

ELISA HOLTHAUSEN CAMINOTO

**Efeito das ondas de choque extracorpóreas na
desmite experimentalmente induzida em eqüinos**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, Pós-Graduação em
Medicina Veterinária, área de Cirurgia Veterinária
para a obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU

2003

ELISA HOLTHAUSEN CAMINOTO

**Efeito das ondas de choque extracorpóreas na
desmite experimentalmente induzida em eqüinos**

Orientadora: Profa. Ass. Dra. Ana Liz Garcia Alves

**Dissertação apresentada ao curso de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária, área de
Cirurgia Veterinária para a obtenção do título de
Mestre.**

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

BOTUCATU – SÃO PAULO

2003

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE
BOTUCATU – UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Caminoto, Elisa Holthausen.

Efeito das ondas de choque extracorpóreas na desmite
experimentalmente induzida em eqüinos / Elisa Holthausen Caminoto.
– 2003.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

Orientador: Ana Liz Garcia Alves

Assunto CAPES: 50501003

1. Eqüino - Doenças - Tratamento 2. Ondas de choque

CDD 636.1089

Palavras-chave: Desmite; Eqüinos; TOC; Ondas de choque

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao Guilherme, meu marido e companheiro de todas as horas, aos meus pais Edson e Vera e aos meus irmãos Ricardo e Felipe, por todo o apoio, sacrifício e paciência, que permitiram a realização de mais esta etapa da minha formação

AGRADECIMENTOS

A todos que foram importantes para o desenvolvimento deste trabalho.

À Professora Doutora ANA LIZ GARCIA ALVES, minha orientadora, pela confiança, apoio e amizade.

Aos professores e colegas do curso de Pós Graduação em Cirurgia Veterinária, pelos momentos compartilhados.

Aos residentes, estagiários e funcionários do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, pela amizade e auxílio na realização dos trabalhos práticos.

À Professora Doutora RENÉE LAUFER AMORIM, pelo auxílio no processamento das amostras histológicas.

À FAPESP, por financiar minha pesquisa.

Ao colega GUILLERMO GUADALUPE LAGUNA LEGORRETA, pelo incentivo e amizade.

A MARIA LUIZA DE AVELLAR CORDEIRO CAMINOTO, pelo apoio e por ter me recebido em sua casa em Botucatu.

A ANOR E MARIA DE LOURDES CORDEIRO, pelo apoio e incentivo.

Aos demais professores, amigos e colegas que contribuíram para que esta pesquisa fosse realizada, os mais sinceros agradecimentos.

Aos animais que tornaram este experimento possível.

Este trabalho foi executado somente após aprovação pela Comissão de Ética na Experimentação Animal

“...Si me tengo que morir,
poco me importa aprender.

Y si no puedo saber,
poco me importa vivir...”

Antonio Machado

SUMÁRIO

	Páginas
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	14
1.1. Considerações Gerais.....	14
1.2. Indução da lesão por aplicação de colagenase.....	17
1.3. Fisiopatologia da lesão e reparação ligamentar.....	18
1.4. Terapia por ondas de choque extracorpóreas.....	20
1.5. Avaliação do processo de reparação.....	24
2. OBJETIVO.....	28
3. JUSTIFICATIVA.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1. Animais utilizados no experimento.....	30
4.2. Avaliação clínica e ultra-sonográfica inicial.....	31
4.3. Administração de colagenase.....	32
4.4. Terapia por ondas de choque extracorpóreas.....	33
4.5. Avaliação clínica e ultra-sonográfica após a aplicação de colagenase.....	36
4.6. Exame macroscópico e biópsia.....	37
4.7. Avaliação histopatológica.....	40
4.8. Avaliação ultra-estrutural.....	41
4.9. Avaliação imunoistoquímica.....	41
4.10. Avaliação estatística.....	42
5. RESULTADOS.....	44
5.1. Avaliação clínica.....	44

5.2.	Avaliação ultra-sonográfica.....	47
5.3.	Exame macroscópico.....	53
5.4.	Avaliação histopatológica.....	53
5.5.	Avaliação ultra-estrutural.....	56
5.6.	Avaliação imunoistoquímica.....	57
6.	DISCUSSÃO.....	59
6.1.	Exame clínico e ultra-sonográfico.....	59
6.2.	Avaliação macroscópica, histopatológica, ultra-estrutural e imunoistoquímica.....	65
7.	CONCLUSÕES.....	70
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
9.	APÊNDICE.....	85

LISTA DE TABELAS

	Páginas
TABELA 01: cronograma do delineamento experimental.....	31
TABELA 02: valores médios dos escores de aumento de sensibilidade à palpação nas análises semanais.....	45
TABELA 03: valores médios dos escores de claudicação nas análises semanais....	46
TABELA 04: valores médios dos escores de ecogenicidade das lesões nas análises semanais.....	49
TABELA 05: valores médios dos escores de paralelismo dos ecos das lesões nas análises semanais.....	50
TABELA 06: valores médios da percentagem de lesão nas análises semanais.....	51
TABELA 07: valores médios da área total do ligamento suspensório do boleto e da área da lesão nas análises semanais.....	52
TABELA 08: valores dos escores para a graduação de cada característica das lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado e controle na avaliação histológica, pela coloração hematoxilina-eosina, observados ao microscópio óptico 400X.....	54
TABELA 09: valores dos escores para a graduação de cada característica das lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado e controle na avaliação histológica, pela coloração tricrômio de Masson, observados ao microscópio óptico 400X.....	54
TABELA 10: valores dos escores para a graduação da imunoreatividade na avaliação imunohistoquímica para TGFβ - 1, observados ao microscópio óptico 400X.....	58

