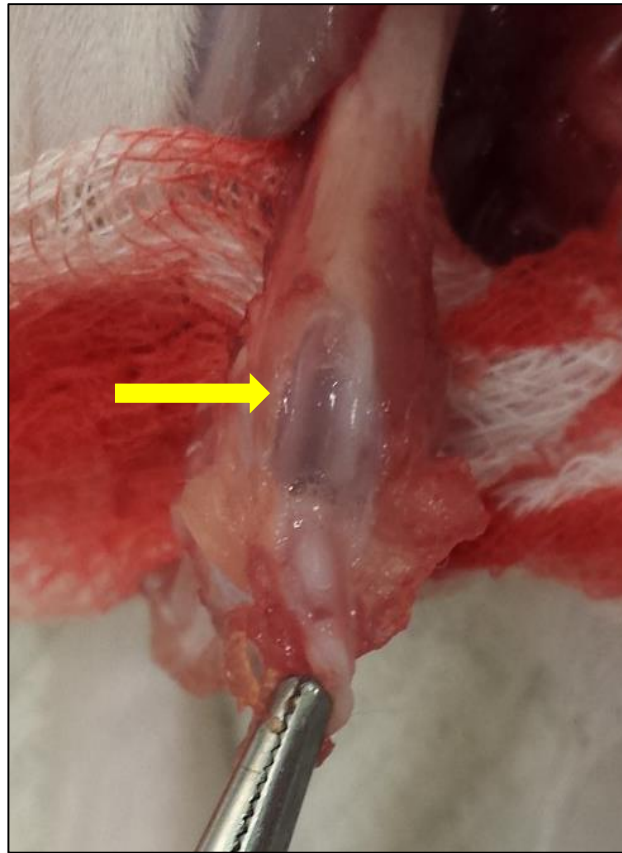


Figura 5. Porção distal do fêmur de rato submetido à indução de osteoartrite após retirada da patela e ligamento patelar. Observa-se a cartilagem articular brilhante, lisa, sem alterações de relevo (seta amarela) - Jaboticabal, 2015

4.7 Análise histopatológica

4.7.1 Avaliação histopatológica com coloração HE

Na avaliação microscópica do CG, as articulações avaliadas possuíam aspecto normal, cápsula articular com epitélio sem alterações (composta por epitélio pavimentoso estratificado inserida em tecido conjuntivo e adiposo). Os fragmentos ósseos analisados, juntamente com medula óssea, não apresentaram alterações histopatológicas (Figura 6).

No GCF, todos animais apresentaram na avaliação microscópica aumento de espaço entre as fibras musculares, 87,5% dos animais apresentaram degeneração muscular e em nenhum animal foram encontradas alterações ósseas dignas de nota.

As lesões encontradas nos animais do GOA21 foram semelhantes ao do GCF. Foram encontradas degeneração das fibras musculares com aumento do número de núcleos e áreas de hemorragia; áreas de angiogênese, com discreta congestão e presença de fibroblastos imaturos, além de atrofia em células epiteliais da cápsula articular; e, por fim, não foram encontradas alterações dignas de nota na porção óssea.

Na avaliação microscópica do GOALa foi detectado discreto infiltrado inflamatório (células mono e polimorfonucleares) em região perivascular, aumento de espaço entre fibras musculares, angiogênese, degeneração e necrose muscular, degeneração do epitélio capsular e atrofia de células capsulares (Figura 7). Nenhuma alteração óssea digna de nota foi encontrada.

O GOAUS, algumas alterações encontradas foram semelhantes ao GOALa, como por exemplo aumento de espaço entre as fibras musculares e atrofia do epitélio capsular. Além disto, foram analisadas áreas de necrose no epitélio capsular e em região subcapsular, degeneração e necrose muscular, infiltrado inflamatório focal no periósteo, congestão (Figuras 8 e 9) e hemorragia periosteal e presença de neutrófilos em região subcapsular e de medula óssea.

As lesões encontradas nos animais do GOA42 foram variadas. Foram encontradas cápsula articular com epitélio atrofiado em 42,8% dos animais (Figura 10), aumento do espaço entre as fibras musculares em 28,5% dos animais, discreto infiltrado inflamatório mononuclear no colágeno, indicando degeneração de colágeno em um animal e cápsula com infiltrado inflamatório em 28,5% dos animais. Não foram encontradas alterações dignas de nota na porção óssea nos animais. Neste grupo ocorreu o óbito de um animal durante a indução anestésica, permanecendo 7 animais no total.

Os animais do GOAPrp apresentaram poucas alterações. Em quase todos os animais do grupo, a articulação permaneceu sem alterações, com exceção de um animal que apresentou uma discreta neovascularização periarticular (Figura 11). Apenas 14,28% do grupo apresentou atrofia epitelial da cápsula articular, e 14,28%

apresentou discreto infiltrado inflamatório subepitelial, e os demais animais não tiveram alterações na cápsula articular.

O GOAPrpLa apresentou as seguintes alterações histopatológicas na cápsula articular: discreto infiltrado inflamatório de células mononucleares, atrofia cápsula articular, discreto infiltrado inflamatório misto e 57,1% dos animais discreta neovascularização em região subepitelial (Figura 12). Apenas 14,28% apresentou cápsula articular normal e 100% dos animais apresentaram osso subcondral sem alterações.

Na avaliação histopatológica do GOAPrpUs foram encontrados raros macrófagos em localização subepiteliais na cápsula articular, em 25% animais houve presença discreta de infiltrados inflamatórios mistos na camada subepitelial da cápsula, presença de macrófagos com substância anofílica de forma discreta (Figura 13). Apenas 12,5% apresentou discreto infiltrado inflamatório misto entre ossos, mas a maioria dos animais apresentaram osso e cápsula articular normal.

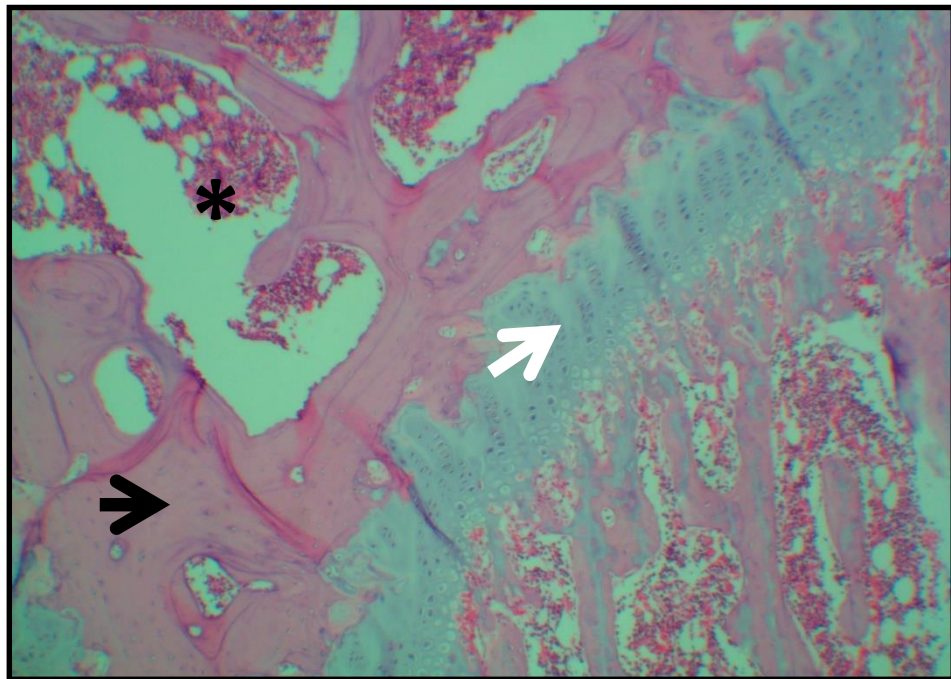


Figura 6. Fotomicrografia de fragmento de tecido ósseo do joelho esquerdo do rato do GC. H.E. obj 10x. Notar tecido ósseo bem diferenciado (seta preta) com medula óssea (*) e tecido cartilaginoso (seta branca) sem alterações - Jaboticabal, 2015.

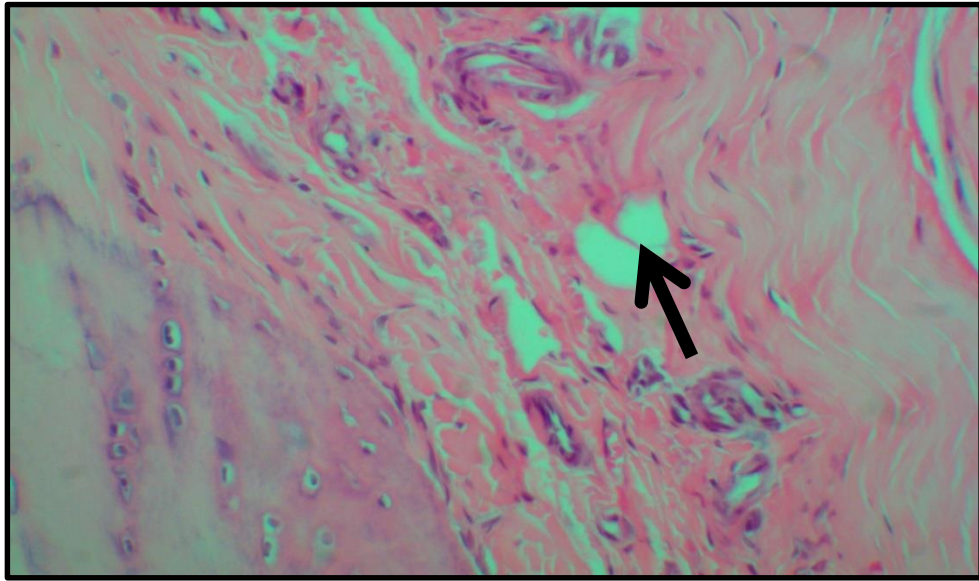


Figura 7. Fotomicrografia de fragmento de tecido ósseo do joelho esquerdo de rato do GOALa. H.E. obj 40x. Notar área de neovascularização (seta) - Jaboticabal, 2015.

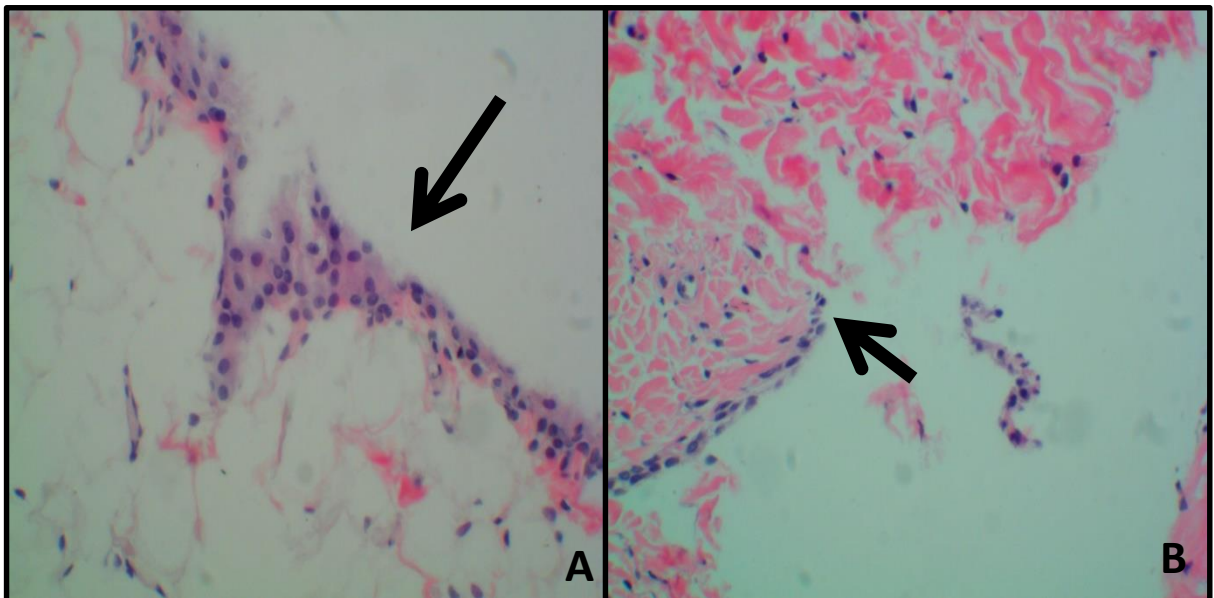


Figura 8. Fotomicrografia de cápsula articular em rato do GOAUS. H.E. Obj. 40x. A: Notar células de revestimento sem alterações dignas de nota (seta). B: Notar atrofia, com diminuição do número de células e área com descolamento do revestimento (seta) - Jaboticabal, 2015.

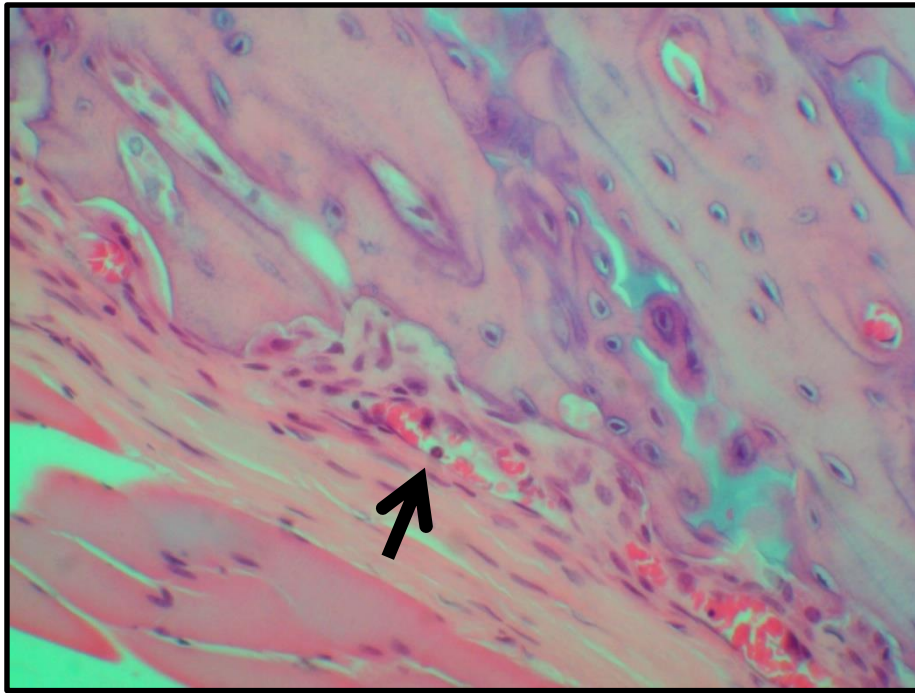


Figura 9. Fotomicrografia de fragmento de tecido ósseo do joelho esquerdo de rato do GOAUS. H.E. Obj 40x. Notar congestão vascular (seta) - Jaboticabal, 2015.

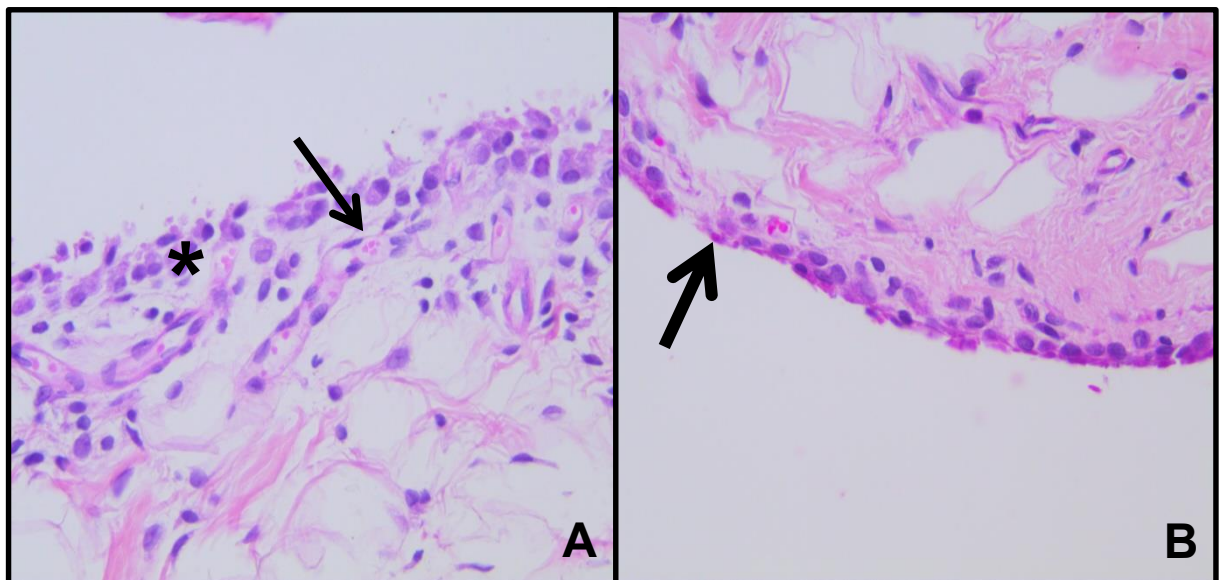


Figura 10. Fotomicrografia de cápsula articular em rato do GOA42. H.E. Obj. 40x. A: Notar pequenas áreas de inflamação na cápsula articular (*) e proliferação de vasos sanguíneos (seta). B: Notar atrofia, com diminuição do tamanho das células (seta)- Jaboticabal, 2015.