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 01: equipamento de ondas de choque extracorpóreas.....	35
FIGURA 02: esquema do cálculo da porcentagem da área da lesão.....	37
FIGURA 03: incisão sobre o ligamento suspensório do boleto.....	39
FIGURA 04: superficialização da lesão do ligamento suspensório do boleto.....	39
FIGURA 05: retirada da biópsia da lesão do ligamento suspensório do boleto.....	39
FIGURA 06: retirada da biópsia da lesão do ligamento suspensório do boleto.....	40
FIGURA 07: local da retirada da biópsia do ligamento suspensório do boleto.....	40
FIGURA 08: medianas dos escores de aumento de sensibilidade à palpação nas análises semanais.....	45
FIGURA 09: medianas dos escores de claudicação nas análises semanais.....	46
FIGURA 10: medianas dos escores de ecogenicidade das lesões nas análises semanais.....	49
FIGURA 11 medianas dos escores de paralelismo dos ecos das lesões nas análises semanais.....	50
FIGURA 12: valores médios da porcentagem de lesão nas análises semanais.....	51
FIGURA 13: valores médios da área total do ligamento suspensório do boleto e da área da lesão nas análises semanais.....	52
FIGURA 14: lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratados e controle na avaliação histológica, pela coloração hematoxilina-eosina, observados ao microscópio óptico 400X.....	55

FIGURA 15: lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratados e controle na avaliação histológica, pela coloração tricrômio de Masson, observados ao microscópio óptico 400X.....	55
FIGURA 16: lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratados e controle na avaliação ultra-estrutural, através de microscopia eletrônica de transmissão.....	56
FIGURA 17: lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratados e controle na avaliação imunoistoquímica para TGF β -1, observados ao microscópio óptico 400X.....	57

RESUMO

Este estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da terapia por ondas de choque extracorpóreas na desmíte induzida experimentalmente no ligamento suspensório do boleto do membro pélvico em eqüinos. Foram utilizados 10 eqüinos adultos submetidos à indução da lesão através de injeção de colagenase no ligamento suspensório do boleto de ambos os membros pélvicos. Após a indução da lesão, foram feitos o controle e a avaliação das lesões por ultra-sonografia e por parâmetros clínicos. Os animais foram submetidos ao tratamento por ondas de choque de um dos membros pélvicos, por três sessões, com intervalo de três semanas, e o membro contralateral foi deixado sem tratamento para servir como controle. A evolução da reparação foi avaliada por parâmetros clínicos, por ultra-sonografia e, ao final do experimento, através de biópsia para análise histopatológica, imunoistoquímica e ultra-estrutural. Na avaliação ultra-sonográfica, foi observado maior percentual de redução da área de lesão e melhora dos escores de paralelismo das fibras do membro tratado. Na avaliação histopatológica, os membros tratados apresentaram menor proliferação de vasos e fibroplasia. Na avaliação ultra-estrutural, os membros tratados apresentaram um aumento na quantidade de fibras colágenas de menor diâmetro nos membros tratados, refletindo a formação de novas fibrilas de colágeno, e na análise imunoistoquímica os membros tratados apresentaram maior expressão de $TGF\beta - 1$. A terapia por ondas de choque extracorpóreas mostrou efeito positivo nas desmites experimentalmente induzidas nos eqüinos

Palavras-chave: Desmíte; Eqüinos; Ondas de choque, Ligamento suspensório

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the effects of the extracorporeal shock wave therapy in experimentally induced suspensory desmitis on equine hind limb. Ten horses were submitted to collagenase injection in the suspensory ligament of both hind limbs. Ultrasound and clinical evaluation of the lesions was performed, and the horses were submitted to extracorporeal shock wave therapy in one of the hind limbs, three treatments, with interval of three weeks. The other hind limb was left untreated as control. The evolution of the healing process was monitored clinically and by ultrasound, and at the end of the study a biopsy was made to histopathology, immunocytochemistry and ultra structural evaluation. At the ultrasound evaluation, a greater proportion of reduction of the lesions and improvement of the parallelism scores were observed on treated limbs. At histopathological evaluation, treated limbs presented less fibroplasia and vascular proliferation. At ultra structural evaluation, treated limbs presented an increase in amount of small collagen fibrils, reflecting newly formed collagen fibrils. At immunocytochemistry, treated limbs presented greater expression of TGF β – 1. The extracorporeal shock wave therapy had shown positive effects on experimentally induced desmitis in equine.

Key words: Desmitis; Equine; ESWT; Shock waves; Suspensory ligament.

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

As estruturas ligamentares dos membros dos eqüinos são freqüentemente acometidas por lesões denominadas desmites. Essas lesões prejudicam a capacidade funcional locomotora do animal, fazendo com que muitas vezes não retornem ao seu desempenho anterior. As desmites do músculo interósseo médio ou ligamento suspensório do boleto representam, segundo Cowles (1994, 2000), uma causa comum de claudicação em eqüinos atletas, com alta taxa de reincidência. As alterações histológicas são bastante semelhantes às que ocorrem nas tendinites do flexor digital superficial (GIBSON & STEEL, 2002; POOL, 1992; DENOIX, 1994). O ligamento suspensório do boleto, também denominado músculo interósseo médio, tem variação em seu conteúdo muscular de 2 a 11 %, sendo simétrico bilateralmente (DYSON, 2000).