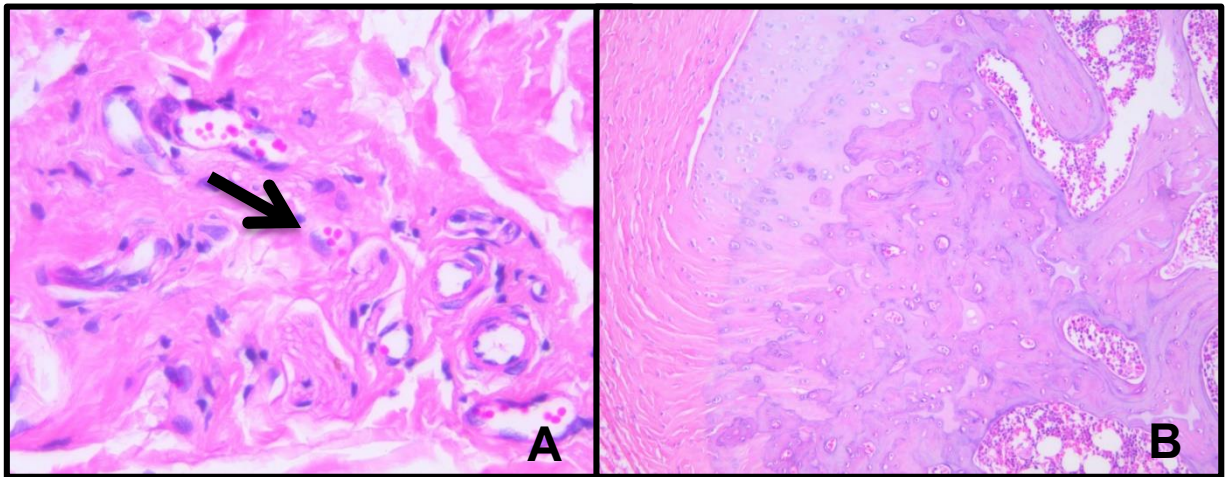


Figura 11. Fotomicrografia de cápsula articular em rato do GOAPrp. H.E. Obj. 40x. A: Observar processo de neovascularização (seta). B: Observar osso subcondral sem alteração- Jaboticabal, 2015.

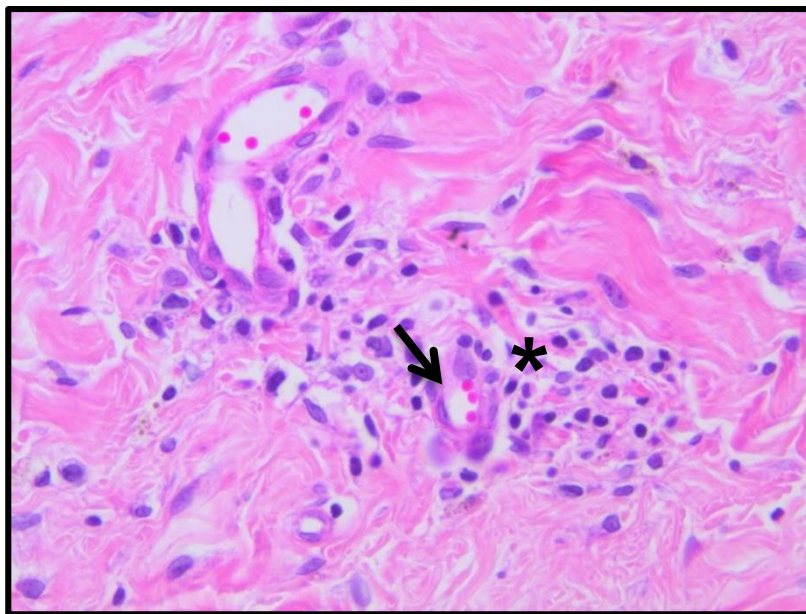


Figura 12. Fotomicrografia de cápsula articular em rato do GOAPrpLa. H.E. Obj. 40x. Notar pequenas áreas de neovascularização (seta preta) e inflamação no tecido conjuntivo da cápsula articular (*) – Jaboticabal, 2015.

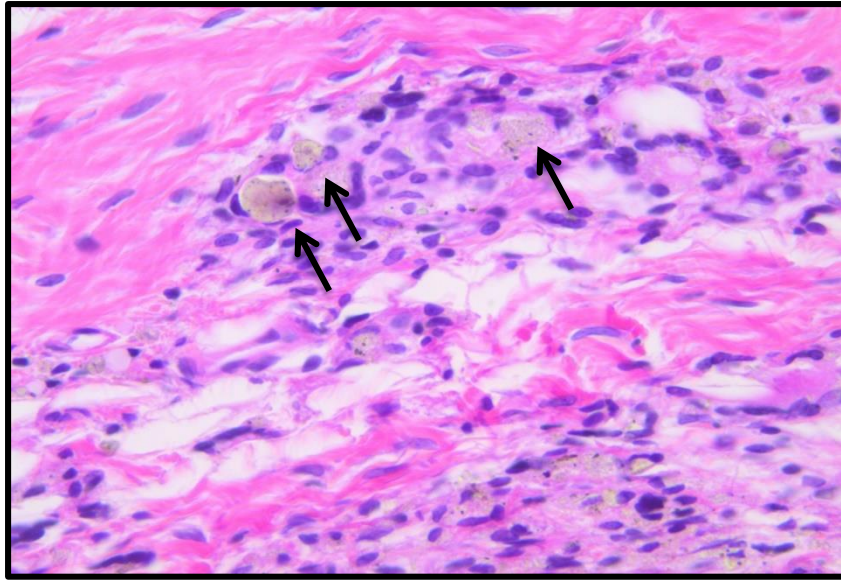


Figura 13. Fotomicrografia de cápsula articular em rato do GOAPrpUS. H.E. Obj. 40x. Notar presença de macrófagos (setas) com conteúdo anfófilo no citoplasma - Jaboticabal, 2015.

A Tabela 5 refere-se as alterações histopatológicas encontradas nas lâminas com coloração em HE, descritas de acordo com cada grupo.

Tabela 5. Resultado da análise histopatológica das lâminas com coloração em H.E. Os resultados foram relacionados de acordo com as alterações encontradas nas lâminas e na quantidade de animal afetado dentro de cada grupo – Jaboticabal, 2015.

	GC	GCF	GOA 21	GOA La	GOA US	GOA 42	GOA Prp	GOAPrp La	GOAPrp US
Degeneração/ necrose da fibra muscular	-	7/8	6/7	3/8	1/8	-	-	-	-
Aumento de espaço entre as fibras musculares	-	8/8	1/7	5/8	4/8	2/7	-	-	-
Hemorragia fibras musculares	-	-	3/7	-	-	-	-	-	-
Atrofia/degeneração células epiteliais cápsula articular	-	-	6/7	5/8	8/8	3/7	1/7	1/7	-
Neovascularização	-	-	7/7	1/8	-	-	1/7	4/7	-
Congestão perivascular cápsula articular	-	-	5/7	-	-	-	-	-	-
Infiltrado inflamatório subepitelial cápsula	-	-	-	3/8	3/8	2/7	1/7	3/7	2/8
Neutrófilo/ macrófagos sub capsular	-	-	-	-	1/8	-	-	-	2/8
Necrose subcapsular	-	-	-	-	3/8	-	-	-	-
Infiltrado inflamatório periósteo	-	-	-	-	3/8	-	-	-	1/8
Congestão/ Hemorragia periósteo	-	-	-	-	5/8	-	-	-	-
Infiltrado inflamatório colágeno	-	-	-	-	-	1/7	-	-	-
Degeneração ósseo	-	-	-	-	-	-	-	-	-

GC: grupo controle; GCF: grupo solução fisiológica; GOA21: grupo osteoartrite 21 dias; GOALa: grupo osteoartrite laser; GOAUS: grupo osteoartrite ultrassom; GOA42: grupo osteoartrite 42 dias; GOAPrp: grupo osteoartrite PRP; GOAPrpLa: grupo osteoartrite PRP laser; GOAPrpUS: grupo osteoartrite PRP ultrassom; (-) ausência animais afetados.

4.7.2. Avaliação histopatológica com coloração Picrosirius

Após a seleção de uma porção da superfície articular, a quantificação da densidade de estruturas presente na área foi feita (Figura 14). As diferenças nos valores medianos encontrados entre os grupos de tratamento foram significativos, sugerindo que houve diferença estatística ($P=0,0440$). A diferença estatística do grupo GC em relação aos grupos GOA42 e GOAPrpLa e entre os grupos GOAUS e GOAPrpLa. No intuito de facilitar a compreensão, os valores foram expressos em tabela (Tabela 6) e na figura (Figura 15). Observou-se que as fibras colágenas não estão presente somente na superfície articular, mas em toda estrutura articular. Com a coloração Picrosirius é possível observar variações nas colorações vermelha, amarelo e verde, que são indicativos da presença de colágeno no tecido.

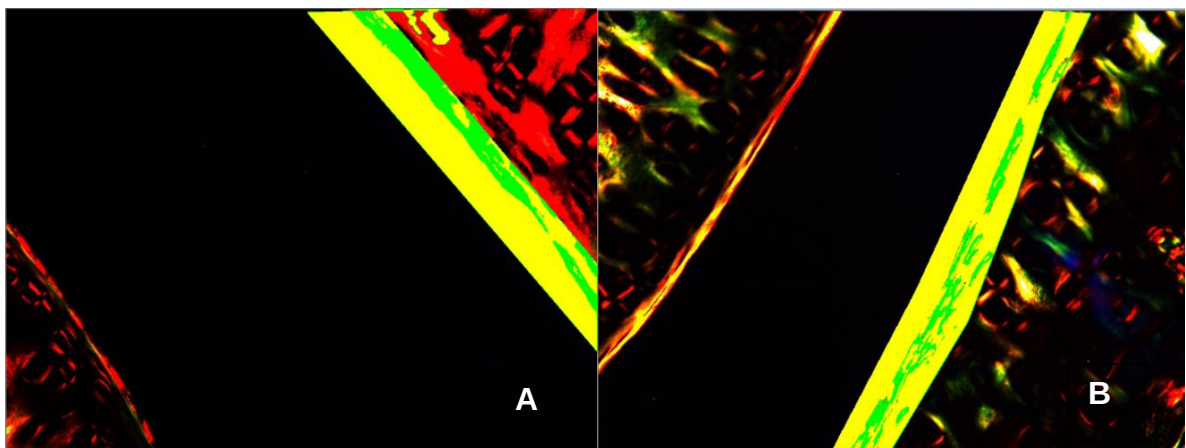


Figura 14. Imagens de lâmina em coloração Picrosirius, onde a coloração verde representa a área com de colágeno e em amarelo área formada por demais tecidos. A: Lâmina do joelho esquerdo de rato do GC; B: Lâmina do joelho esquerdo de rato do GOAPrpLa. Observa-se diferentes áreas corada em verde quando comparadas– Jaboticabal, 2015.

Tabela 6. Avaliação da densidade de fibras colágenas encontradas na superfície articular do joelho esquerdo dos ratos.

Grupo	Porcentagem de colágeno (%) [*]
GC	18.319
GCF	11.203
GOALa	12.301
GOAUS	13.793
GOA42	7.963
GOAPrp	10.165
GOAPrpLa	6.214
GOAPrpUS	10.583

Observação: GC: grupo controle; GCF: grupo solução fisiológica; GOALa: grupo osteoartrite laser; GOAUS: grupo osteoartrite ultrassom; GOA42: grupo osteoartrite 42 dias; GOAPrp: grupo osteoartrite PRP; GOAPrpLa: grupo osteoartrite PRP laser; GOAPrpUS: grupo osteoartrite PRP ultrassom. (*) Média obtida pelo teste de Duncan – Jaboticabal, 2015.

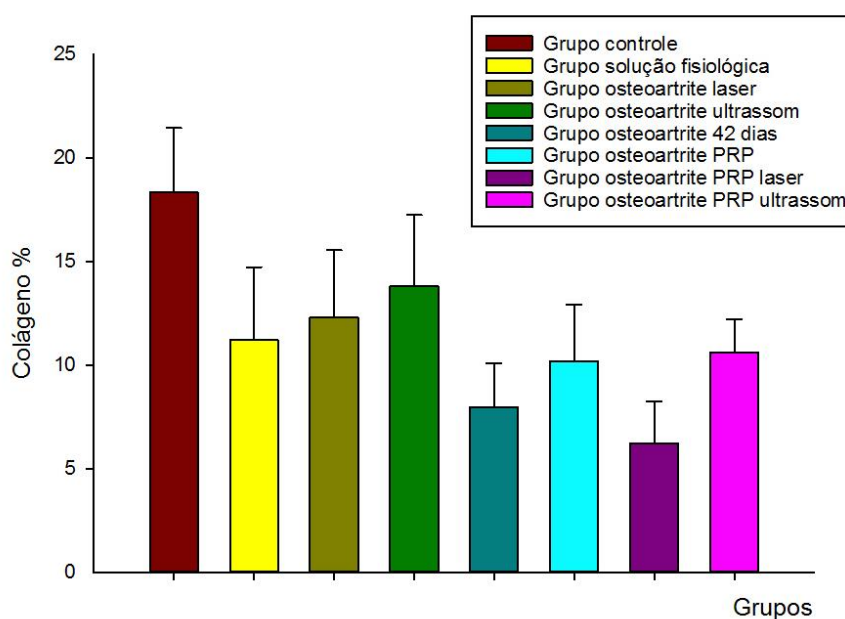


Figura 15. Gráfico ilustrando as médias dos grupos, em porcentagem, do colágeno encontrado nas amostras das lâminas em coloração Picrosirius – Jaboticabal, 2015.

5. DISCUSSÃO

A papaína é uma enzima proteolítica, utilizada frequentemente como indutora de osteoartrite em estudos experimentais. Murat et al. (2007), Rosa et al. (2012) e outros pesquisadores mostraram ser possível induzir a osteoartrite em joelhos de ratos com solução de papaína 4% em um curto período de tempo. Tais estudos sugeriram 3 aplicações com intervalos de 3 dias para a indução da OA. No presente trabalho optou pela aplicação única para verificar o processo inicial da osteoartrite. Todos os grupos induzidos pela papaína desenvolveram sinovite em diferentes graus, porém não foram observados lesões na matriz cartilaginosa das articulações dos animais no período de estudo. Sabe-se que o desenvolvimento da sinovite está intimamente relacionado ao progresso da OA (ATUKORALA et al., 2015; AYRAL et al., 2005).

O objetivo do presente estudo foi induzir a OA em ratos com uma única aplicação de papaína 4% intra-articular, o que poderia facilitar futuros experimentos utilizando o mesmo modelo. Porém tal modelo de indução por nós proposto não foi suficiente para o desenvolvimento da OA, sendo observada apenas a ocorrência de sinovite. Os protocolos de tratamento propostos também podem ser utilizados em caso de sinovite (NAKAMURA et al., 2011; WANG et al., 2014).

O PRP vem ganhando espaço nas pesquisas atuais devido ao potencial que possui no processo de reparação tecidual, pois é capaz de estimular a mitogênese, angiogênese, quimiotaxia e diferenciação celular através da liberação de fatores de crescimento presentes nas plaquetas. Para isso, o processo de centrifugação e a concentração plaquetária são fatores importantes para o sucesso do PRP. Nesta pesquisa, a contagem plaquetária após o processo de centrifugação e preparo do PRP apresentou-se maior quando comparada com a amostra inicial, indicado pela alta concentração plaquetária vista pela avaliação na Câmara de Neubauer indicando sucesso na técnica. Os resultados obtidos neste trabalho foram semelhantes aos estudos de Ji, Ting e Changqing (2011). Del Carlo et al. (2009) relatam que a contagem plaquetária deve ser superior a 1.000.000 plaquetas/ μ L. Porém Lopez-Vidriero et al. (2010) sugerem que o número de plaquetas necessária para se obter o efeito ótimo regeneração em tecidos ósseos deve ser entre 503.000 e 1.729.000 plaquetas / μ L de PRP. Além disso, referem que concentrações abaixo de 380.000

plaquetas / μ L pode gerar efeito abaixo do ideal, e concentrações superiores a 1.800.000 plaquetas / μ L podem ter efeito paradoxal inibidora. Maia et al. (2009) obtiveram resultado positivo com a utilização de PRP em tendinites em equinos provocado por colagenase, na qual a concentração plaquetária do PRP variou entre 350.000 a 500.000. O método por nós utilizado permite afirmar que a quantidade de plaquetas no PRP era > 700.000 , porém sem valores bem definidos na contagem plaquetária do PRP no presente estudo. O resultado final no processo do PRP alcançou os efeitos terapêuticos desejados. O protocolo de dupla centrifugação, utilizado no atual trabalho, foi adequado para obtenção de PRP, processo semelhante ao descrito por Morato (2013), que utilizou PRP em enxertos ósseos em coelhos, obtido pelo método de dupla centrifugação, com tempos e velocidades análogos aos utilizados neste ensaio.

A escolha do citrato de sódio como anticoagulante resultou no sucesso do preparo do PRP. Filardo et al. (2011) e Görmeli et al. (2015) utilizaram citrato de sódio como fator anticoagulante e obtiveram sucesso no tratamento de pacientes humanos com OA. Contudo, na literatura são citados outros anticoagulantes como solução de citrato de dextrose (SAMPSON, 2010). Elegeu-se o citrato de sódio devido sua fácil obtenção, e por adquiri-lo em tubos estéreis, diminuindo a contaminação no momento da colheita.