O ligamento suspensório do boleto tem por função primária prevenir a excessiva extensão da articulação metacarpofalângica durante o apoio do peso sobre o membro. As lesões do ligamento suspensório do boleto resultam da excessiva tensão, quando a habilidade elástica do ligamento é superada pela carga tênsil, e das microlesões repetitivas, resultantes da carga mecânica repetida durante o exercício, que levam à ruptura das fibras, com subseqüente resposta inflamatória e degenerativa (ALMEKINDERS & TEMPLE, 1998). A lesão também pode se desenvolver secundária ao trauma direto ou a lesões periligamentares (ROSS, 1997). O ligamento suspensório tem sua origem no membro torácico a partir do

ligamento palmar carpal e da porção proximal palmar do osso terceiro metacárpico, enquanto no membro pélvico origina-se principalmente da porção proximal plantar do osso terceiro metatársico, relacionando-se intimamente com a cápsula das articulações intercárpica média e carpometacárpica, no membro torácico, e com a cápsula da articulação tarsometatársica, no membro pélvico. O corpo do ligamento continua distalmente entre os ossos segundo e quarto metacárpico ou metatársico e, na altura do terço distal do osso terceiro metacárpico ou metatársico, se divide em dois ramos, que se inserem nos ossos sesamóides proximais. Ramos extensores seguem obliquamente e se juntam ao tendão extensor digital comum na porção dorso-proximal do osso falange proximal (DYSON, 2000; MOYER et al., 1989). Três regiões do ligamento suspensório são freqüentemente acometidas pela lesão: a extremidade proximal, o corpo e os ramos distais (DYSON, 2000). Pequenas fraturas por avulsão podem ocorrer na origem ou na inserção do ligamento suspensório do boleto (POOL, 1992). A lesão do ligamento resulta em hemorragia capilar e inflamação no local da lesão. A cicatrização ocorre pela formação de um coágulo de fibrina e pelo aporte de fibroblastos. A deposição de colágeno ocorre primeiramente de uma forma desordenada ao longo das cadeias de fibrina. O amadurecimento gradativo da cicatriz leva à reorientação das fibras de colágeno ao longo das linhas de tensão. As fibrilas ligamentares, compostas primariamente por colágeno tipo I, são agregadas em feixes complexos. O tecido ligamentar cicatricial após a lesão contém quantidade substancial de colágeno tipo III (MADISON, 1995; GOODSHIP, 1993), e esta cicatriz inelástica formada no ligamento suspensório do boleto predispõe à reincidência da lesão, à diminuição da função de deslizamento entre as

estruturas e à redução do limite elástico do ligamento cicatrizado (GAUGHAN et al., 1991; ROSS, 1997).

A claudicação por essa enfermidade pode ser variável, mas a maioria dos animais afetados demonstra dor à pressão digital profunda sobre o ligamento (MOYER et al., 1989). A claudicação pela desmite do suspensório no membro pélvico geralmente é mais persistente e recorrente (DYSON, 1995^a, 1995^b) e pode ser evidenciada com a flexão ativa distal ou proximal do membro, aumentando a carga sobre o ligamento no momento da locomoção. A alta taxa de reincidência das desmites do suspensório no membro pélvico pode ser em parte devida à pressão nos nervos metatársicos plantares adjacentes. A incidência de lesão bilateral é maior do que nos membros torácicos. Anormalidades de conformação, como a hiperextensão da articulação metacarpofalângica e a menor angulação da articulação tibiotarsometatársica, podem predispor à lesão e aumentar sua reincidência (DYSON, 2000, 1996).

O tratamento das desmites em animais atletas é controverso. A literatura mostra resultados positivos e negativos. Vários tratamentos têm sido propostos para as desmites do suspensório do boleto, incluindo repouso, protocolos de exercício controlado, injeções intralesionais, corticoterapia, tratamento antiinflamatório e ferrageamento corretivo (MC CLURE & EVANS, 2002). Tamanha variedade de tratamentos atesta que trazem benefício limitado e alcançam resultado insatisfatório, além de frustração pelo longo tempo de repouso necessário para a reparação adequada das estruturas lesadas, e pela propensão à reincidência e formação de aderências (MURPHY & NIXON, 1997). A resposta ao tratamento das desmites do suspensório do boleto do membro pélvico é muito pequena, mesmo com tempo de

repouso prolongado e exercício controlado, em comparação com a resposta no membro torácico, tornando necessárias mais investigações sobre essa afecção. Lesões diagnosticadas e tratadas precocemente apresentaram melhores resultados do que casos mais crônicos (DYSON, 1994, 1995^a, 1995^b, 1996, 2000). O tratamento ideal é aquele sem formação de aderências e com melhor alinhamento das fibras tendíneas (GAUGHAN, 1991). Novos tratamentos, como a terapia por ondas de choque extracorpóreas, podem ser uma alternativa (CAMINOTO et al., 2003; MC CLURE & EVANS, 2002; BOENING, 2000; DYSON, 2000; LÖFFELD, 2000; FUSETTI, 1998).