O gluconato de cálcio utilizado neste ensaio, é o ativador plaquetário mais empregado para estimular a produção de trombina e liberação de fatores de crescimento. Knop, Paula e Fuller (2015), em uma revisão sistemática, relatam que outros ativadores já foram descritos em artigos como trombina bovina e o colágeno tipo I. Referem que o colágeno tipo I estimula a liberação dos grânulos plaquetários de forma gradativa, diferente da trombina que ocorre a liberação dos fatores de crescimento de forma imediata. Em contra partida, Gobbi et al. (2012) obtiveram resultados satisfatórios no tratamento dos sintomas em joelhos com OA em humanos, sem a ativação prévia dos fatores de crescimento do PRP. Lopez-Vidriero et al. (2010) sugerem o uso de gluconato de cálcio, uma vez que trombinas exógenas poderiam causar reações imunes adversas no local.

Com o propósito de avaliar o comportamento do PRP xenógeno, o presente trabalho propôs o uso de PRP de coelhos em lesões articulares de ratos. Trabalho

semelhante foi feito, empregando PRP humano em lesões articulares em coelhos. Rezende et al. (2010) verificaram que o PRP humano reduziu a apoptose em lesões traumáticas em condrócitos de coelhos. O presente trabalho corrobora os resultados encontrados no artigo citado apesar de a apoptose não ser objeto da avaliação histopatológica.

No processo patogênico da OA, os danos da cartilagem e da membrana sinovial podem levar a alterações edematosas nos tecidos adjacentes, com infiltração de neutrófilos, presença de fibrose seguida de alteração na circulação e dor como consequências do processo inflamatório local. A mensuração do diâmetro articular pode ser de grande valia como parâmetro simples e rápido da evolução clínica da OA. Na avaliação da perimetria, conforme descrito nos estudos de Ji, Ting e Changqing (2011) e Calado et al. (2015), foram observados aumento do diâmetro articular nos joelhos induzidos a OA nos primeiros 14 dias após a indução. O mesmo resultado não foi observado no presente trabalho nos grupos GC, GCF, GOA21, GOALa e GOAUS, onde foram evidenciadas diminuição da perimetria nos dias 0 até o 14. Em contrapartida, houve aumento do diâmetro articular nos grupos GOA42, GOAPrp, GOAPrpUS, GOAPrpLa. Devido a heterogeneidade dos dados da perimetria na presente pesquisa, sugere-se que o comportamento dos animais tenha prejudicado tal mensuração, principalmente no início do experimento, quando ainda não estavam habituados com manipulação.

A trena antropométrica é uma forma barata e comum de mensuração, sendo comumente utilizada na rotina de médicos veterinários fisioterapeutas. Outros métodos foram descritos para a verificação do edema articular. Pereira et al. (2008) utilizaram pletismômetro de água para realizar a mensuração da perimetria de joelhos artríticos em ratos. Já Bressan et al. (2006), utilizaram paquímetro para as mensurações do edema nas articulações de ratos com OA.

Não houve diminuição da perimetria nos joelhos dos animais dos grupos GOAUS e GOAPrp, após início do tratamento quando comparada aos demais grupos. Chung et al. (2012) avaliaram diferentes protocolos de UST em ratos com OA por meio da mensuração do edema com trena flexível e por análise histológica dos joelhos. Concluíram que o melhor protocolo foi na dose de $0,2W/cm^2$, modo contínuo, 1MHz, no qual observaram maior redução do diâmetro articular e na análise histológica,

observaram redução do infiltrado de células inflamatórias na membrana sinovial. Em contrapartida, assim como o presente trabalho, Pereira et al. (1998) avaliaram o uso de UST de forma isolada ou em conjunto com indometacina em articulações de ratos com OA induzida. O uso isolado do UST não interferiu no desenvolvimento do edema e propiciou aumento na dor articular nos ratos tratados. O autor observou melhor resultado terapêutico com o uso conjunto do UST com indometacina. Da mesma forma que Pereira et al. (1998) não foi observado uma diminuição da perimetria articular no GOAPrpUS e GOAUS. Na literatura compilada não foram encontrados trabalhos relacionado ao uso conjunto de PRP e UST que pudéssemos utilizar para discutir tal resultado.

No grupo GOALa não foi observada diminuição do diâmetro articular. Em concordância ao presente estudo, um experimento controlado por placebo duplo-cego randomizado, Hegedűs et al. (2009) avaliaram a eficácia do LTBI no controle da dor, edema e a manutenção da amplitude em pacientes humanos com OA. Verificou-se que a utilização de LTBI de comprimento de onda de 830 nm, de onda contínua, potência de 50mW na densidade de energia de 6J foi ineficaz no controle do edema articular. No entanto, quando observamos o grupo GOAPrpLa, o diâmetro articular diminui no 28º dia após a aplicação do PRP e do LTBI quando comparamos ao GOA42. Supõe-se que o LTBI auxiliou no processo de absorção e ativação do PRP, auxiliando no processo de controle de edema articular. Faltam informações na literatura para confirmar a nossa hipótese.

Nos grupos GC, GCF, GOALa e GOAUS houve aumento da perimetria nos dias 28, 35, e 42. A hipótese para esse aumento das médias da perimetria seria pelo peso e tamanho dos animais, já que no início do experimento o peso médio dos animais era 300g e ao final, 450g.

No GOA42 foi observado aumento progressivo da perimetria até o 21º dia (média de 4,28 cm), seguido por queda (4,20 cm) no 28º dia e estabilizando nos dias restantes. No GOA21 observou-se aumento do edema articular no dia 21. Tal comportamento também foi observado no artigo de Pereira et al. (1998), onde o pico máximo do edema foi no 21º dia, sugerindo o estágio máximo da inflamação articular. Os autores também não observaram diferença estatística dos valores de edema

obtidos quando compararam as duas patas dos animais, assim como o presente trabalho.

Quando avaliamos o GOAPrp, observamos que, após a aplicação do PRP houve aumento do diâmetro articular no 28º dia (4,31cm), mas no 35º dia o diâmetro articular diminuiu significativamente (4,03cm), chegando próximo ao diâmetro articular do dia 0 (4,00cm). Os valores da circunferência articular permaneceram menores quando comparado ao GOA42, o que sugere que o PRP agiu como antiedematogenico. Ji, Ting e Changqing (2011) também observaram comportamento semelhante ao aplicar PRP intra-articular em ratos com OA induzida, onde no grupo tratado com PRP, a perimetria mostrou diferença significativa quando comparada ao grupo sem tratamento.

A avaliação termográfica pode ser útil no diagnóstico rápido e não invasivo do processo inflamatório. Este método também pode ser aplicado para avaliar as fases inflamatórias da OA (CAŁKOSIŃSKI et al., 2015; DENOBLE et al., 2010). É de suma importância que a manutenção da temperatura na sala de avaliação e do biotério seja constante, pois Sanches et al. (2008) verificaram que as pequenas variações na temperatura ambiente (3 - 5° C) resultou em leituras dramaticamente diferentes entre os grupos dos animais. Ao avaliarmos os grupos que foram submetidos à indução da OA, podemos observar que houve aumento da temperatura superficial da pele no 7º e 14º dias. As médias observadas mostram a dinâmica da reação inflamatória causada pela papaína intra-articular. O efeito é resultante da liberação de uma série de mediadores pró-inflamatórios, como histamina, cininas, prostaglandinas, fazendo com que haja aumento de fornecimento de sangue local, resultando no acréscimo da temperatura, principalmente nas primeiras 120h do processo inflamatório (CAŁKOSIŃSKI et al., 2015). Em alguns animais esse período pode ser maior ou menor, justificando as pequenas variações presentes entre os grupos. No 21º dia, podemos observar diminuição da temperatura em todos os grupos induzidos, indicando uma fase subaguda/ redução da fase aguda do processo inflamatório.

No GOAPrp observamos que no 28º dia houve sutil aumento da temperatura, que se manteve estável nos dias 35º e 42º, com a temperatura próxima ao GC. Esse resultado se deu provavelmente pelo aumento do metabolismo e neovascularização local, através da liberação dos fatores de crescimento plaquetário do PRP. Outra

hipótese é a inflamação causada pela aplicação, uma vez que mesmo a aplicação de solução salina houve presença de células inflamatórias. Até o presente momento não foram encontradas informações na literatura para confirmar a nossa hipótese.

Nos grupos GOAUS e GOALa podemos observar que durante o período do tratamento houve elevação da temperatura. O aumento do metabolismo e do suprimento de sangue nos tecidos irradiados podem ser os responsáveis pelos raios infravermelhos captado para câmera termográfica. Hegedús et al. (2009) também observaram aumento da temperatura em joelhos humanos com OA irradiados com laser, diminuindo a dor local e melhorando a vascularização. Em contrapartida, nos grupos GOAPrpUS e GOAPrpLa foi observado o aumento da temperatura superficial após a aplicação de PRP seguido por queda na temperatura local nas semanas seguintes do tratamento. O PRP seria o responsável pela liberação de fatores de crescimento como VEGF, EGF e em conjunto com os efeitos de bioestimulação dos aparelhos justificariam o aumento da temperatura no 28º dia. Wang et al. (2014) utilizaram LTBI em coelhos com OA, e observaram que o grupo tratado com laser poderia diminuir a produção de fatores catabólicos e retardar a perda de fatores anabólicos na membrana sinovial dos coelhos. Em decorrência da degranulação do PRP, os agentes anti-inflamatórios (TNF-RI e IL-1RA) seriam responsáveis pela inibição da sinalização pró-inflamatória nas células (KNOP; PAULA; FULLER, 2015), resultando em queda na temperatura local nos 35º e 42º dia, supondo que o LTBI poderia potencializar tais efeitos nos tecidos.

No grupo GOA42 observamos o que o 14º dia apresentou a temperatura máxima obtida ao longo de toda observação do grupo, iniciando a queda na temperatura articular a partir do 21º dia e chegando ao 42º dia com a temperatura próxima ao GC porém ainda acima da temperatura média do GC. Snehalatha et al. (2012), observou o pico máximo da temperatura ao 22º dia após a indução de OA induzida em ratos, com queda nos dias subsequentes, indicando a fase subaguda da OA.

A análise macroscópica é de suma importância, pois permite melhor compreensão do processo degenerativo da OA. A definição dos diferentes graus de osteoartrose proposto por Albano et al. (2010) baseou-se na observação do aspecto

da superfície da cartilagem articular. Com base nesta classificação, observou-se que em todos os joelhos infiltrados com papaína 4% ou solução fisiológica deste presente estudo, não foi encontrado lesão condral e degeneração articular (Grau S/A). Portanto, o resultado indica que não ocorreu a indução OA nas articulações dos animais e sugerindo que o protocolo escolhido para a indução da OA foi inadequado. Murat et al. (2007) propõem que para ocorrer a indução da lesão cartilaginosa, foram necessárias três aplicações de papaína 4% intra-articular. O presente estudo optou por apenas uma aplicação intra-articular no intuito de minimizar a perda de animais durante o processo de anestesia e indução da OA.

Para uma investigação mais aprofundada sobre os efeitos e comportamento terapêutico dos tratamentos em questão, foram feitas avaliações histopatológicas na coloração em H.E. Foi possível observar diferentes comportamentos entre os grupos. No GCF evidenciamos aumento de espaço entre as fibras musculares e degeneração muscular na maioria dos animais, mas sem alteração óssea. Pressupõem-se que as alterações encontradas no epitélio da cápsula articular deste grupo sejam resultado da distensão da cápsula articular devido ao grande volume injetado na articulação. Em contrapartida, Rosa et al. (2012), observaram que 21 dias após aplicar experimentalmente 0,20mL de solução salina intra-articular em ratos, verificou a presença de pequena quantidade de células inflamatórias, moderada presença de fibrose e pequena quantidade de vasos recém-formados.

Nos grupos GOA21 e GOA42, podemos acompanhar as diferentes fases do processo inflamatório gerado pela papaína 4%. No GOA21 na qual a eutanasia foi realizada aos 21 dias, alterações encontradas foram semelhantes aos resultados de Haywood et al. (2003). Os autores verificaram 70 amostras de membranas sinoviais de pacientes com OA através da coloração de H.E. e análise por imunofluorescência e encontraram espessamento e agregados linfóides na membrana sinovial. Além disso, observaram proliferação de células endoteliais e presença do VEGF que se elevaram de acordo com o aumento do grau de inflamação e do aumento de macrófagos no local. Foi verificado que VEGF era provido principalmente de macrófagos e células endoteliais da sinóvia. Os autores relatam também áreas de angiogênese presente na sinóvia, chegando a conclusão de que VEGF gerado pela sinóvia inflamada contribua para a inflamação na OA. Sugerem também que a

inflamação e a angiogênese da membrana sinovial está associada com OA. Quando avaliamos o GOA42, evidenciamos uma fase subaguda da inflamação, com menor quantidade de alterações. Nessa fase ainda se destaca a presença de atrofia no epitélio da cápsula articular, presença de infiltrado inflamatório na cápsula articular e espaço entre as fibras musculares. Houve apenas um animal com presença de infiltrado inflamatório mononuclear no colágeno, alteração não evidenciada em nenhum outro grupo. Ao nosso conhecimento, não foram registrados artigos sobre os efeitos da papaína a longo prazo (42 dias) para que seja feita comparação dos resultados encontrados no presente estudo. A maioria dos artigos encontrados avalia apenas a fase inicial da inflamação, chegando ao máximo de 25 dias de avaliação (SNEKHALATHA et al., 2012).

Ao avaliarmos o GOAPpr, notamos que foi o grupo que melhor apresentou resposta terapêutica, no qual a maioria dos animais permaneceu com cápsula e cartilagem articular sem alterações, encontrando apenas um animal com presença de atrofia epitelial e infiltrado inflamatório. Em um estudo realizado em condrócitos de coelhos, foi possível avaliar que o PRP aplicado na forma intra-articular foi capaz de evitar a apoptose pós traumática dos condrócitos (REZENDE et al., 2011). Além do mais, lembramos que o presente trabalho não utilizou PRP autólogo, o que gerou a utilização de plasma rico em plaquetas xenógeno, corroborando Rezende et al. (2011), que utilizaram plasma humano em joelhos de coelhos e obtiveram sucesso na resposta terapêutica. Kon et al. (2011) e Görmeli et al. (2015) compararam o uso de ácido hialurônico intra-articular com aplicações de PRP em pacientes humanos com OA, e ambos observaram resultados superiores com o uso de PRP em OA na fase inicial. Porém na OA avançada, os resultados foram semelhantes ao da viscosuplementação.

Um grande número de estudos recentemente investigam os efeitos da terapia laser de baixa intensidade. No entanto, as evidências científicas e clínicas sobre a eficácia desta modalidade é, muitas vezes, contraditório. Muito se questiona sobre a dosimetria e comprimento de onda utilizado para o sucesso da terapia. A discrepância quanto à densidade de energia utilizada para tratamento de tecido cartilagino é grande, variando de 3 a 142J/cm² (ALVES et al., 2012; ASSIS et al., 2015; IP, 2015; SANTOS et al., 2012). Seguimos o protocolo utilizado por Pallotta et al. (2012), no qual

utilizaram $3\text{J}/\text{cm}^2$ com probe no comprimento de onda de 810nm, resultando na proliferação de condrócitos. Entretanto, diferente de Pallotta et al. (2013), o presente estudo utilizou comprimento de onda de 830nm. Ao avaliarmos o GOALa, pudemos observar presença de infiltrado inflamatório, neovascularização, atrofia das células epiteliais, degeneração da fibra muscular. Quando comparado ao GOA42 e GOA21 houve pouca melhora na avaliação histopatológica. Acredita-se que a escolha do comprimento de onda tenha sido inadequada, em vista que as maiores alterações encontradas estavam na membrana sinovial e não na cartilagem articular. Rosa et al. (2012) compararam dois tratamentos de laser com dosimetria diferente em ratos com OA induzida com papaína 4%. No grupo tratado com laser 660nm, observaram pequena quantidade de células inflamatórias, presença moderada de fibrose e ausência de vasos recém-formados. Enquanto que no grupo tratado com laser 808 nm, observaram presença de pequena quantidade de fibrose e de vasos recém-formados. Ambos os tratamentos se mostraram superiores ao grupo controle. Entretanto Oliveira et al. (2013) descobriram que apesar de na avaliação histológica, a terapia com laser com $10\text{ J}/\text{cm}^2$ ter modulado a progressão do processo degenerativo, na medição por contagem de Mankin o laser não foi capaz de diminuir o processo degenerativo além de não haver mudanças na expressão de IL1 β , TNF- α , e MMP-13 nos grupos tratados. Ao avaliarmos o GOAPrpLa observamos que mais da metade dos animais apresentou neovascularização na membrana sinovial e raras alterações nas células epiteliais da cápsula articular. A combinação entre PRP e laser se mostrou mais eficaz que o uso isolado do laser para a regeneração das células epteliais da cápsula articular. O conjunto de efeitos terapêuticos que o laser e o PRP podem proporcionar, suportam a teoria de que laserterapia teve uma influência positiva no processo de degranulação plaquetária, melhorando o metabolismo celular e controlando a apoptose celular. Barbosa et al. (2013), avaliaram os efeitos em conjunto ou isado do LTBI e PRP em lesões de tendões, e mostraram que houve maior deposição de colágeno do tipo I nos tratamentos combinados com PRP e LTBI, sugerindo regeneração mais rápida do tendão. Nenhum artigo foi encontrado relacionando os efeitos terapêuticos do PRP em conjunto com laser na lesões articulares.

O ultrassom terapêutico é uma das modalidades fisioterápicas mais citadas para tratamento de doenças articulares. Os efeitos terapêuticos relatados variam: aumento da elasticidade das estruturas colágenas e da permeabilidade celular, aumento da síntese protéica, aumento do trânsito de íons cálcio, aumento da atividade fibroblástica e angiogênese (VASCONCELOS et al., 2011). Porém, ao avaliarmos o GOAUS, averiguamos que o ultrassom utilizado na dose proposta, de forma isolada, trouxe efeito deletério a cápsula articular, aumentando a quantidade de células inflamatórias local, incluindo macrófagos na membrana sinovial. Acredita-se que a dose proposta para o presente estudo seja inadequada para o tratamento da OA. Alguns estudos corroboram nossos resultados, demonstrando que o ultrassom pode ser lesivo aos tecidos. Pereira et al. (1998) estudaram o efeito do UST no desenvolvimento do edema de pata de ratos artríticos, associado ao tratamento farmacológico com indometacina, onde observaram que a intensidade do UST utilizada foi lesiva, promovendo aumento do edema. Yang et al. (2014) avaliaram o uso de UST pulsado em defeitos severos na cartilagem articular de coelhos. Nenhuma diferença foi observada entre os grupos tratados e não tratados, incluindo que não foram observados novos depósitos de colágenos ou condrócitos no tecido lesionado, salientando ainda que o UST não é eficaz em OA severas. Entretanto, Nakamura et al. (2011) avaliaram *in vitro* os efeitos que o UST possui sobre a proliferação e crescimento de células da membrana sinovial, quando estimuladas com citocinas inflamatórias. Eles concluíram que as lesões histológicas foram reduzidas de forma significativa sugerindo que o UST pode ser utilizado em doenças inflamatórias articulares, como a sinovite. Isso prova que o ultrassom é um recurso físico ainda controverso, quanto aos seus efeitos e as suas interações com o meio biológico.

No que se diz do GOAPrpUS, notamos que houve melhora na quantificação de células na avaliação histopatológica quando comparamos ao GOAUS e GOA42. Possivelmente, o PRP agiu de forma positiva, protegendo a articulação dos efeitos deletérios da papaína e do UST. A presença de macrófagos na cápsula articular se fez presente em ambos os grupos tratados com UST, sendo que no GOAPrpUS foi observado conteúdo anfofílico no interior de um dos macrófagos, sugestivo de ser uma plaqueta. Chung, Min e Baik (2015) investigaram o efeito do UST sobre a inflamação sinovial e sua resolução por meio do apuramento de neutrófilos. O UST resultou na

diminuição de neutrófilos pelo aumento da fagocitose por macrófagos, que pode vir a ser um fator subjacente ao efeito terapêutico do UST na membrana sinovial de pacientes com artrite auto-imune. Por não haver nenhum outro trabalho correlacionado o uso de PRP com UST, em virtude dos resultados do presente trabalho, sugere-se que o UST não seja utilizado de forma concomitante com PRP.

Junqueira, Montes e Sanchez (1984), sugeriram que tipos de colágeno (I, II e III) teriam influência sobre a cor e intensidade de birrefringência por meio do método de polarização com Picrosirius, sugerindo ser método útil para o estudo da distribuição dos diferentes tipos de colágeno intersticial em tecidos normais de vertebrados. As fibras de colágeno são responsáveis pela tração dos tecidos, presente na maior parte do corpo dos vertebrados. Quando as fibras de colágeno são observadas sob luz polarizada, o realce da birrefringência promovido pela coloração Picrosirius exibe uma cor forte amarelo ou vermelho (BARBOSA et al., 2013). Naito et al. (2010) empregaram outra técnica para a avaliação e quantificação de fibras de colágeno, através da coloração imuno-histoquímica para Colágeno. Eles puderam constatar que UST foi capaz de aumentar a síntese de colágeno do tipo II na cartilagem articular através da ativação dos condrócitos em ratos com OA induzida. Na avaliação das lâminas na coloração Picrosirius do presente trabalho, houve diferença estatística entre os grupos GOA42 e GOAPrpLa quando comparado ao GC, sugerindo que a dose de papaína utilizada e a quantidade de aplicações feitas poderiam ter assolado fibras colágenas nas articulações dos animais induzidos e que o Laser em conjunto com PRP não gerou novas fibras colágenas na articulação dos animais. Santos (2012) utilizou a coloração de Picrosirius para quantificar as fibras de colágeno em ratos com OA induzida tratados com LTBI. O autor não observou alterações nas fibras de colágeno entre os grupos, sugerindo que durante o período estudado a lesão não tenha evoluído até o estágio para a perda de colágeno. O autor salientou ainda que esta metodologia empregada não é sensível para detectar as alterações no tipo do colágeno presente na MEC, uma vez que na fase inicial do processo degenerativo articular ocorre a substituição do colágeno tipo II.

Sugerimos que novos estudos sejam realizados para análise mais detalhada sobre os efeitos do PRP em conjunto com diferentes comprimentos de onda e dosimetria da laserterapia.

6. CONCLUSÕES

Da maneira que o estudo fora conduzido podemos concluir que:

- Uma única infiltração intra-articular de papaína 4% não foi capaz de induzir osteoartrite em joelhos de ratos, e sim sinovite.
- Os tratamentos utilizando plasma rico em plaquetas (PRP) xenógeno utilizado de forma isolado ou associado ao laser trazem melhores resultados, enquanto que os tratamentos com ultrassom terapêutico têm efeito deletério em sinovites em ratos.
- A termografia foi efetiva para diagnósticos e acompanhamento da sinovite em ratos.

7. REFERÊNCIAS

AGNE, J. E. **Eletrotermofototerapia**. 2. ed. Santa Maria, 2013. p. 318-340.

ALBANO, M. B.; VIDIGAL, L.; OLIVEIRA, M. Z.; NAMBA, M. M.; SILVA, J. L. V.; FILHO, F. A. P.; BARBOSA, M. A.; SILVA, E. M. B. Análise macroscópica dos efeitos dos hialuronatos e do corticosteroide no tratamento da osteoartrite induzida em joelhos de coelho. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 273-278, 2010.

ALTMAN, R.; ASCH, E.; BLOCH, D.; BOLE, G.; BORENSTEIN, D.; BRANDT, K.; CHRISTY, W.; COOKE, T. D.; GREENWALD, R.; HOCHBERG, M.; HOWELL, D.; KAPLAN, D.; KOOPMAN, W.; LONGLEY III, S.; MANKIN, H.; MCSHANE, D. J.; MEDSGER JR., T.; MEENAN, R.; MIKKELSEN, W.; MOSKOWITZ, R.; MURPHY, W.; ROTHSCCHILD, B.; SEGAL, M.; SOKOLOFF, L.; WOLFE, F. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: classification of osteoarthritis of the knee. **Arthritis & Rheumatology**, Malden, v. 29, n. 8, p. 1039-1049, 1986.

ALVES, A. C. A. **Efeitos do laser de baixa intensidade de 100mW e 50mW sobre a osteoartrose experimental**. 2012. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Reabilitação) - Universidade Nove de Julho, São Paulo, 2012.

ALVES, A. C. A.; CARVALHO, P. T. C.; PARENTE, M.; XAVIER, M.; FRIGO, L.; AIMBIRE, F.; JUNIOR, E. C. P. L.; ALBERTINI, R. Low-level laser therapy in different stages of rheumatoid arthritis: a histological study. **Lasers in Medical Science**, London, v. 28, n. 2, p. 526-536, 2012. Disponível em <DOI 10.1007/s10103-012-1102-7>.

ARDEN, N. K.; LEYLLAND, K. M. Osteoarthritis year 2013 in review: clinical. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 21, n. 10, p. 1409-1413, 2013.

ASSIS, L.; MILARES, L. P.; ALMEIDA, T.; TIM, C.; MAGRI, A.; FERNANDES, K. R.; MEDALHA, C.; MUNIZ RENNO, A. C. Aerobic exercise training and low-level laser therapy modulate inflammatory response and degenerative process in an experimental model of knee osteoarthritis in rats. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 24, n. 1, p. 169-177, 2015.

ATUKORALA, I.; KWOH, C. K.; GUERMAZI, A.; ROEMER, F. W.; BOUDREAU, R. M.; HANNON, M. J.; HUNTER, D. J. Synovitis in knee osteoarthritis: a precursor of disease? **Annals of Rheumatic Diseases**, London, v. 74, n. 10, p. 1–6, 2015.

AYRAL, X.; PICKERING, E. H.; WOODWORTH, T. G.; MACKILLOP, N.; DOUGADOS, M. Synovitis: a potential predictive factor of structural progression of medial tibiofemoral knee osteoarthritis - results of a 1 year longitudinal arthroscopic study in 422 patients. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 13, n. 5, p. 361-367, 2005.

BARBOSA, D.; SOUZA, R.; CARVALHO, A.; W. R. G.; XAVIER, M.; CARVALHO, P. K.; CUNHA, T. C. R.; ARISAWA, E. A. L.; SILVEIRA JUNIOR, L.; VILLAVEVERDE, A. B. Low-level laser therapy combined with platelet-rich plasma on the healing calcaneal tendon: a histological study in a rat model. **Lasers in Medicine Science**, London, v. 28, n. 6, p. 1489–1494, 2013.

BERTOLINI, G. R. F.; SILVA, T. S.; CIENA, A. P.; ARTIFON, E. L. Comparação do ultrassom pulsado e contínuo no reparo tendíneo de ratos. **Fisioter Pesq**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 242-7, 2012.

BRESSAN, E.; CUNHA, F. Q.; TONUSSI, C. R. Contribution of TNF-alpha, IL-1beta and CINC-1 for articular incapacitation, edema and cell migration in a model of LPS induced reactive arthritis. **Cytokine**, London, v. 36, n. 1-2, p. 83-89, 2006.

BRIOSCHI, M. **Metodologia de normalização de análise do campo de temperaturas em imagem infravermelha humana**. 2011. 115 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

BROOKS, P. M. Impact of osteoarthritis on individuals and society: how much disability? Social consequences and health economic implications. **Current Opinion in Rheumatology**, New York, v. 14, n. 5, p. 573-577, 2002.

CALADO, G. P.; LOPES, A. J. O.; JUNIOR, L. M. C.; LIMA, F. C. A.; SILVA, L. A.; PEREIRA, W. S.; AMARAL, F. M. M.; GARCIA, J. B. S.; CARTÁGENES, M. S. S.; NASCIMENTO, F. R. F. *Chenopodium ambrosioides* L. reduces synovial inflammation and pain in experimental osteoarthritis. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 11, 2015. Disponível em: <DOI:10.1371/journal.pone.0141886>.

CAŁKOSIŃSKI, I.; DOBRZYŃSKI, M.; ROSIŃCZYUK, J.; DUDEK, K.; CHRÓSZCZ, A.; FITA, K.; DYMAREK, R. The Use of infrared thermography as a rapid, quantitative, and noninvasive method for evaluation of inflammation response in different anatomical regions of rats. **BioMed Research International**, New York, v. 2015, p. 1-9, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2015/972535>>. Acesso em: 02 jun. 2015.

CARLOS, K. P.; BELLI, B. S.; ALFREDO, P. P. Efeito do ultrassom pulsado e do ultrassom contínuo associado a exercícios em pacientes com osteoartrite de joelho: estudo piloto. **Fisioterapia e Pesquisa**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 275-281, 2012.

CASTRO, R. R. **Efeitos da galactomanana de *Cyamopsis tetragonolobus* na osteoartrite induzida por transecção do ligamento cruzado anterior de ratos**. 2008, 115 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

CHUNG, J. I.; BARUA, S.; CHOI, B. H.; MIN, B. H.; HAN, C. H.; BAIK, E. J. Anti-inflammatory effect of low intensity ultrasound (LIUS) on complete Freund's adjuvant-induced arthritis synovium. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 20, n. 4, p. 314-322, 2012.

CHUNG, J. I.; MIN, B. H.; BAIK, E. J. The effect of continuous-wave low-intensity ultrasound in inflammatory resolution of arthritis-associated synovitis. **Physical Therapy**, Alexandria, nov. 2015. [Epub ahead of print].

COIMBRA, I. B.; PASTOR, E. H.; GREVE, J. M. D.; PUCCINELLI, M. L. C.; FULLER, R.; CAVALCANTI, F. S.; MACIEL, F. M. B.; HONDA, E. Osteoartrite (artrose): tratamento. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 44, n. 6, p. 450-453, 2004.

COOK, J. L.; SMITH, P. A.; BOZYNSKI, C. C.; KUROKI, K.; COOK, C. R. STOKER, A. M.; PFEIFFER, F. M. Multiple injections of leukoreduced platelet rich plasma reduce pain and functional impairment in a canine model of ACL and meniscal deficiency. **Journal of Orthopaedic Research**, London, sept. 2015. [Epub ahead of print]. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jor.23054/abstract>>. Acesso em: 17 out. 2015.

CORADINE, J. G.; MATTJIE, T. F.; BERNARDINO, G. R.; PERETTI, A. L.; KAKIHATA, C. M. M.; ERRERO, T. K.; ESCHER, A. R.; BERTOLINI, G. R. F. Comparação entre o laser de baixa potência, ultrassom terapêutico e associação, na dor articular em ratos Wistar. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 54, n. 1, p. 7-12, 2013.

DEL CARLO, R. J.; RODRIGUES, C. B. S.; NATALI, A. J.; MONTEIRO, B. S.; DEL CARLO, K. N.; SOUZA, T. D.; LIMONGE, C. R. Terapia laser de baixa potência (= 904nm) na reparação de defeito osteocondral experimental da cabeça umeral de cães. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 54, n. 311, p. 73-79, 2007.

DELLA NINA, M. I. **Avaliação termográfica comparativa do joelho íntegro e de cães submetidos a duas técnicas de osteotomia corretiva para estabilização articular após ruptura de ligamento cruzado cranial**. 2012. 98 f. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

DENOBLE, A. E., HALL, N.; PIEPER, C. F.; KRAUS, V. B. Patellar skin surface temperature by thermography reflects knee osteoarthritis severity. **Clinical Medicine Insights: Arthritis and Musculoskeletal Disorders**, Auckland, v. 3, p. 69–75, 2010.

FARIFAR, S.; MALEKSHAHABI, T.; SHIARI, R. Biological effects of low level laser therapy. **Journal of Laser in Medical Sciences**, Tehran, v. 5, n. 2, p. 58-62, 2014.

FILARDO, G.; KON, E.; BUDA, R.; TIMONCINI, A.; DI MARTINO, A.; CENACCHI, A.; FORNASARI, P. M.; GIANNINI, S.; MARCACCI, M. Platelet-rich plasma intra-articular knee injections for the treatment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis. **Knee Surgery, Sports Traumatology Arthroscopy**, Heidelberg, v. 19, n. 2, p. 528–535, 2011.

GOBBI, A.; KARNATZIKOS, G.; MAHAJAN, V.; MALCHIRA, S. Platelet-rich plasma treatment in symptomatic patients with knee osteoarthritis: preliminary results in a group of active patients, **Sports Health**, Thousand Oaks, v. 4, n. 2, p. 162- 172, 2012.

GOLDRING, S. R.; GOLDRING, M. B. Biology of the normal joint. In: HARRIS J. R. et al. **Kelly's textbook of rheumatology**. 7. ed. Philadelphia: WB Saunders. Co., 2005.

GÖRMELI, G.; GÖRMELI, C. A.; ATAOGU, B.; ÇOLAK, C.; ALANTÜRK, O.; ERTEM, K. Multiple PRP injections are more effective than single injections and hyaluronic acid in knees with early osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Knee Surgery, Sports Traumatology Arthroscopy**, Heidelberg, ago. 2015. [Epub ahead of print]. Disponível em: <DOI 10.1007/s00167-015-3705-6>. Acesso em: 17 out. 2015.

GUSMÃO, C. L. M. **Avaliação histológica de cabeça e colo femorais após terapia com laser de baixa intensidade**. 2011. 57 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2011.

HAYWOOD, L; MCWILLIAMS, D. F.; PEARSON, C. I.; GILL, S. E.; GANESAN, A.; WILSON, D.; WALSH, D. A. Inflammation and angiogenesis in osteoarthritis. **Arthritis & Rheumatism**, Malden, v. 48, n. 8, p. 2173-2177, 2013.

HEGEDŰS, B.; VIHAROS, L.; GERVAIN, M.; GÁLFI, M. The effect of low-level laser in knee osteoarthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Photomedicine and Laser Surgery**, New Rochelle, v. 27, n. 4, p. 577-584, 2009.

HUANG, Z.; CHEN, J.; MA, J.; SHEN, B.; PEI, F.; KRAUS, V. B. Effectiveness of low-level laser therapy in patients with knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 23, n. 9, p. 1437 -1444, 2015.

IP, D. Does addition of low-level laser therapy (LLLT) in conservative care of knee arthritis successfully postpone the need for joint replacement? **Lasers in Medical Science**, London, v. 30, n. 9, p. 2335-2339, 2015. Disponível em: <DOI 10.1007/s10103-015-1814-6>. Acesso em: 23 out. 2015.

JI, L.; TING, Y.; CHANGQING, Z. Effect of platelet-rich plasma on synovitis of rabbit knee. **Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery**, Sichuan, v. 25, n. 3, p. 285- 290, 2011.

JUNIOR, F. S. S. **Osteoartrite experimental em ratos: efeitos de sulfato de glicosamina e sulfato de condroitina sobre a incapacitação articular e a lesão da cartilagem articular**. 2007. 93 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

JUNQUEIRA, L. C. U.; MONTES, G. S.; SANCHEZ, E. M. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the picrosirius -polarization method. **Histochemistry**, Heidelberg, v. 74, n. 1, p. 153-156, 1982.