1.2. INDUÇÃO DA LESÃO POR APLICAÇÃO DE COLAGENASE

A indução da lesão através da injeção intraligamentar de colagenase purificada de origem bacteriana é o modelo experimental que mais se assemelha à desmíte desenvolvida naturalmente, nos aspectos clínicos e histológicos, causando destruição das fibras colágenas ligamentares, através da solubilização do colágeno e da destruição celular e da matriz não colágena. O grau de severidade da lesão varia de animal para animal, com a mesma dose e local de aplicação da colagenase (ALVES, 2001^a, 2001^b, 1998; GAUGHAN et al., 1991; REDDING et al., 1999; GIFT et al., 1992; GAUGHAN et al., 1995; VAN DER BELT et al., 1993; FOLAND et al., 1992; KEG et al., 1992; KEG et al., 1996).

As lesões induzidas pela colagenase evoluem até aproximadamente 30 dias e subseqüentemente começam a diminuir e a cronificar. Histologicamente, um dia após a injeção de colagenase, a matriz encontra-se quase completamente

dissolvida. Fragmentos de colágeno podem ser encontrados envolvidos por fibrina e exsudato. Um grande número de eritrócitos e leucócitos polimorfonucleares se encontra nas áreas lesadas. Uma semana após a lesão, ocorre a organização do exsudato. Os fibroblastos que migraram para a área lesada secretam matriz extracelular. Os macrófagos fagocitam debris celulares, fibrina e eritrócitos. Leucócitos polimorfonucleares se encontram presentes nos pequenos vasos sanguíneos que começam a proliferar no tecido de granulação. Quatro semanas após a lesão, o tecido neoformado é densamente povoado por fibroblastos e células mononucleares, e novos capilares podem ser observados. As células alongadas do tecido conjuntivo se encontram dispostas de forma aleatória. Oito semanas após a lesão, a deposição de matriz extracelular é mais proeminente, e vênulas e arteríolas podem ser observadas além dos capilares (ALVES, 2001^a, 2001^b; GAUGHAN et al., 1991; REDDING et al., 1999; GIFT et al., 1992; GAUGHAN et al., 1995; VAN DER BELT et al., 1993; FOLAND et al., 1992; KEG et al., 1992; KEG et al., 1996; WILLIAMS et al., 1984).

1.3. FISIOPATOLOGIA DA LESÃO E REPARAÇÃO LIGAMENTAR

As estruturas ligamentares dos eqüinos são freqüentemente acometidas por lesões que se desenvolvem por diferentes mecanismos e que levam a alterações degenerativas e inflamatórias de diferentes graus de intensidade. A reparação dessas lesões freqüentemente falha em restaurar as características morfofuncionais normais e compromete o futuro desempenho atlético do animal ou predispõe a um maior risco de recorrência da lesão (GOODSHIP et al., 1994).

As lesões ligamentares resultam em separação das fibras do ligamento ou tendão, ocorrendo hemorragia de arteríolas e capilares locais, levando à formação de hematoma no interior do ligamento, com atração de neutrófilos para o local e deposição de fibrina. Ocorre congestão e edema no local, podendo haver isquemia e necrose celular. A presença do exsudato inflamatório agudo leva à liberação de proteases e colagenases, que promovem extensa degradação enzimática das fibras colágenas e da matriz extracelular.

O padrão microscópico das alterações degenerativas do tecido colagenoso denso, em seu eixo longitudinal, inclui a perda do núcleo dos fibroblastos e a perda da coloração das fibras de colágeno, ruptura da sub-estrutura fibrilar, com perda da definição das fibrilas individuais de colágeno, fibrilação da matriz extracelular, presença de áreas mistas de acelularidade e proliferações lineares de fibroblastos, que podem sofrer metaplasia condróide e degeneração amorfa da matriz extracelular (POOL, 1996).

O processo de reparação ligamentar envolve a participação de componentes extrínsecos, através do tecido conjuntivo frouxo que envolve o ligamento, e intrínsecos, através da proliferação de fibroblastos ativos para a cicatrização local. A lesão ligamentar depende da população celular extrínseca, proveniente do tecido mesenquimal indiferenciado perivascular, para a sua reparação, levando à formação de tecido de granulação, que forma tecido fibroso para a reposição dos fascículos danificados do tendão ou do ligamento (POOL, 1996).

A reparação tendínea e ligamentar envolve uma fase inflamatória, uma fase proliferativa e uma fase de remodelamento. A fase inflamatória ocorre três a sete dias após a lesão, onde ocorre a migração celular extrínseca, a partir dos tecidos

peritendíneos e periligamentares, resultando no rápido preenchimento da lesão com hematoma, tecido de granulação e debris teciduais. Os fibroblastos migrantes ainda desempenham um papel fagocítico, e se encontram dispostos em um padrão radial em relação à direção das fibras. A estabilidade biomecânica é dada pela fibrina. Ao redor do quinto dia, os fibroblastos começam a sintetizar colágeno, que inicialmente se apresenta com uma orientação espacial aleatória. Durante a quarta semana, aumenta a proliferação de fibroblastos de origem intrínseca, que sintetizam e reabsorvem o colágeno. O tecido neoformado começa a amadurecer, e as fibras de colágeno progressivamente começam a se orientar de acordo com a direção das linhas de força sobre o tendão ou ligamento. Essa fase da reparação continua até dois meses após a lesão inicial. A estabilidade final é adquirida durante o remodelamento induzido pela utilização fisiológica normal do tendão ou ligamento, o que auxilia na reorientação das fibras de colágeno. As ligações cruzadas entre as fibrilas de colágeno aumentam a força tênsil da estrutura. Durante essa fase de reparação, o colágeno tipo I é produzido em substituição ao colágeno tipo III, aumentando a resistência do tecido. Apesar desse remodelamento, o tecido cicatricial permanecerá sempre mais hiper celular do que o tecido não lesado (MAFFULLI et al., 2002).