KNOP, E.; PAULA, L. E.; FULLER, R. Plasma rico em plaquetas no tratamento da osteoartrite. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, 2015. [In press, correct proof.] Disponível em: <[doi:10.1016/j.rbr.2015.01.007](https://doi.org/10.1016/j.rbr.2015.01.007)>. Acesso em: 17 out. 2015.

KON, E.; MANDELBAUM, B.; BUDA, R.; FILARDO, G.; DELCOGLIANO, M.; TIMONCINI, A.; FORNASARI, P. M.; GIANNINI, S.; MARCACCI, M. Platelet-rich plasma intra-articular injection versus hyaluronic acid viscosupplementation as treatments for cartilage pathology: from early degeneration to osteoarthritis. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery**, Maryland Heights, v. 27, n. 11, p. 1490-1501, 2011.

LAI, P. L.; STITIK, T. P.; FOVE, P. M.; GEORGY, J. S.; PATIBANDA, V.; CHEN, B. Use of platelet-rich plasma in intra-articular knee injections for osteoarthritis: a systematic review. **PM&R**, Maryland Heights, v. 7, n.6, p. 637-648, 2015.

LEITE, A. A.; COSTA, A. J. G.; MATHEOS DE LIMA, B. A.; PADILHA, A. V. L.; ALBUQUERQUE, M. C.; MARQUES, C. D. L. Comorbidades em pacientes com osteoartrite: frequência e impacto na dor e na função física. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 51, n. 2, p. 113-123, 2011.

LEVINE, D.; MILLIS, D. L.; MARCELLIN-LITTLE, D. J.; TAYLOR, R. **Reabilitação e fisioterapia na prática de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2008. p. 83-88, 95-106, 136-137.

LINDLEY, S.; WATSON, P. **BSAVA Manual of canine and feline rehabilitation, supportive and palliative care**: case studies in patient management. Quedgeley, Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2010.

LITTLE, C. B.; SMITH, M. M. Animal models of osteoarthritis. **Current Rheumatology Reviews**, Bussum, v. 4, n. 3, p. 1-8, 2008. Disponível em: <http://www.miosge.med.uni-goettingen.de/files/downloads/Reviews/11_Smith_CRR.pdf>. Acesso em: 21 fev. 2008.

LOESER, R. F. Osteoarthritis year in review 2013: biology. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 21, n. 10, p. 1436-1442, 2013.

LOPEZ-VIDRIERO, E.; GOULDING, K. A.; SIMON, D. A.; SANCHEZ, M.; JOHNSON, D. H. The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: optimizing the healing environment. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery**, Maryland Heights, v. 26, n. 2, p. 269-278, 2010.

MAIA, L.; SOUZA, M.V. Componentes ricos em plaquetas na reparação de afecções tendo-ligamentosas e osteoarticulares em animais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1267-1274, 2009.

MANGUEIRA, N. M.; XAXIER, M.; SOUZA, R. A.; SALGADO, M. A. C.; SILVEIRA, L.; VILLAVERDE, A. B. Effect of Low-Level Laser Therapy in an Experimental model of osteoarthritis in rats evaluated through raman spectroscopy. **Photomedicine and Laser Surgery**, New Rochelle, v. 33, n. 3, p. 145-153, 2015.

MEHEXUS, C. J.; MCCULLOCH, P. C.; LINTNER, D. M.; VARNER, K. E.; HARRIS, J. D. Efficacy of Intra-articular platelet-rich plasma injections in knee osteoarthritis: a systematic review. **Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery**, Maryland Heights, p. 1-11, 2015. [Epub ahead of print].

MORATO, G. O. **Osso esponjoso liofilizado de cão utilizado como enxerto puro e associado a plasma rico em plaquetas ou medula óssea em falhas ósseas induzidas em coelhos – estudo experimental**. 2013. 80 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

MOSHER, T. J.; WALKER, E. A.; PETSCAVAGE-THOMAS, J.; GUERMAZI, A. Osteoarthritis year 2013 in review: imaging. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 21, n. 10, p. 1425-1435. 2013.

MURAT, N.; KARADAM, B.; OZKAL, S.; KARATOSUN, V.; GIDENER, S. Quantification of papain-induced rat osteoarthritis in relation to time with the Mankin score. **Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica**, İstanbul, v. 41, n. 3, p. 233-237, 2007.

NAITO, K.; WATARI, T.; MUTA, T.; FURUHATA, A.; IWASE, H.; GARASHI, M.; KUROSAWA, H.; NAGAOKA, I.; KANEKO, K. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) increases the articular: cartilage type II collagen in a rat osteoarthritis model. **Journal of Orthopaedic Research**, Hoboken, v. 28, n. 3, p. 361-369, 2010. Disponível em: <DOI 10.1002/jor.20995>. Acesso em: 16 fev. 2014.

NAKAMURA, T.; FUJIHARA, S.; NAGATA, K. Y.; KATSURA, T.; INUBUSHI, T. TANAKA, E. Low-Intensity pulsed ultrasound reduces the inflammatory activity of synovitis. **Annals of Biomedical Engineering**, New York, v. 39, n. 12, p. 2964–2971, 2011.

OLIVEIRA, P.; SANTOS, A. A.; RODRIGUES, T.; TIM, C. R.; PINTO, K. Z.; MAGRI, A. M. P.; FERNANDES, K. R.; MATTIELLO, S. M.; PARIZOTTO, N. A.; ANIBAL, F. F.; RENNÓD, A. C. M. Effects of phototherapy on cartilage structure and inflammatory markers in an experimental model of osteoarthritis. **Journal of Biomedical Optics**, Bellingham, v. 18, n. 12, p. 128004-10, 2013. Disponível em: <<http://spiedigitallibrary.org/ss/TermsOfUse.aspx>>. Acesso em: 31 jan. 2016.

PALLOTTA, R. C.; BJORDAL, J. M.; FRIGO, L.; JUNIOR, E. C. P. L.; TEIXEIRA, S.; MARCOS, R. L.; RAMOS, L.; MESSIAS, F. M.; MARTINS, R. A. B. L. Infrared (810-nm) low-level laser therapy on rat experimental knee inflammation. **Lasers in Medicine Science**, London, v. 27, n. 1, p. 71–78, 2012. Disponível em: <DOI 10.1007/s10103-011-0906-1>. Acesso em: 31 jan. 2016.

PAZZANI, J. M. **Plasma rico em plaquetas empregado na cirurgia reconstrutiva em coelhos (*oryctolagus cuniculus*):** avaliação da exequibilidade da técnica, achados macroscópicos e histopatológicos. 2014. 104 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.

PELLETIER, J. M. Pathophysiology of osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 12, p. S31–S33, 2004.

PEREIRA, L. S. M.; FRANCISCHI, J. N.; SILVA, F. M. P.; SANTOS, A. M. C.; TIRADENTES, K. A.; CARMO, S. C. Os efeitos do ultra-som na hiperalgesia e no edema de ratos artríticos. **Revista De Fisioterapia Da Universidade De São Paulo**, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 83-96, 1998.

PRITZER, K. P.; GAY, S.; JIMENEZ, S. A.; OSTERGAARD, K.; PELLETIER, J. P.; REVELL, P. A.; SALTER, D.; BERG, W. B. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. **Osteoarthritis and cartilage**, London, v. 14, n. 1, p. 13-29, 2006.

RASERA, L.; MACORIS, D. G.; CANOLA, J. C.; AITA, A. C.; GOMES, T. L. S. Alterações radiográficas e ultra-sonográficas iniciais em osteoartrite experimental equina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 3, p. 634-640, 2007.

REDDI, A. H. Cartilage morphogenetic proteins: role in joint development, homeostasis, and regeneration. **Annals of the Rheumatic Disease**, London, v. 62, p. ii73–ii78, 2003. Disponível em: <doi: 10.1136/ard.62.suppl_2.ii73>. Acesso em: 21 fev. 2104.

REZENDE, M. U.; SILVA, R. B. B.; BASSIT, A. C. F.; TATSUI, N. H.; SADIGURSKY, D.; NETO, R. B. Efeito do plasma rico em plaquetas na apoptose pós-traumática de condrócitos. **Acta de Ortopedia Brasileira**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 102-105, 2011.

RING, E. F. J.; AMMER, A. Infrared thermal imaging in medicine. **Physiological Measurement**, Philadelphia, n. 33, R33-R46, 2012.

ROSA, A. C. **Efeitos da radiação laser de baixa potência com comprimentos de onda de 660nm e 904nm em um modelo experimental de osteoartrite**. 106 f. 2009. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro – Oeste) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

ROSA, A. S.; SANTOS, A. F.; SILVA, M. M.; FACCO, G. G.; PERREIRA, D. M.; ALVES, A. C. A.; JUNIOR, E. C. P. L.; CARVALHO, P. T. C. Effects of low-level laser therapy at wavelengths of 660 and 808 nm in experimental model of osteoarthritis. **Photochemistry and Photobiology**, Malden, v. 88, n. 1, p. 161–166, 2012.

SAMPSON, S.; REED, M.; SILVERS, H.; MENG, M.; MANDELBAUM, B. Injection of platelet-rich plasma in patients with primary and secondary knee osteoarthritis: a pilot study. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, Philadelphia, v. 89, n. 12, p. 961-969, 2010.

SANDELL, L. J. Etiology of osteoarthritis: genetics and synovial joint development. **Nature Reviews Rheumatology**, London, v. 8, n. 2, p. 77–89, 2012. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrrheum/journal/v8/n2/pdf/nrrheum.2011.199.pdf>>. Acesso em: 18 out. 2015.

SANTOS, A. A. **Os efeitos do laser terapêutico na cartilagem articular em modelo experimental de osteoartrite induzida por transecção do ligamento cruzado anterior**. 70 f. 2012. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.

SANTOS, S. A.; ALVES, A. C. A.; JUNIOR, E. C. P. L.; ALBERTINI, R.; VIEIRA, R. P.; LIGEIRO, A. P.; JUNIOR, J. A. S.; CARVALHO, P. T. C. Comparative analysis of two low-level laser doses on the expression of inflammatory mediators and on neutrophils and macrophages in acute joint inflammation. **Lasers in Medical Science**, London, v. 29, n. 3, p. 1051–1058, 2014.

SNEKHALATHA, U.; ANBURAJAN, M.; VENKATRAMAN, B.; MENAKA, M. Evaluation of complete freund's adjuvant-induced arthritis in a wistar rat model Comparison of thermography and histopathology. **Zeitschrift für Rheumatologie**, v. 72, p. 375–382, 2013.

SPAKOVÁ, T.; ROSOCHA, J.; LACKO, M.; HARVANOVÁ, D.; GHARAIBEH, A. Treatment of knee joint osteoarthritis with autologous platelet-rich plasma in comparison with hyaluronic acid. **American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation**, Philadelphia, v. 91, n. 5, p. 95, 2012.

TUNÉR, J.; HODE, L. **The new laser therapy handbook**. Coeymans Hollow NY: Prima books AB-Sweden, 2010.

VARJÚ, G.; PIEPER, C. F.; RENNER, J. B.; KRAUS, V. B. Assessment of hand osteoarthritis: correlation between thermographic and radiographic methods. **Rheumatology**, London, v. 43, n. 7, p. 915-919, 2004.

VASCONCELOS, R. S.; MONTEIRO, L. T.; MEDEIROS, M. A. S.; ABDON, A. P. V.; CAMPOS, A. R. Efeito do ultra-som terapêutico na artrite experimental em ratos. **Fisioterapia Ser**, Petrópolis, v. 6, n. 1, p. 9-12, 2011.

WANG, P.; LIU, C.; YANG, X.; ZHOU, Y. WEI, X.; JI, Q.; YANG, L.; HE, C. Effects of low-level laser therapy on joint pain, synovitis, anabolic, and catabolic factors in a progressive osteoarthritis rabbit model. **Lasers in Medical Science**, London, v. 29, n. 6, p. 1875–1885, 2014.

WATSON, T. Ultrasound in contemporary physiotherapy practice. **Ultrasonics**, Amsterdam, Beijing, v. 48, n. 4, p. 321-329, 2008.

XU, S. Y.; ZHANG, L. M.; YAO, X. M.; ZHOU, G. Q.; LI, X.; HE, B. J.; CHEN, X. G. Effects and mechanism of low-intensity pulsed ultrasound on extracellular matrix in rabbit knee osteoarthritis. **Zhongguo Gu Shang**, Beijing, v. 27, n. 9, p. 766- 771, 2014.

YANG, S. W.; KUO, C. L.; CHANG, S. J.; CHEN, P. C.; LIN, Y. T.; MANOUSAKAS, I.; KUO, S. M. Does low-intensity pulsed ultrasound treatment repair articular cartilage injury? A rabbit model study. **BMC Musculoskeletal Disorders**, London, v. 15, n. 36, 2014. Disponível em: < <http://www.biomedcentral.com/1471-2474/15/36>>. Acesso em: 13 fev. 2014.

ZHANG, C.; XIE, Y.; LUO, X.; JI, Q.; LU, C.; HE, C.; WANG, P. Effects of therapeutic ultrasound on pain, physical functions and safety outcomes in patients with knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. **Clinical Rehabilitation**, London, oct. 2015. [Epub ahead of print]. Disponível em: <<http://cre.sagepub.com/content/early/2015/10/06/0269215515609415.abstract>> Acesso em: 31 dez. 2015.

8. APÊNDICES

8.1 Apêndice A

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GRUPO CONTROLE

DIA 0- 29/09 - 24,4°C			DIA 7 - 06/10 - 25,3°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4cm	4cm	R1	OBITO*	
R2	4cm	4cm	R2	4cm	4cm
R3	4cm	4cm	R3	4cm	4cm
R4	4cm	4cm	R4	3,5cm	3,5cm
R5	5cm	5cm	R5	4cm	4cm
R6	5cm	5cm	R6	4cm	4cm
R7	5cm	5cm	R7	4cm	4cm
R8	5cm	5cm	R8	4cm	4cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
DIA 14- 13/10 - 28°C			DIA 21- 20/10 - 27,5°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	OBITO*		R1	3,5cm	3,5cm
R2	3,5cm	3,5cm	R2	3,5cm	3,5cm
R3	4cm	4cm	R3	4cm	4cm
R4	3cm	3cm	R4	3cm	3cm
R5	3,5cm	3,5cm	R5	3,5cm	3,5cm
R6	3,5cm	3,5cm	R6	3,5cm	3,5cm
R7	3,5cm	3,5cm	R7	3,5cm	3,5cm
R8	3,5cm	3,5cm	R8	3,5cm	3,5cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
DIA 28- 27/10 - 21°C			DIA 35- 03/11 - 21°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	3,5cm	3,5cm	R1	4cm	4cm
R2	3,5cm	3,5cm	R2	3,5cm	3,5cm
R3	4cm	4cm	R3	4cm	4cm
R4	3cm	3cm	R4	3cm	3cm
R5	3,5cm	3,5cm	R5	3,5cm	3,5cm
R6	3,5cm	3,5cm	R6	3,5cm	3,5cm
R7	3,5cm	3,5cm	R7	3,5cm	3,5cm
R8	3,5cm	3,5cm	R8	3,5cm	3,5cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GRUPO CONTROLE

DIA 42- 10/11 - 21,2°C			DIA 49- 17/11 - 21°C**		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4cm	4cm	R1	4cm	4cm
R2	3,5cm	3,5cm	R2	3,5cm	3,5cm
R3	4cm	4cm	R3	4cm	4cm
R4	3,5cm	3,5cm	R4	3,5cm	3,5cm
R5	4cm	4cm	R5	4cm	4cm
R6	4cm	4cm	R6	4cm	4cm
R7	4cm	4cm	R7	4cm	4cm
R8	4cm	4cm	R8	4cm	4cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

*OBITO- ANIMAL DOADO PARA OUTRO GRUPO

** EUTANASIA DO GRUPO CONTROLE

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GCF

DIA 0- 29/09 - 25°C			DIA 3 PO- 02/10 - 26°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4cm	4cm	R1	4cm	4cm
R2	4cm	4cm	R2	4cm	4cm
R3	4cm	4cm	R3	4cm	4cm
R4	4cm	4cm	R4	4cm	4cm
R5	5cm	5cm	R5	5cm	5cm
R6	5cm	5cm	R6	5cm	5cm
R7	5cm	5cm	R7	5cm	5cm
R8	5cm	5cm	R8	5cm	5cm
DIR		ESQ	DIR		ESQ

DIA 7 PO- 06/10 - 26,5°C			DIA 14 PO- 13/10 - 28°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1			R1		
R2	4cm	4cm	R2	4cm	4cm
R3	3,5cm	3,5cm	R3	4cm	4cm
R4	3,5cm	3,5cm	R4	3,5cm	3,5cm
R5	3,5cm	3,5cm	R5	3,5cm	3,5cm
R6	4cm	4cm	R6	4cm	4cm
R7	3,5cm	3,5cm	R7	3,5cm	3,5cm
R8	3,5cm	3,5cm	R8	3,5cm	3,5cm
	4,5cm	4,5cm		4cm	4cm
DIR		ESQ	DIR		ESQ

DIA 21 PO- 20/10 - 18°C			DIA 28 PO- 27/10 - 20°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4cm	4cm	R1	4cm	4cm
R2	4cm	4cm	R2	4cm	4cm
R3	4cm	4cm	R3	4cm	4cm
R4	3,5cm	3,5cm	R4	3,5cm	3,5cm
R5	3,5cm	3,5cm	R5	4cm	4cm
R6	3,5cm	3,5cm	R6	4cm	4cm
R7	3,5cm	3,5cm	R7	3,5cm	3,5cm
R8	4cm	4cm	R8	4cm	4cm
DIR		ESQ	DIR		ESQ