1.4. TERAPIA POR ONDAS DE CHOQUE EXTRACORPÓREAS

Na medicina humana, a litotripsia extracorpórea por ondas de choque é um procedimento terapêutico de efeito comprovado para o tratamento de cálculos renais. Nos últimos anos, a terapia por ondas de choque extracorpóreas (TOC) tem

sido utilizada para enfermidades ortopédicas em humanos, principalmente nas tendinites e desmites de inserção crônicas, refratárias a outras terapias convencionais (HAUPT, 1997; BOENING, 2000), como a epicondilite úmero-radial (ROMPE et al., 1996; PERLICK et al., 1999), a tendinose calcárea (SPINDLER et al., 1998; SEIL et al., 1999), e o esporão de calcâneo (KRISCHEK et al., 1998; SISTERMANN & KATTHAGEN, 1998; COSENTINO et al., 2001), com efeito analgésico clinicamente significativo (MEIER et al., 2000; COSENTINO et al., 2001).

Uma onda de choque é uma onda de pressão caracterizada por uma alta e rápida pressão de pico, com curta duração do pulso, seguida por uma rápida descompressão, até a pressão negativa. As ondas de choque podem ser geradas de várias formas, como a partir de efeito eletrohidráulico, piezoelétrico, eletromagnético ou energia pneumática que, neste caso, gera as ondas de pressão radiais (QUIRION, 2000; LÖFFELD, 2000). O sistema eletrohidráulico (Spark Gap) usa um eletrodo submerso em um compartimento com um refletor elipsóide. Uma faísca elétrica é gerada entre as extremidades desse eletrodo, onde ocorre a vaporização das moléculas de água, gerando uma onda de choque esférica, que é refletida pelo elipsóide metálico da parede interna para o tecido alvo.

Os parâmetros físicos mais importantes para o tratamento de enfermidades ortopédicas através das ondas de choque são a distribuição da pressão, a densidade energética e a energia acústica total (OGDEN et al. 2001). Quatro fases das ações das ondas de choque sobre os tecidos foram postuladas por Haupt (1997): na fase física inicial, ocorrem cavitações extracelulares, ionização das moléculas e aumento da permeabilidade das membranas, e são efeitos diretos das ondas de choque. Na fase físico-química subsequente, ocorre a difusão de radicais

e interações com biomoléculas (em ambas as fases são observadas lesões mitocondriais). Depois ocorrem as fases química, acompanhada de reações intracelulares e alterações moleculares, e biológica, onde ocorre a persistência das alterações. Muitas das interações teciduais ainda não estão completamente esclarecidas. Ogden et al. (2001) presumem que nos tecidos moles ocorra a micro-ruptura do tecido denso fibrótico pouco vascularizado, possibilitando o desenvolvimento microvascular inicial, seguido pela reparação tecidual adequada. O efeito osteogênico foi demonstrado na maioria dos estudos (VALCHANOU & MICHAILOV, 1991; DELIUS et al. 1995; HAUPT, 1997; SIEBERT & BUCH, 1997; ROMPE et al., 1998; IKEDA et al., 1999; MC CLURE et al., 2000). Estudos recentes sugerem um efeito positivo das ondas de choque sobre a concentração de Fator de Crescimento Transformador Beta 1 ($TGF\beta-1$), que tem um efeito quimiotático e mitogênico nas células osteoblásticas (WANG et al., 2000).

Novos estudos ainda serão necessários para determinar os níveis de energia e a quantidade de impulsos adequados para cada enfermidade e tipo de tecido, pois os efeitos biológicos são dose-dependentes, (HELLER & NIETHARD, 1998; ROMPE et al., 1998; OGDEN et al., 2001). As ondas de choque têm um efeito citodestrutivo dose-dependente em células em suspensão *in vitro*, mas também têm influência estimulante dose-dependente no processo de cicatrização de tecidos lesados. O efeito citodestrutivo é imediato e cessa dentro de 24 horas. O mecanismo do efeito estimulante da regeneração tecidual das ondas de choque ainda está sendo investigado, podendo possivelmente ser usado para o tratamento das tendinites estéreis (JOHANNES et al., 1994). Chen et al.(2001), sugerem que a promoção da osteogênese pelas ondas de choque ocorre pelo aumento dos osteocondrócitos e

proliferação dos osteoblastos associada à indução da TGF- β 1 e expressões protéicas relacionadas ao osso. Ammendolia e Donato (2001) estudaram o efeito das ondas de choque radiais nos tecidos moles em humanos: o ligamento, à microscopia óptica, apresentou leve esclero-hialinose estromal com aumento da produção de colágeno e fibroblastos ativados, incluindo a presença abundante de retículo endoplasmático rugoso e o tecido muscular apresentou aumento do tecido conjuntivo intersticial com aumento das mitocôndrias subsarcolemais e um leve aumento nos lipídeos.

As vantagens da terapia por ondas de choque extracorpóreas são a baixa taxa de complicações e o fato de ser um procedimento ambulatorial não invasivo. Diferentes protocolos de aplicação podem ser usados, desde que a quantidade total de energia utilizada para o tratamento seja a mesma (KRISCHEK et al., 1998; SEIL et al., 1999; SCHADEN et al., 2001; WANG et al., 2001). Os efeitos colaterais são locais, como edema, hematomas e petéquias, sem complicações maiores. As contra-indicações são relacionadas à presença de placa epifisária, tecido alveolar, cerebral, medular ou neoplasia no local de aplicação ou alterações sistêmicas como infecção aguda, coagulopatia ou gestação (SCHADEN et al., 2001).

Em medicina veterinária ainda existem poucos relatos do uso da terapia por ondas de choque extracorpóreas, que tem se mostrado uma terapia bastante promissora para algumas lesões refratárias aos tratamentos convencionais, como as tendinites e desmites crônicas (BERTA, 1998; BÄR et al. 2000; MC CLURE & EVANS, 2002). Vários relatos citam a utilização da terapia por ondas de choque para o tratamento das desmites do ligamento suspensório do boleto em eqüinos (DONATI, 1998; BREMS et al., 1999; BOENING, 2000; LÖFFELD, 2000). Existem

relatos da utilização para o tratamento da podotrocleose (BÄR et al., 2001), e para enfermidades ósseas intra e extra-articulares, com resposta antiálgica positiva (FERRARIO & NASSA, 1998). Fusetti (1998) relata o tratamento de vinte e dois eqüinos com tendinites crônicas ou agudas dos tendões flexores, com resposta positiva demonstrada pelo realinhamento das fibras, documentado ecograficamente trinta a quarenta dias após o tratamento. Outras aplicações baseadas em relatos clínicos são as microfraturas do osso terceiro metacárpico e calcificações tendíneas em eqüinos (QUIRION, 2000). Mc Carrol e Mc Clure (2002) sugerem que a terapia por ondas de choque seja utilizada para o tratamento da osteoartrite das articulações tarsometatársica e intertársica distal. A utilização da terapia por ondas de choque extracorpóreas na desmíte induzida em eqüinos foi relatada por Mc Clure e Evans (2002), e as lesões tratadas cicatrizaram significativamente mais rápido do que as utilizadas como controle, quando comparadas ultra-sonograficamente.

1.5. AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REPARAÇÃO

O processo de reparação pode ser monitorado por métodos não invasivos como a ultra-sonografia, ou invasivos, através da coleta de biópsias para exame histopatológico, podendo-se utilizar a associação de técnicas, como a imunohistoquímica e a análise ultra-estrutural através da microscopia eletrônica de transmissão.

O diagnóstico ultra-sonográfico é comprovadamente o mais indicado para confirmar a presença ou ausência de lesão no ligamento suspensório do boleto, através da identificação qualitativa dos feixes de fibras hipoecóicas e da medida da

área de superfície no corte transversal, possibilitando o monitoramento da cicatrização tendínea e a graduação da lesão (FOLAND et al., 1992; GENOVESE et al., 1997; GILLIS, 1997). O prognóstico das desmites tem sido correlacionado às alterações ultra-sonográficas (DYSON, 1992; GILLIS, 1997). O diagnóstico ultra-sonográfico das desmites do suspensório do boleto pode apresentar as seguintes anormalidades: aumento de volume do ligamento; pouca definição de uma ou mais margens do ligamento, especialmente da margem dorsal; presença de uma área central hipoecóica bem delimitada; uma ou mais áreas hipoecóicas pouco definidas; ou ainda uma grande área com redução difusa da ecogenicidade. No diagnóstico radiográfico das desmites de inserção do suspensório, as seguintes anormalidades podem ser vistas no osso terceiro metacárpico ou metatársico: esclerose do padrão trabecular na projeção dorso-palmar ou dorso-plantar; alteração da orientação do padrão trabecular dorsal à córtex, com ou sem esclerose, na projeção látero-medial, ou formação de enteseófito no aspecto palmar ou plantar. As alterações radiográficas são mais comuns nos membros pélvicos do que nos membros torácicos (COWLES et al. 1994; DYSON, 1991, 1995^a; 1995^b; STICKLE et al., 1996).

A avaliação histopatológica dos tendões ou ligamentos permite a qualificação da reparação tecidual, com a avaliação das fibras colágenas, da celularidade, da vascularização e do grau de desorganização da matriz extracelular. Muitas técnicas de coloração foram desenvolvidas, como as colorações tricrômicas, para permitir a que as fibras colágenas sejam evidenciadas (ALVES, 1998; CREVIER-DENOIX et al., 1998).

A análise ultra-estrutural permite a caracterização da morfologia celular, da capacidade de produzir componentes da matriz extracelular e das características

das fibras colágenas. O processo de reparação deve conter uma grande quantidade de fibroblastos ativos, com suas organelas, em especial o retículo endoplasmático rugoso aumentado em dimensão e quantidade (DAHLGREN et al. 1997; ALVES et al., 2002).

A imunistoquímica pode ser considerada como a demonstração do antígeno em secções teciduais através da utilização das interações específicas antígeno-anticorpo, pela ligação de um marcador ao antígeno, permitindo a identificação e caracterização da expressão de uma determinada substância em um fragmento de tecido, com a preservação de sua arquitetura normal. A escolha da técnica adequada deve ser baseada em parâmetros como o tipo de tecido sob investigação e o grau de sensibilidade necessária (GIMENO et al., 2002).