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GCF

DIA 35 PO- 03/11 - 18°C			DIA 42 PO- 10/11 - 19,5°C **		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	3,5cm	3,5cm	R1	4cm	4cm
R2	4cm	4cm	R2	3,5cm	3,5cm
R3	4cm	4cm	R3	4cm	4cm
R4	4cm	4cm	R4	3,5cm	3,5cm
R5	4cm	4cm	R5	4cm	4cm
R6	4cm	4cm	R6	4cm	4cm
R7	4cm	4cm	R7	4cm	4cm
R8	4cm	4cm	R8	4,5cm	4,5cm
DIR		ESQ	DIR		ESQ
**EUTANASIA DO GCF					

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOA21

DIA 0 PO- 29/09 - 26°C					DIA 3 PO- 02/10 - 26°C				
IR- T C°		PERIMETRIA			IR- T C°		PERIMETRIA		
R1	35,5°	35,5°	4 cm	4 cm	R1	36°	35,7°	3,5 cm	4 cm
R2	35,5°	35,5°	4 cm	4 cm	R2	35,5°	35,5°	3 cm	3,5 cm
R3	36°	36°	4 cm	4 cm	R3	36,1°	35,4°	4 cm	4 cm
R4	35,8°	35,8°	4 cm	4 cm	R4	35,8°	35,5°	3,5 cm	3,5 cm
R5	35°	35°	4 cm	4 cm	R5	35°	35°	4 cm	4 cm
R6	36,4°	36,4°	4 cm	4 cm	R6	36,4°	36,4°	3,5 cm	4 cm
R7	35,3°	35,5°	4 cm	4 cm	R7	35,3°	35,5°	3,5 cm	4 cm
R8	35,5°	35,5°	4 cm	4 cm	R8	35,5°	36°	3 cm	3,5 cm
	DIR	ESQ	DIR	ESQ		DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 7 PO- 06/10 - 24°C					DIA 14 PO- 13/10 - 29°C				
IR- T C°		PERIMETRIA			IR- T C°		PERIMETRIA		
R1	34,7°	36°	3,5 cm	4 cm		36,6°	37°	3 cm	3,5 cm
R2	35,6°	35,7°	3 cm	3,5 cm		36,4°	37°	3 cm	3 cm
R3	35,8°	36°	4 cm	4 cm		36,1°	36,4°	4 cm	4 cm
R4	35,7°	35,5°	3,5 cm	3,5 cm		36,3°	36,5°	3 cm	3 cm
R5	35°	35°	4 cm	4 cm		35,5°	36°	3,5 cm	3,5 cm
R6	35,7°	35,7°	3,5 cm	4 cm		36,7°	37°	3,5 cm	3,5 cm
R7	35,2°	35,8°	3,5 cm	4 cm		36°	36,7°	3,5 cm	4 cm
R8	35,5°	35,7°	3 cm	3,5 cm		36°	36,2°	3,5 cm	3,5 cm
	DIR	ESQ	DIR	ESQ		DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 21 PO- 20/10 - 26°C*				
IR- T C°		PERIMETRIA		
R1	31,9°	33,1°	3,5 cm	3,5 cm
R2	31,7°	32,6°	3,5 cm	3,5 cm
R3	32,4°	33,8°	4 cm	4 cm
R4	32,8°	31,9°	3,5 cm	3,5 cm
R5	31,4°	31°	4 cm	4 cm
R6	31,5°	32°	3,5 cm	3,5 cm
R7	32,3°	31,1°	3,5 cm	3,5 cm
R8	31,6°	31,7°	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

*EUTANASIA DO GRUPO PAPAINA 21 DIAS.

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOALa

DIA 0 - 01/10 - 26°C			DIA 03 PO- 03/10 - 20°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
DIA 7 PO- 08/10 - 26°C			DIA 14 PO- 15/10 - 27°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	3,5 cm	3,5 cm	R1	3,5 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	3,5 cm	4 cm
R3	3,5 cm	3,5 cm	R3	3,5 cm	3,5 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	3,5 cm	3,5 cm
R6	3,5 cm	4 cm	R6	3,5 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	3,5 cm	3,5 cm
R8	3,5 cm	3,5 cm	R8	3,5 cm	3,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
DIA 21 PO- 22/10 - 20°C *			DIA 23 PO- 24/10 - 20°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	3,5 cm	3,5 cm	R1	3,5 cm	3,5 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	3,5 cm	4 cm	R3	3,5 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	3 cm	3,5 cm	R8	3 cm	3,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

* INICIO DE TRATAMENTO

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOALa

DIA 26 PO- 27/10 - 20°C			DIA 28 PO- 29/10 - 20°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	3,5 cm	3,5 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	3,5 cm	4 cm	R3	3,5 cm	3,5 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	3,5 cm	3,5 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	3 cm	3 cm	R8	3 cm	3 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 30 PO- 31/10 - 20°C			DIA 33 PO- 03/11 - 20°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4,5 cm	4,5 cm	R2	4 cm	4,5 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4,5 cm	4,5 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4,5 cm	4,5 cm	R6	4,5 cm	4,5 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	3,5 cm	3,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 35 PO- 05/11 - 20° C			DIA 37 PO- 07/11 - 21°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4,5 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	3,5 cm	3,5 cm	R8	3,5 cm	3,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOALa

DIA 40 PO- 10/11 - 19,5°C			DIA 42 PO- 12/11 - 19°C**		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4,5 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4,5 cm	4,5 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	5 cm	5 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	3,5 cm	3,5 cm	R8	3,5 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

****EUTANASIA DO GRUPO LASER**

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAUST

DIA 0 - 01/10 - 26°C			DIA 03 PO- 03/10 - 20°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	3 cm	3 cm	R3	3 cm	3 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
DIA 7 PO- 08/10 - 26°C			DIA 14 PO- 15/10 - 28°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	3,5 cm	3,5 cm
R2	3,5 cm	3,5 cm	R2	3,5 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	3 cm	3 cm
R6	3,5 cm	4 cm	R6	3 cm	3 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	3,5 cm	4 cm	R8	3,5 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
DIA 21 PO- 22/10 - 20°C *			DIA 23 PO- 24/10 - 20°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	3,5 cm	3,5 cm	R1	3,5 cm	3,5 cm
R2	3,5 cm	3,5 cm	R2	3,5 cm	3,5 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	3,5 cm	3,5 cm	R4	3,5 cm	3,5 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	3,5 cm	3,5 cm	R6	3,5 cm	3,5 cm
R7	3,5 cm	3,5 cm	R7	3,5 cm	3,5 cm
R8	3,5 cm	3,5 cm	R8	3,5 cm	3,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

* INICIO DE TRATAMENTO

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAUST

DIA 26 PO- 27/10 - 20°C			DIA 28 PO- 29/10 - 20°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	3,5 cm	3,5 cm	R1	3 cm	3 cm
R2	3,5 cm	3,5 cm	R2	3 cm	3 cm
R3	3,5 cm	3,5 cm	R3	3,5 cm	3,5 cm
R4	3,5 cm	3,5 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	3,5 cm	3,5 cm	R5	3,5 cm	4 cm
R6	3,5 cm	3,5 cm	R6	3,5 cm	3,5 cm
R7	3,5 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	3,5 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 30 PO- 31/10 - 20°C			DIA 33 PO- 03/11 - 20°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	3 cm	3,5 cm	R1	3,5 cm	3,5 cm
R2	3,5 cm	3,5 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4,5 cm	4,5 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 35 PO- 05/11 - 20° C			DIA 37 PO- 07/11 - 21°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	3,5 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	3,5 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	3,5 cm	3,5 cm	R8	3,5 cm	3,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAUST

DIA 40 PO- 10/11 - 19,5°C			DIA 42 PO- 12/11 - 19°C**		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	3,5 cm	3,5 cm	R6	3,5 cm	3,5 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	3,5 cm	3,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
**EUTANASIA DO GRUPO ULTRASSOM					

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOA42

DIA 0 - 19/11 -20,5°C			DIA 3 PO- 21/11 -26,5°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	3,5 cm	3,5 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	3,5 cm	3,5 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4,5 cm	4,5 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 7 PO- 26/11 -26°C			DIA 14 PO- 02/12 -26°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4,5 cm	4,5 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 21 PO - 10/12 -22°C			DIA 28 PO - 17/12 -22°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4,5 cm	R1	4,5 cm	4,5 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4,5 cm	4,5 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4,5 cm	4,5 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	-	-
R6	4,5 cm	4,5 cm	R6	4,5 cm	4,5 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4,5 cm	4,5 cm	R8	4,5 cm	4,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOA42

DIA 35 PO - 24/12 -22,5°C			DIA 42 PO - 31/12 -21°C **		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	-	-	R5	-	-
R6	4,5 cm	4,5 cm	R6	4,5 cm	4,5 cm
R7	4,5 cm	4,5 cm	R7	4,5 cm	4,5 cm
R8	4,5 cm	4,5 cm	R8	4,5 cm	4,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
** EUTANÁSIA GOA42					

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAPrp

DIA 0 - 19/11 -20,5°C			DIA 3 PO- 21/11 -26,5°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	3,5 cm	3,5 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
DIR		ESQ	DIR		ESQ
DIA 7 PO - 26/11 -25°C			DIA 14 PO- 02/12 -26°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4,5 cm	4,5 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4,5 cm	4,5 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4,5 cm	4,5 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
DIR		ESQ	DIR		ESQ
DIA 21 PO - 10/12 -22°C *			DIA 28 PO - 17/12 -22°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4,5 cm	4,5 cm	R1	-	-
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4,5 cm	4,5 cm
R4	3,5 cm	3,5 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4,5 cm	4,5 cm
R6	4,5 cm	4,5 cm	R6	4,5 cm	4,5 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4,5 cm	4,5 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
DIR		ESQ	DIR		ESQ
* APLICAÇÃO PRP					

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAPrp

DIA 35 PO - 24/12 -22,5°C			DIA 42 PO - 31/12 -21°C **		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	-	-	R1	-	-
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
DIR		ESQ	DIR		ESQ
** EUTANÁSIA GRUPO					

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAPrPLa

DIA 0 - 19/11 -20,5°C			DIA 3 PO- 21/11 -26,5°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	3,5 cm	3,5 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	3,5 cm	3,5 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4,5 cm	4,5 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4,5 cm	4,5 cm	R6	3,5 cm	3,5 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	3,5 cm	3,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
DIA 7 PO - 26/11 -25°C			DIA 14 PO- 02/12 -26°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	3,5 cm	3,5 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4 cm	4 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
DIA 21 PO - 10/12 -22°C *			DIA 23 PO- 12/12 - 22°C **		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4,5 cm	4,5 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	-	-
R6	4,5 cm	4,5 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4,5 cm	4,5 cm	R7	4,5 cm	4,5 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
* APLICAÇÃO PRP			** INICIO TRATAMENTO- 2 DIAS APÓS PRP		

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAPrpLa

DIA 26 PO- 15/12 - 20°C			DIA 28 PO - 17/12 - 22°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4,5 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4,5 cm	4,5 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	-	-	R5	-	-
R6	4,5 cm	4,5 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4,5 cm	4,5 cm	R8	4,5 cm	4,5 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 30 PO - 19/12 - 22°C			DIA 33 PO- 22/12 - 22,5°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4,5 cm	4,5 cm	R1	4,5 cm	4,5 cm
R2	4,5 cm	4,5 cm	R2	4,5 cm	4,5 cm
R3	4,5 cm	4,5 cm	R3	4,5 cm	4,5 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	-	-	R5	-	-
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4,5 cm	4,5 cm	R7	4,5 cm	4,5 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 35 PO - 24/12 - 22°C			DIA 37 PO - 26/12 - 22°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4,5 cm	4,5 cm	R1	4,5 cm	4,5 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4,5 cm	4,5 cm	R4	4,5 cm	4,5 cm
R5	-	-	R5	-	-
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAPrpLa

DIA 39 PO - 28/12 -22°C			DIA 42 PO - 31/12 -21°C ***		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4,5 cm	4,5 cm	R1	4,5 cm	4,5 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4,5 cm	4,5 cm
R5	-	-	R5	-	-
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
*** EUTANÁSIA GRUPO					

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAPrpUS

DIA 0 - 19/11 -20,5°C				DIA 3 PO- 21/11 -26,5°C			
PERIMETRIA				PERIMETRIA			
R1	4 cm	4 cm		R1	4 cm	4 cm	
R2	4 cm	4 cm		R2	4 cm	4 cm	
R3	4 cm	4 cm		R3	3,5 cm	3,5 cm	
R4	4 cm	4 cm		R4	4,5 cm	4,5 cm	
R5	4 cm	4 cm		R5	4 cm	4 cm	
R6	4 cm	4 cm		R6	4 cm	4 cm	
R7	4 cm	4 cm		R7	4 cm	4 cm	
R8	4 cm	4 cm		R8	3,5 cm	3,5 cm	
	DIR	ESQ			DIR	ESQ	
DIA 7 PO - 26/11 -25°C				DIA 14 - 02/12 -24°C			
PERIMETRIA				PERIMETRIA			
R1	4 cm	4 cm		R1	4 cm	4,5 cm	
R2	4 cm	4 cm		R2	4 cm	4 cm	
R3	4 cm	4 cm		R3	4 cm	4 cm	
R4	4 cm	4 cm		R4	4 cm	4 cm	
R5	4 cm	4 cm		R5	4 cm	4 cm	
R6	4 cm	4 cm		R6	4 cm	4 cm	
R7	4 cm	4 cm		R7	4 cm	4 cm	
R8	4 cm	4 cm		R8	4 cm	4 cm	
	DIR	ESQ			DIR	ESQ	
DIA 21 PO - 10/12 -22°C *				DIA 23 PO- 12/12 - 22°C **			
PERIMETRIA				PERIMETRIA			
R1	4 cm	4 cm		R1	4 cm	4,5 cm	
R2	4 cm	4 cm		R2	4 cm	4 cm	
R3	4 cm	4 cm		R3	4 cm	4 cm	
R4	4 cm	4 cm		R4	4 cm	4 cm	
R5	4 cm	4 cm		R5	4,5 cm	4,5 cm	
R6	4 cm	4 cm		R6	4 cm	4 cm	
R7	4 cm	4 cm		R7	4 cm	4 cm	
R8	4 cm	4 cm		R8	4 cm	4 cm	
	DIR	ESQ			DIR	ESQ	

* APLICAÇÃO PRP

** INICIO TRATAMENTO- 2 DIAS APÓS PRP

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAPrpUS

DIA 26 PO- 15/12 - 20°C			DIA 28 PO - 17/12 -22°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4 cm	4 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4,5 cm	4,5 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4 cm	4 cm	R5	4,5 cm	4,5 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 30 PO- 19/12 - 22°C			DIA 33 PO- 22/12 - 22,5°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4 cm	4 cm	R1	4,5 cm	4,5 cm
R2	4,5 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4,5 cm	4 cm
R4	4,5 cm	4,5 cm	R4	4,5 cm	4 cm
R5	4,5 cm	4,5 cm	R5	4,5 cm	4,5 cm
R6	4 cm	4 cm	R6	4,5 cm	4 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 35 PO - 24/12 -22°C			DIA 37 PO - 26/12 -22°C		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4,5 cm	4,5 cm	R1	4,5 cm	4,5 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4,5 cm	4,5 cm	R5	4,5 cm	4,5 cm
R6	4,5 cm	4,5 cm	R6	4,5 cm	4,5 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

Apêndice A- Resultado da avaliação perimétrica conforme grupo e animal. GOAPrpUS

DIA 39 PO - 28/12 -22°C			DIA 42 PO - 31/12 -21°C ***		
PERIMETRIA			PERIMETRIA		
R1	4,5 cm	4,5 cm	R1	4,5 cm	4,5 cm
R2	4 cm	4 cm	R2	4 cm	4 cm
R3	4 cm	4 cm	R3	4 cm	4 cm
R4	4 cm	4 cm	R4	4 cm	4 cm
R5	4,5 cm	4,5 cm	R5	4,5 cm	4,5 cm
R6	4,5 cm	4,5 cm	R6	4,5 cm	4,5 cm
R7	4 cm	4 cm	R7	4 cm	4 cm
R8	4 cm	4 cm	R8	4 cm	4 cm
DIR		ESQ	DIR		ESQ
*** EUTANÁSIA GOAPrpUS					

8.2 Apêndice B

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GC

DIA 0- 29/09 - 24,4°C			DIA 7 - 06/10 - 25,3°C		
IR- T C°			IR- T C°		
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
R1	33°	33,1°	R1	33,4°	33,5°
R2	33,4°	33,6°	R2	33,3°	33,3°
R3	33,3°	33,2°	R3	33,3°	33,2°
R4	32,3°	33,3°	R4	33,5°	33,6°
R5	33,8°	33,4°	R5	33,5°	33,1°
R6	33,3°	32,1°	R6	33,3°	33,4°
R7	33,2°	33,4°	R7	33,5°	33,4°
R8	33,5°	32,4°	R8		
DIA 14- 13/10 - 28°C			DIA 21- 20/10 - 27,5°C		
IR- T C°			IR- T C°		
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
R1	34,4°	34,4°	R1	35°	35°
R2	34,7°	34,8°	R2	34°	34°
R3	35,1°	35°	R3	34,8°	34,8°
R4	34,7°	34,7°	R4	35°	35°
R5	34,9°	34,9°	R5	34,2°	34,2°
R6	35,1°	35,3°	R6	34,7°	34,7°
R7	33,7°	33,7°	R7	35,1°	35,1°
R8			R8	34°	34°
DIA 28- 27/10 - 21°C			DIA 35- 03/11 - 21°C		
IR- T C°			IR- T C°		
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
R1	33,8°	33,8°	R1	34°	34°
R2	33,7°	33,7°	R2	33°	33°
R3	34°	34°	R3	34°	34°
R4	34°	34°	R4	34°	34°
R5	34,5°	34,5°	R5	34,3°	34,3°
R6	34,2°	34,2°	R6	34°	34°
R7	35°	35°	R7	34,9°	34,9°
R8	34°	34°	R8	34,5°	34,5°