O Fator de Crescimento Transformante β (Transforming Growth Factor β - TGF β) é uma citocina relacionada à reparação tecidual, cujas funções incluem o estímulo para a migração de fibroblastos e macrófagos, para a angiogênese e para a produção de colágeno, a regulação da atividade das proteinases e o aumento na atividade dos inibidores teciduais das metaloproteinases. Esse fator de crescimento afeta o processo de reparação tecidual e desempenha um papel essencial na resolução do processo inflamatório. Apesar de sua ação pró-inflamatória na fase inicial da reparação tecidual, o TGF β participa na modulação da deposição de componentes da matriz extracelular. O TGF β aumenta significativamente a síntese de colágeno, fibronectina e glicosaminoglicanos pelos fibroblastos (CHANG et al., 1997). Essa citocina tem sido considerada recentemente como capaz de influenciar tanto processos fisiológicos como patológicos. O TGF β se apresenta sob uma forma latente e só se encontra apto a desempenhar suas funções e se ligar ao seu

receptor após sua ativação por proteólise ou acidificação. O efeito da forma ativa do TGF β na proliferação dos fibroblastos é bifásico, mostrando uma alta proliferação de fibroblastos em resposta a baixas concentrações da forma ativa, e um efeito de supressão da proliferação em resposta a altas concentrações da forma ativa do TGF β , demonstrando sua capacidade de auto-regulação (GHAHARY et al., 2002; BORDER & RUOSLAHTI, 1992). Existem poucos estudos relatando a ação das ondas de choque sobre a concentração de TGF β na reparação tendínea e ligamentar. Wang et al. (2000) sugerem que um dos possíveis mecanismos da ação das ondas de choque extracorpóreas está relacionado ao TGF β .

Foram identificadas três isoformas distintas de TGF β nos mamíferos: TGF β - 1, TGF β - 2 e TGF β - 3. A isoforma melhor caracterizada é o TGF β - 1.

O TGF β se liga aos receptores de alta afinidade, após sua ativação, para poder exercer suas ações teciduais. Esses receptores se encontram presentes na superfície celular de diversos tipos de células (GHAHARY et al., 2002).

A expressão do TGF β e de seus receptores em tendões normais é mínima, quando em comparação ao tendão com lesão, onde o receptor para TGF β tem seu pico de expressão aos catorze dias após a indução da lesão tendínea, e diminui após cinquenta e seis dias, evidenciando seu aumento durante o processo de lesão e de reparação tendínea e ligamentar (NGO et al., 2001).

2. OBJETIVO

Observar a eficácia e os efeitos das ondas de choque nas desmites induzidas experimentalmente do suspensório do boleto do membro pélvico dos eqüinos através de avaliações clínicas, ultra-sonográficas, histopatológicas, imunoistoquímicas e ultra-estruturais.

3. JUSTIFICATIVA

Considerando-se os resultados positivos alcançados em medicina humana em alterações refratárias às terapias convencionais, a não-invasividade do procedimento, a segurança do tratamento e a inexistência de efeitos colaterais relevantes justificam a importância do estudo da eficácia e dos efeitos das ondas de choque para fundamentar seu emprego clínico na reabilitação dos eqüinos acometidos pelas tendinites e desmites crônicas.

Existem em medicina veterinária poucos trabalhos sobre o uso experimental da terapia por ondas de choque. Novos estudos são necessários para esclarecer seu efeito nas alterações ortopédicas crônicas em eqüinos e para estabelecer o protocolo adequado para cada enfermidade.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO

Foram utilizados dez animais da espécie eqüina, adultos, sem raça definida, quatro machos e seis fêmeas, clinicamente saudáveis, em especial quanto ao aparelho locomotor, que foram submetidos à indução de lesão com administração de colagenase¹ no ligamento suspensório do boleto de ambos os membros pélvicos.

Os animais foram mantidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Campus de Botucatu, recebendo água, ração comercial e feno de capim “coast-cross”.