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GC

DIA 42- 10/11 - 21,2°C			DIA 49- 17/11 - 21°C**		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	34,1°	34,1°	R1	34°	34°
R2	33,2°	33,2°	R2	33°	33°
R3	34°	34°	R3	34°	34,1°
R4	34,1°	34,1°	R4	34,1°	34°
R5	34°	34°	R5	34°	34°
R6	34°	34°	R6	34°	34°
R7	35°	35°	R7	35°	34,9°
R8	34,9°	34,9°	R8	34,8°	34,8°
DIR		ESQ	DIR		ESQ
** EUTANASIA DO GRUPO CONTROLE					

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GSF

DIA 0- 29/09 - 25°C				DIA 3 PO- 02/10 - 26°C			
		IR- T C°				IR- T C°	
R1	35,9°		35,9°	R1	35,7°		35,7°
R2	35,4°		35,4°	R2	34,8°		35,4°
R3	35,5°		35,5°	R3	34,8°		35,0°
R4	35,4°		35,4°	R4	34,6°		35,2°
R5	35,5°		35,6°	R5	35,3°		35,8°
R6	35,3°		35,3°	R6	34,6°		34,7°
R7	35,4°		35,4°	R7	34,6°		35,3°
R8	35,4°		35,4°	R8	35,5°		35,7°
		DIR	ESQ			DIR	ESQ
DIA 7 PO- 06/10 - 26,5°C				DIA 14 PO- 13/10 - 28°C			
		IR- T C°				IR- T C°	
R1	35,5°		36°	R1	36,6°		36,8°
R2	35,4°		35,8°	R2	36,7°		36,8°
R3	35,6°		35,7°	R3	36,4°		36,4°
R4	35,6°		35,8°	R4	36,3°		36,7°
R5	34,9°		35,3°	R5	36,4°		36,9°
R6	34,7°		35,2°	R6	36,1°		36,8°
R7	35°		35,3°	R7	36,8°		37°
R8	34,4°		35,6°	R8	36,9°		37,1°
		DIR	ESQ			DIR	ESQ
DIA 21 PO- 20/10 - 18°C				DIA 28 PO- 27/10 - 20°C			
		IR- T C°				IR- T C°	
R1	31,8°		31,8°	R1	33,1°		33,1°
R2	31°		31,8°	R2	33,1°		33,2°
R3	31,7°		32°	R3	32°		33°
R4	32,8°		32,1°	R4	34,2°		34,2°
R5	32,6°		32,7°	R5	33,2°		33,4°
R6	32,4°		32,2°	R6	34,1°		34,1°
R7	33,2°		32,8°	R7	32,8°		33,2°
R8	32,3°		32,4°	R8	33,5°		33,6°
		DIR	ESQ			DIR	ESQ

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GSF

DIA 35 PO- 03/11 - 18°C			DIA 42 PO- 10/11 - 19,5°C**		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	34,4°	34,4°	R1	33,3°	33,6°
R2	34,5°	35°	R2	33,7°	33,7°
R3	34°	34°	R3	33°	33,1°
R4	34,5°	34°	R4	33,3°	33,1°
R5	33,9°	34°	R5	33,7°	33,7°
R6	34,2°	34,3°	R6	33,7°	33,8°
R7	33°	34°	R7	33,1°	33,2°
R8	34°	34,2°	R8	34,6°	34,6°
DIR		ESQ	DIR		ESQ
** EUTANASIA DO GCF					

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOA21

DIA 0 PO- 29/09 - 26°C			DIA 3 PO- 02/10 - 26°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	35,5°	35,5°	R1	36°	35,7°
R2	35,5°	35,5°	R2	35,5°	35,5°
R3	36°	36°	R3	36,1°	35,4°
R4	35,8°	35,8°	R4	35,8°	35,5°
R5	35°	35°	R5	35°	35°
R6	36,4°	36,4°	R6	36,4°	36,4°
R7	35,3°	35,5°	R7	35,3°	35,5°
R8	35,5°	35,5°	R8	35,5°	36°
DIR		ESQ	DIR		ESQ
DIA 7 PO- 06/10 - 24°C			DIA 14 PO- 13/10 - 29°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	34,7°	36°	R1	36,6°	37°
R2	35,6°	35,7°	R2	36,4°	37°
R3	35,8°	36°	R3	36,1°	36,4°
R4	35,7°	35,5°	R4	36,3°	36,5°
R5	35°	35°	R5	35,5°	36°
R6	35,7°	35,7°	R6	36,7°	37°
R7	35,2°	35,8°	R7	36°	36,7°
R8	35,5°	35,7°	R8	36°	36,2°
DIR		ESQ	DIR		ESQ
DIA 21 PO- 20/10 - 26°C*			*EUTANASIA DO GOA21		
IR- T C°					
R1	31,9°	33,1°			
R2	31,7°	32,6°			
R3	32,4°	33,8°			
R4	32,8°	31,9°			
R5	31,4°	31°			
R6	31,5°	32°			
R7	32,3°	31,1°			
R8	31,6°	31,7°			
DIR		ESQ			

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOALa

DIA 0 - 01/10 - 26°C				DIA 03 PO- 03/10 - 20°C			
IR- T C°				IR- T C°			
R1	33,5°	33,5°		R1	33,6°	33,8°	
R2	34°	34°		R2	34,1°	34°	
R3	34°	34°		R3	34,1°	34,3°	
R4	34,2°	34,2°		R4	34,2°	34,5°	
R5	33°	33°		R5	33,9°	33,9°	
R6	34°	34°		R6	34°	34,6°	
R7	33,5°	33,5°		R7	33,9°	34,3°	
R8	34,5°	34,5°		R8	34,4°	34,7°	
	DIR	ESQ			DIR	ESQ	

DIA 7 PO- 08/10 - 26°C				DIA 14 PO- 15/10 - 27°C			
IR- T C°				IR- T C°			
R1	34,1°	34,8°		R1	34°	34,8°	
R2	34,5°	35,5°		R2	34,7°	35,3°	
R3	34,8°	35,1°		R3	34°	34,5°	
R4	35,5°	35,7°		R4	34,9°	35,6°	
R5	34,9°	34,7°		R5	34,4°	35°	
R6	34,9°	35,6°		R6	34,8°	35,4°	
R7	34,6°	35°		R7	34,9°	35,1°	
R8	35,1°	35,1°		R8	35,5°	35,8°	
	DIR	ESQ			DIR	ESQ	

DIA 21 PO- 22/10 - 20°C *				* INICIO DE TRATAMENTO			
IR- T C°		IR- T° depois					
R1	33,4°	33,8°	33,4°	33,6°			
R2	34,3°	34,6°	34,3°	33,4°			
R3	34°	34,1°	34°	33,3°			
R4	33,8°	33,8°	33,8°	33,6°			
R5	34°	34°	34°	33,9°			
R6	34,8°	34,8°	34,8°	34°			
R7	33,6°	34,3°	33,6°	34,2°			
R8	34,3°	34,5°	34,3°	34°			
	DIR	ESQ	DIR	ESQ			

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOALa

DIA 23 PO- 24/10 - 20°C

	IR- T C°		IR- T° depois	
R1	33,4°	33,4°	33,6°	33°
R2	33,8°	34,2°	34°	33,5°
R3	34,2°	34,5°	34°	33,8°
R4	34,2°	34,5°	34,3°	34,1°
R5	34°	34,4°	34°	33,6°
R6	34,4°	34,8°	34°	33,8°
R7	34,5°	34,6°	34°	33,8°
R8	34°	34,4°	34°	33,4°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 26 PO- 27/10 - 20°C

	IR- T C°		IR- T° depois	
R1	34,3°	34,3°	33,9°	33,4°
R2	34,5°	34,6°	34,5°	34°
R3	34,2°	34°	34,1°	33,7°
R4	34,2°	34,5°	34°	33,6°
R5	34,1°	34,7°	34,1°	33,9°
R6	34,8°	35,2°	34,5°	33,8°
R7	34°	34,5°	34,1°	33,6°
R8	34,5°	34,6°	34,4°	33,7°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 28 PO- 29/10 - 20°C

	IR- T C°		IR- T° depois	
R1	34°	34,1°	33,9°	33,2°
R2	33,5°	34,2°	33,9°	33,4°
R3	34,7°	34,9°	34°	33,4°
R4	34,1°	34,9°	34°	33,9°
R5	35,3°	35,3°	33,9°	33,7°
R6	34,4°	34,9°	34,2°	33°
R7	33,9°	34,4°	33,7°	33,7°
R8	34°	34,1°	33,5°	32,8°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOALa

DIA 30 PO- 31/10 - 20°C

	IR- T C°		IR- T° depois	
R1	33,6°	33,8°	33,9°	33,6°
R2	33,7°	33,7°	33,5°	33,3°
R3	34,1°	34,4°	33,8°	33,1°
R4	33,7°	34°	33,7°	33,5°
R5	34,1°	34,4°	33,9°	33,7°
R6	34,4°	34,8°	34,1°	33,5°
R7	33,3°	34°	33,5°	33,5°
R8	34,3°	34,3°	34°	33,1°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 33 PO- 03/11 - 20°C

	IR- T C°		IR- T° depois	
R1	34°	34,9°	34°	33,4°
R2	34,2°	34,3°	33°	33,2°
R3	34°	34°	33,5°	33,3°
R4	34°	34°	34,1°	33,3°
R5	34,5°	34,5°	34,3°	33,3°
R6	33,8°	34°	33,9°	33,3°
R7	33,9°	34,3°	34°	33,4°
R8	34,4°	34,6°	34°	33,4°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 35 PO- 05/11 - 20° C

	IR- T C°		IR- T° depois	
R1	34,9°	35°	34,5°	33,6°
R2	34,8°	35,2°	34,1°	33,9°
R3	33,7°	33,7°	33,6°	33,2°
R4	34,7°	34,7°	34,5°	33,1°
R5	33,9°	34,1°	33,8°	33°
R6	34,6°	34,7°	34,2°	33,6°
R7	33,7°	34°	33°	32,8°
R8	34,9°	34,7°	34,2°	33,8°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOALa

DIA 37 PO- 07/11 - 21°C

	IR- T C°		IR- T° depois	
R1	34,1°	34,5°	34,1°	33,5°
R2	34,2°	34,6°	34,1°	33,8°
R3	34°	34,7°	34,5°	33,7°
R4	34,2°	34,3°	34°	33,6°
R5	34,1°	34,5°	34°	33,6°
R6	34,6°	34,8°	34,4°	34,1°
R7	34°	34°	34,3°	33,7°
R8	34°	34,3°	34,2°	33,3°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 40 PO- 10/11 - 19,5°C

	IR- T C°		IR- T° depois	
R1	33,2°	33,1°	33,5°	32,5°
R2	33,7°	33,8°	33,3°	32°
R3	32,6°	32,7°	33,1°	32°
R4	33,4°	33°	33°	32°
R5	33,5°	34°	33,2°	33°
R6	34,1°	34,1°	33,6°	32,9°
R7	33°	33,5°	33,5°	32,9°
R8	33,5°	33,9°	32,6°	31,8°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 42 PO- 12/11 - 19°C

	IR- T C°		IR- T° depois	
R1	34°	34°	34,1°	33°
R2	34,4°	34,4°	33,5°	33°
R3	34,1°	34,3°	33,7°	33°
R4	34,1°	34,1°	33,9°	33°
R5	34°	34,5°	33,6°	33°
R6	34,9°	35°	34,1°	33,4°
R7	33,8°	34,2°	33,4°	32,3°
R8	34,5°	34,5°	33,6°	32,6°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

**EUTANASIA DO GOALa

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAUST

DIA 0 - 01/10 - 26°C				DIA 03 PO- 03/10 - 20°C			
		IR- T C°				IR- T C°	
R1	33°	33°		R1	33°	33,1°	
R2	34°	34°		R2	34°	34,3°	
R3	33,4°	33,4°		R3	33,4°	33°	
R4	33,8°	33,8°		R4	33,8°	33,8°	
R5	34,2°	34,2°		R5	34,2°	34,4°	
R6	33,4°	33,4°		R6	32,6°	33,4°	
R7	34°	34°		R7	32,4°	34°	
R8	33,2°	33,2°		R8	32,7°	33,2°	
	DIR	ESQ			DIR	ESQ	
DIA 7 PO- 08/10 - 26°C				DIA 14 PO- 15/10 - 28°C			
		IR- T C°				IR- T C°	
R1	35,2°	35,3°		R1	35,6°	34,5°	
R2	34,5°	35,1°		R2	34,7°	34,7°	
R3	33,8°	35,6°		R3	35,7°	35,8°	
R4	34,8°	34,7°		R4	35,5°	35°	
R5	35°	35,6°		R5	35,5°	35,4°	
R6	36°	36,2°		R6	35,1°	35°	
R7	36°	36°		R7	36°	36,2°	
R8	35°	35,5°		R8	36,1°	36°	
	DIR	ESQ			DIR	ESQ	
DIA 21 PO- 22/10 - 20°C *							
		IR- T C° antes				IR- T° depois	
R1	34,4°	34,4°		34°		31,8°	
R2	32,5°	34°		34,1°		32,5°	
R3	33,1°	34,2°		33,8°		33,5°	
R4	32,6°	33,6°		34,9°		34,2°	
R5	33,2°	34,2°		32,5°		32,5°	
R6	33,9°	34,6°		33,4°		31,3°	
R7	34,4°	34,7°		33,6°		31,9°	
R8	33,7°	34,3°		34,5°		33,4°	
	DIR	ESQ		DIR	ESQ		
* INICIO DE TRATAMENTO							

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAUST

DIA 23 PO- 24/10 - 20°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,1°	33,7°	34,8°	34,8°
R2	33,5°	33,2°	33,8°	34,1°
R3	33,3°	33,4°	34,2°	34,2°
R4	34,5°	34,6°	34,9°	34,6°
R5	34,1°	34,1°	32,3°	31,3°
R6	33,8°	35°	34,8°	34,5°
R7	33,2°	33,9°	34,8°	32,3°
R8	32,9°	34,2°	34,3°	33,5°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 26 PO- 27/10 - 20°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	34,5°	34,8°	34,4°	34,3°
R2	33,6°	33,7°	34,8°	34°
R3	33,6°	33,7°	33,9°	32,9°
R4	33,9°	34,3°	33,8°	33,6°
R5	33,9°	33,7°	34,3°	32,4°
R6	35,6°	35,9°	34,8°	32,8°
R7	34,3°	34,5°	34°	33,6°
R8	34,5°	34,9°	34,9°	33°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 28 PO- 29/10 - 20°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,8°	33,6°	34°	34°
R2	33,5°	33,9°	35°	34°
R3	32,6°	33,1°	34,1°	32,2°
R4	34,3°	34,5°	34,2°	33,9°
R5	33,8°	33,7°	33,4°	32,5°
R6	34,8°	34,9°	34,5°	33,1°
R7	34,1°	34,3°	34,1°	32,3°
R8	34,1°	34,4°	33,3°	32,3°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAUST

DIA 30 PO- 31/10 - 20°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,6°	33,7°	35°	33,1°
R2	33,6°	33,7°	34,3°	34,9°
R3	33,5°	33,8°	33,9°	33°
R4	34,6°	34,9°	34,7°	33,8°
R5	34,7°	34,2°	34,2°	33,6°
R6	34,8°	35,1°	35°	34°
R7	34,5°	34,7°	33,9°	33,3°
R8	33,9°	34,4°	34,6°	33,6°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 33 PO- 03/11 - 20°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,9°	34,2°	34,9°	34,4°
R2	33,6°	35,1°	34,6°	34,6°
R3	33,4°	34°	33,2°	32,9°
R4	34,6°	34,6°	34,4°	34,4°
R5	33,3°	34,4°	33,7°	34°
R6	34,1°	34,4°	33,5°	33,7°
R7	33,5°	33,7°	33,4°	33,7°
R8	34,1°	34,5°	33,9°	33,9°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 35 PO- 05/11 - 20° C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,4°	34°	35,1°	34,8°
R2	34,8°	35,4°	35°	34,7°
R3	33,8°	34°	35,2°	34,8°
R4	35,4°	35,1°	35,6°	34,8°
R5	34,5°	34°	34,2°	33,9°
R6	34,4°	35°	35°	34,5°
R7	34°	34,4°	34,4°	34,2°
R8	33,7°	34,5°	34,1°	34,1°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAUST

DIA 37 PO- 07/11 - 21°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	34°	34,2°	35,6°	34°
R2	34,1°	34,3°	34,6°	34,5°
R3	34,6°	34,7°	35°	34,4°
R4	34,6°	34,6°	35,6°	34,8°
R5	34°	34,4°	34,2°	33,7°
R6	34°	34,5°	35°	34,9°
R7	33,5°	34,2°	34°	33,9°
R8	33,8°	34,5°	34,2°	34,1°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 40 PO- 10/11 - 19,5°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,7°	34°	34,4°	32,6°
R2	33,9°	33,7°	34,7°	33,2°
R3	33,5°	33,6°	34,2°	33°
R4	33,9°	34°	34,6°	32,7°
R5	32,5°	32,5°	33,5°	32,4°
R6	34,2°	34,5°	33,7°	32°
R7	35,3°	35,5°	34,4°	33,8°
R8	33,8°	34,1°	34,1°	33,4°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 42 PO- 12/11 - 19°C **

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,6°	34,4°	35,4°	33,8°
R2	34,6°	34,4°	33,9°	33,6°
R3	33,5°	34,3°	34,7°	33,8°
R4	34,5°	34,6°	35,2°	33,3°
R5	33,2°	34,2°	33,3°	31,4°
R6	34°	34,4°	34,1°	33,4°
R7	34,9°	35,2°	35,4°	33,8°
R8	34,1°	34,5°	33,6°	33,4°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

**EUTANASIA DO GOAUST

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOA42

DIA 0 - 19/11 -20,5°C			DIA 3 PO- 21/11 -26,5°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	32,8°	32,8°	R1	34,8°	34,6°
R2	32,7°	32,4°	R2	35,5°	35,5°
R3	32,7°	32,7°	R3	34,8°	34,8°
R4	32,7°	32,7°	R4	34,7°	35°
R5	33,1°	33,2°	R5	34,7°	34,5°
R6	33,4°	33,7°	R6	34,7°	34,6°
R7	33,4 °	33,6°	R7	34,9°	34,8°
R8	32,9°	33,1°	R8	34,7°	34,9°
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 7 PO- 26/11 -26°C			DIA 14 PO- 02/12 -26°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	34,4°	34,8°	R1	34,5°	34,8°
R2	35,1°	35,3°	R2	35,2°	35°
R3	34,8°	35,3°	R3	35,5°	35,3°
R4	34,6°	35°	R4	34,8°	34,7°
R5	34°	34,3°	R5	34,5°	34,7°
R6	34,1°	34,1°	R6	35,4°	34,9°
R7	34,7°	34°	R7	35,6°	35°
R8	35,2°	34,7°	R8	34,7°	34,8°
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 21 PO - 10/12 -22°C			DIA 28 PO - 17/12 -22°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	33°	33,9°	R1	32,9°	33,2°
R2	33,5°	33°	R2	33,4°	33,3°
R3	35°	34°	R3	33,9°	34,3°
R4	34,1°	33,7°	R4	34,2°	33°
R5	33°	34,1°	R5	-	-
R6	34,1°	33,8°	R6	34,3°	34°
R7	34,4°	34,5°	R7	34,8°	34,7°
R8	33,6°	33,4°	R8	33,1°	32,8°
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOA42

DIA 35 PO - 24/12 -22,5°C			DIA 42 PO - 31/12 -21°C *		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	34,5°	33,2°	R1	34,5°	34°
R2	34,3°	34,7°	R2	33,5°	34,3°
R3	34,4°	34,4°	R3	34,1°	34°
R4	34,4°	34,2°	R4	34,8°	33,6°
R5	-	-	R5	-	-
R6	34,6°	34°	R6	35°	35,5°
R7	33,6°	35,4°	R7	34,2°	34,5°
R8	34,3	34,1°	R8	33,3°	34,3°
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

* EUTANÁSIA GOA42

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAPrp

DIA 0 - 19/11 -20,5°C			DIA 3 PO- 21/11 -26,5°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	33°	32,9°	R1	35,1°	35,1°
R2	32,1°	31,9°	R2	35,3°	34,1°
R3	33,5°	33,1°	R3	35,3°	35,5°
R4	32,7°	32,2°	R4	35,2°	35,4°
R5	33,4°	33,2°	R5	36°	35,8°
R6	33°	32,9°	R6	35,3°	35,4°
R7	33°	32,9°	R7	35,5°	35,8°
R8	33,7°	33,6°	R8	36,1°	35,4°
DIR		ESQ	DIR		ESQ
DIA 7 PO - 26/11 -25°C			DIA 14 PO- 02/12 -26°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	34,4°	34,4°	R1	34°	33,3°
R2	34,3°	34,4°	R2	34,1°	34,7°
R3	34,9°	34,7°	R3	34,6°	34,5°
R4	34,9°	35°	R4	34,7°	34,4°
R5	34,8°	35°	R5	34,6°	34,8°
R6	34,7°	35,5°	R6	34,2°	34,1°
R7	34,8°	34,8°	R7	35,3°	34,9°
R8	35,5°	35,2°	R8	35,1°	35°
DIR		ESQ	DIR		ESQ
DIA 21 PO - 10/12 -22°C *			DIA 28 PO - 17/12 -22°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	33,2°	32,9°	R1	-	-
R2	34,5°	33,9°	R2	34,4°	33,3°
R3	34,9°	34,4°	R3	34,3°	34,2°
R4	32,5°	33,4°	R4	33,8°	33,9°
R5	34,4°	33,9°	R5	34,1°	34,7°
R6	33,5°	33°	R6	33,2°	33,6°
R7	32,6°	33,1°	R7	33,8°	34,5°
R8	33,8°	34,2°	R8	33,7°	34,1°
DIR		ESQ	DIR		ESQ

* APLICAÇÃO PRP

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAPrp

DIA 35 PO - 24/12 -22,5°C			DIA 42 PO - 31/12 -21°C **		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	-	-	R1	-	-
R2	34,4°	33,5°	R2	34,3°	34°
R3	34,1°	33,9°	R3	33,6°	32,8°
R4	33,6 °	34,3°	R4	34,2°	34,7°
R5	35,1°	34°	R5	33,8°	34°
R6	33,6°	33,8°	R6	34,2°	33°
R7	32,4°	34,7°	R7	34,6°	34,5°
R8	34,3°	34,4°	R8	34°	34,4°
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
** EUTANÁSIA GOAPrp					

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAPrpLa

DIA 0 - 19/11 -20,5°C			DIA 3 PO- 21/11 -26,5°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	32°	31,8°	R1	35,9°	35,9°
R2	33°	32,8°	R2	35,8°	35,8°
R3	33°	33,1°	R3	35,8°	35,4°
R4	33,2°	33°	R4	35,5°	35,9°
R5	32,3°	32,2°	R5	35,9°	35,5°
R6	32,2°	32,1°	R6	35,9°	35°
R7	33,3°	33,2°	R7	35,7°	35,8°
R8	32,8°	33,1°	R8	36,1°	36,1°
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 7 PO - 26/11 -25°C			DIA 14 PO- 02/12 -26°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	34,8°	34,5°	R1	33,9°	33,7°
R2	34,4°	34,5°	R2	34,1°	34,3°
R3	34,5°	34,5°	R3	33,9°	34,4°
R4	34,5°	34,5°	R4	34,2°	34,4°
R5	34,4°	34,5°	R5	34°	34,4°
R6	34,4°	33,8°	R6	34,5°	34°
R7	34,8°	34,4°	R7	34,2°	34,4°
R8	34,8°	34,8°	R8	34°	34,2°
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 21 PO - 10/12 -22°C *		
IR- T C°		
R1	33,4°	32,6°
R2	32,8°	31,5°
R3	33,6°	33,2°
R4	34,2°	33,7°
R5	33,2°	34,3°
R6	34,5°	35°
R7	33,6°	33,2°
R8	34,9°	34,8°
	DIR	ESQ

* APLICAÇÃO
PRP

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAPrpLa

DIA 23 PO- 12/12 - 22°C **				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	34,1°	34,4°	33,5°	34°
R2	34,4°	34,8°	34,7°	34,3°
R3	34,8°	33,7°	34,2°	34,3°
R4	34,2°	34,6°	34°	34,1°
R5	-	-	-	-
R6	34,6°	34,9°	33,8°	34,1°
R7	34,7°	34,4°	33,8°	34,1°
R8	34,1°	34,4°	34,4°	34°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ
** início tratamento- 2 dias após prp				
DIA 26 PO- 15/12 - 20°C				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,9°	33,8°	33,5°	33°
R2	34,2°	34,8°	34,5°	34,3°
R3	34,5°	34,6°	33,8°	34°
R4	35,1°	34,8°	34,5°	34,2°
R5	-	-	-	-
R6	34,9°	34,9°	33,8°	33,7°
R7	34,7°	34,3°	34,3°	34°
R8	34,3°	34,5°	34,5°	34,1°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ
DIA 28 PO - 17/12 -22°C				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	32,6°	34,2°	33,1°	33,8°
R2	33,8°	34,6°	34,4°	34°
R3	34,6°	34,4°	34,1°	34,1°
R4	33,8°	34,4°	34,1°	34,1°
R5	-	-	-	-
R6	33,7°	34,3°	33,2°	33,8°
R7	34,2°	34,6°	34,1°	34,4°
R8	34,5°	34,3°	33,7°	34,1°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAPrpLa

DIA 30 PO - 19/12 -22°C				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,4°	34,5°	33,5°	33°
R2	34,3°	33,9°	33,8°	34,2°
R3	34°	34,2°	33,4°	34,2°
R4	33,9°	34,1°	33°	33,5°
R5	-	-	-	-
R6	34°	34,6°	33,8°	34°
R7	33,8°	34,5°	33,8°	33,9°
R8	33,8°	34,5°	33,9°	34,6°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 33 PO- 22/12 - 22,5°C				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33°	33°	33°	32,8°
R2	34,6°	34,2°	33,9°	33,7°
R3	34,4°	34,7°	34,1°	33,1°
R4	33,8°	34,3°	33,2°	33,7°
R5	-	-	-	-
R6	33,6°	33,7°	33,6°	33,7°
R7	34,6°	34,2°	34°	33,7°
R8	34,7°	35°	34,2°	33,9°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 35 PO - 24/12 -22°C				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,4°	33,7°	33,6°	33,9°
R2	33,7°	33,8°	33,6°	33,9°
R3	34°	34,8°	33,8°	34°
R4	33,2°	33,5°	33,5°	34,1°
R5	-	-	-	-
R6	34,4°	34,4°	33,5°	34,1°
R7	33,6°	33,9°	33,4°	33,4°
R8	34,3°	34,4°	33,8°	33,7°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAPrpLa

DIA 37 PO - 26/12 -22°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,6°	33,8°	33,1°	32,7°
R2	34,7°	34,1°	33,8°	33,9°
R3	34,1°	34,4°	33,7°	34,1°
R4	34,5°	34,1°	33,7°	34°
R5	-	-	-	-
R6	34,9°	34,3°	34°	34,1°
R7	34,4°	34,4°	33,7°	33,7°
R8	33,7°	34°	33,6°	33,9°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 39 PO - 28/12 -22°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,8°	33,7°	33,7°	33,1°
R2	34,4°	34,1°	34,2°	33,8°
R3	34,7°	34,1°	34,1°	33,7°
R4	33,6°	33,7°	33,2°	32,9°
R5	-	-	-	-
R6	33,1°	33,1°	32,6°	32,6°
R7	34,6°	34,2°	34°	33,2°
R8	34,4°	34,8°	34,1°	33,6°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 42 PO - 31/12 -21°C ***

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	34°	33,5°	33,9°	33°
R2	33,6°	33,1°	34,2°	33,1°
R3	33,7°	33,5°	32,8°	33,1°
R4	33,4°	32,2°	32,6°	33,1°
R5	-	-	-	-
R6	33,6°	33,6°	32,4°	33,1°
R7	33,7°	33,9°	34°	34,5°
R8	34°	34,2°	34,3°	34,1°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

*** EUTANÁSIA GOAPrpLa

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAPrpUS

DIA 0 - 19/11 -20,5°C			DIA 3 PO- 21/11 -26,5°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	33,2°	33,3	R1	35,1 °	35,7°
R2	33°	32,8°	R2	35,7°	35,9°
R3	33,8°	34°	R3	35,7°	35,7°
R4	33,3°	33,2°	R4	36,1°	36°
R5	33,7°	33,4°	R5	36°	36°
R6	33,9°	33,7°	R6	36°	36,1°
R7	32,4°	32,5°	R7	35,4°	35,5°
R8	33,4°	33,2°	R8	35,6°	35,6°
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 7 PO - 26/11 -25°C			DIA 14 - 02/12 -24°C		
IR- T C°			IR- T C°		
R1	35,5°	35,4°	R1	34,8°	35°
R2	33,8°	34,9°	R2	34,6°	34,3°
R3	34,9°	35,4°	R3	34,9°	35,1°
R4	35,1°	34,7°	R4	34,7°	34,7°
R5	35°	34,8°	R5	34,5°	34,4°
R6	34,9°	34,7°	R6	34,8°	34,9°
R7	35,2°	35,2°	R7	34,6°	34,8°
R8	35,1°	34,6°	R8	34,6°	34,6°
	DIR	ESQ		DIR	ESQ

DIA 21 PO - 10/12 -22°C *		
IR- T C°		
R1	33,2°	33,3°
R2	33,8°	33,2°
R3	34,4°	34,1°
R4	31,8°	34,6°
R5	35,1°	34,4°
R6	33,6°	33,8°
R7	34,2°	33,4°
R8	34,2°	33,4°
	DIR	ESQ

* APLICAÇÃO
PRP

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAPrpUS

DIA 23 PO- 12/12 - 22°C **				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	32,9°	33,4°	34,7°	34,9°
R2	33,8°	34°	33,9°	34,8°
R3	34,4°	33,8°	33,9°	34,9°
R4	34,4°	33,9°	34,3°	35,2°
R5	34,3°	33,3°	34,9°	35,3°
R6	34,2°	33,9°	34,3°	34,8°
R7	34°	34,4°	34,9°	33,7°
R8	34°	34,2°	34°	34,6°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ
** início tratamento- 2 dias após prp				
DIA 26 PO- 15/12 - 20°C				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,6°	33,7°	34,5°	34,6°
R2	34,3°	34,1°	34,2°	35,1°
R3	34,4°	33,8°	35,3°	34,4°
R4	34,7°	34,6°	34,9°	34,8°
R5	34,2°	34,1°	34°	34,5°
R6	34°	33,9°	34,1°	33,3°
R7	34,2°	33,4°	34,8°	34,9°
R8	34,2°	34°	33,8°	34°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ
DIA 28 PO - 17/12 -22°C				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,5°	34,3°	34,7°	34,6°
R2	34,9°	34,3°	34,3°	34,1°
R3	34,8°	33,9°	34,9°	34°
R4	34,6°	33,9°	34,6°	35,4°
R5	34,9°	34,9°	35,2°	34,8°
R6	34,2°	34,4°	34,1°	34,2°
R7	33,8°	33,9°	34,1°	34,6°
R8	33,9°	33,6°	33,8°	33,2°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAPrpUS

DIA 30 PO- 19/12 - 22°C				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,3°	33,6°	34°	34,2°
R2	33,3°	34,2°	34,2°	34,4°
R3	33,9°	33,9°	34,2°	33,4°
R4	33,9°	33,8°	35,4°	34,5°
R5	34°	34,4°	35°	34,6°
R6	33,1°	33,5°	33,1°	33,1°
R7	34°	33,5°	34,5°	35,5°
R8	32,8°	32,8°	33,4°	33,3°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 33 PO- 22/12 - 22,5°C				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,6°	34°	34°	34,2°
R2	33,5°	33,8°	34,4°	34°
R3	34,3°	33,6°	34,4°	34,6°
R4	34°	33,3°	34,9°	34,6°
R5	33,9°	33,7°	34,5°	34,4°
R6	33,7°	33,9°	34,7°	34,5°
R7	33,6°	34,3°	34,2°	34,3°
R8	33,4°	33,1°	35,3°	34,2°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 35 PO - 24/12 -22°C				
	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,4°	33,4°	34,4°	34,6°
R2	33,5°	34°	34,4°	34,6°
R3	34,1°	34,1°	34,4°	34,1°
R4	34,4°	34,4°	34,6°	34,6°
R5	33,6°	33,7°	33,9°	34°
R6	34,1°	33,8°	33,9°	33,7°
R7	33,9°	33,9°	34,3°	34,4°
R8	34,1°	34°	34,3°	33,5°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

Apêndice B- Resultado da avaliação termográfica conforme grupo e animal. GOAPrpUS

DIA 37 PO - 26/12 -22°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,6°	33,7°	35,2°	35°
R2	33,7°	33,4°	34,4°	34,2°
R3	34,5°	34,1°	34,7°	34°
R4	34°	34,1°	35,1°	35°
R5	34,1°	33,2°	34°	34,1°
R6	33,5°	34,2°	33,7°	33,6°
R7	34,1°	34,1°	34,2°	34,1°
R8	34,2°	34,3°	34,1°	33,9°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 39 PO - 28/12 -22°C

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	32,8°	33°	35°	35,4°
R2	33,5°	33,8°	35,1°	34,7°
R3	34°	34,1°	34,3°	34,4°
R4	34,2°	34,1°	34,7°	34,4°
R5	33,6°	33,8°	34,1°	33,5°
R6	33,9°	33,7°	34°	34,5°
R7	34°	34,2°	34,7°	34,1°
R8	34,6°	34,4°	35°	34,6°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

DIA 42 PO - 31/12 -21°C ***

	IR- T C° antes		IR- T° depois	
R1	33,5°	33,7°	34,1°	34,6°
R2	33,7°	33,9°	34,1°	34°
R3	33,3°	34,4°	34°	33,5°
R4	34,1°	34,4°	35,4°	34,6°
R5	34°	33°	32,2°	31,8°
R6	33,8°	33,4°	34,3°	33,5°
R7	34,1°	34,5°	35,1°	34,5°
R8	34,4°	34°	34,1°	33,5°
	DIR	ESQ	DIR	ESQ

*** EUTANÁSIA GOAPrpUST