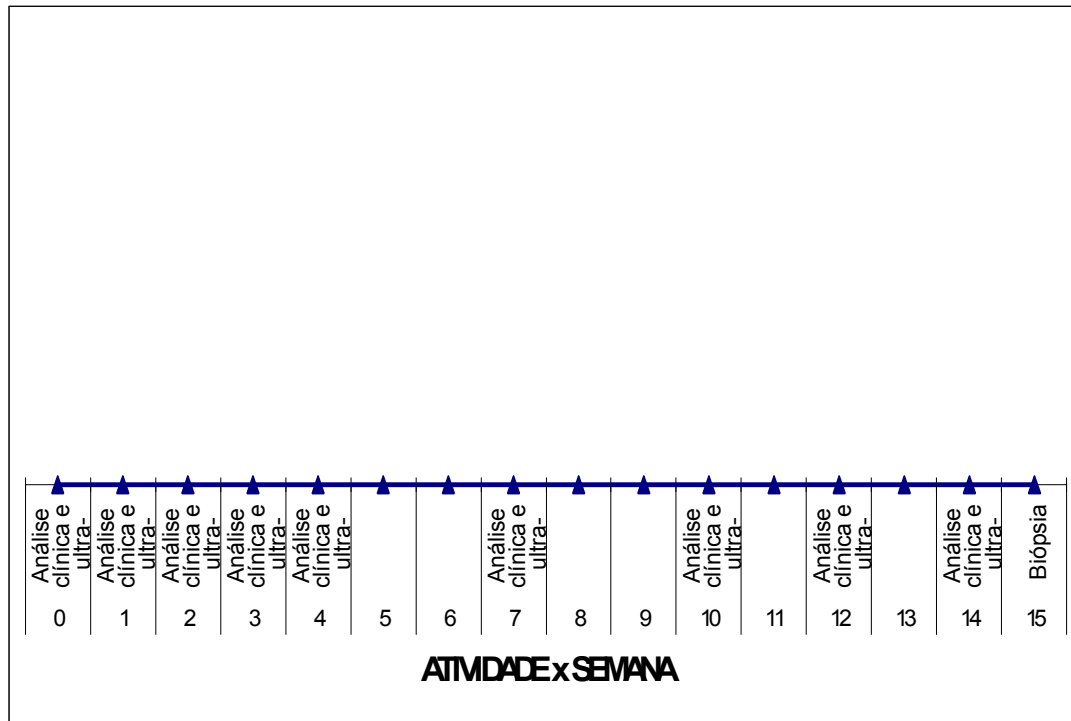
Ao início, os animais foram pesados e vermifugados com ivermectin², na dose de 200 µg/kg, por via oral, repetida a cada sessenta dias durante o experimento.

O cronograma do delineamento experimental é demonstrado na Tabela 01.

¹ Collagenase type I, Sigma

² Eqvalan, Merial

TABELA 01: cronograma do delineamento experimental



4.2. AVALIAÇÃO CLÍNICA E ULTRA-SONOGRÁFICA INICIAL

O exame clínico consistiu da observação do animal em movimento, a passo e ao trote, em linha reta e em círculo para ambos os lados, para avaliação do grau de claudicação e da palpação profunda do ligamento suspensório do boleto do membro pélvico para avaliação da sensibilidade à palpação. A presença de claudicação foi graduada em escores de 0 a 5, segundo Stashak (1987), onde 0 é a ausência de claudicação e 5 é a claudicação severa, sem o apoio do membro afetado. Pesquisou-se o aumento de volume, temperatura ou sensibilidade digital profunda à palpação da região da lesão dos membros tratados. Para a sensibilidade à palpação foi estabelecido um escore de avaliação:

0 – ausência de sensibilidade

1 – sensibilidade discreta

2 – sensibilidade moderada

3 – sensibilidade intensa

Os animais foram submetidos ao exame ultra-sonográfico, após tricotomia da região metatársica, face plantar dos membros pélvicos, com o equipamento de ultra-som linear, com transdutor de 7,5 MHz³. As imagens obtidas foram congeladas e fotografadas, servindo de controle para os demais exames realizados.

4.3. ADMINISTRAÇÃO DE COLAGENASE

A administração de colagenase foi considerada como o tempo zero do experimento (S 0) e foi realizada após tranquilização dos animais com romifidina⁴, na dose de 40 µg/kg, por via intravenosa e bloqueio anestésico dos nervos digitais plantares medial e lateral, na região metatársica proximal, com 2 ml de cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstritor⁵ em cada ponto. A região plantar do metatarso de ambos os membros pélvicos foi preparada com tricotomia e anti-sepsia. A colagenase foi diluída com água bidestilada estéril e foi injetada na dose de 0,6 ml (2,5 mg/ml) na região lateral do metatarso, atingindo o corpo do ligamento suspensório do boleto, com o uso de agulha hipodérmica descartável 30x8, usando o ultra-som como guia para o direcionamento da agulha. O local da indução da lesão foi mapeado com o ultra-som, de acordo com sua distância da extremidade proximal

³ SSD 900, Aloka

do osso calcâneo. Foi realizado o acompanhamento ultra-sonográfico da evolução das lesões uma (S 1) e duas (S 2) semanas após a aplicação da colagenase.

Foi necessária uma segunda aplicação de colagenase, na dose de 0,5 ml (5,0 mg/ml), no mesmo local da primeira aplicação, para a produção de lesões de acordo com as descritas na literatura para essa técnica, na segunda semana (S 2) após a primeira aplicação. Novamente foi feito o acompanhamento ultra-sonográfico das lesões uma (S 3) e duas semanas (S 4) após essa segunda aplicação de colagenase.

4.4. TERAPIA POR ONDAS DE CHOQUE EXTRACORPÓREAS

Na quarta semana do trabalho, após a indução das lesões com a administração de colagenase (S 4), a região mapeada dos ligamentos suspensórios do boleto de um dos membros pélvicos foi tratada, após tranquilização dos animais com romifidina, na dose de 40 µg/kg, por via intravenosa, com o animal em posição quadrupedal, após tricotomia da região e aplicação de gel de contato, com o aparelho de terapia por ondas de choque extracorpóreas⁶. Esse membro escolhido foi considerado como membro tratado, e foram feitos três tratamentos, com intervalo de três semanas (S 4, S 7, S 10), ficando o membro contra-lateral não tratado como controle.

Cada aplicação da terapia de ondas de choque extracorpóreas (Figura 01A) consistiu da aplicação sobre o local mapeado do ligamento, ou seja, local onde foi produzida a lesão com a colagenase, de 500 pulsos com a sonda R05 (Figura 01B), que tem foco das ondas de choque a 5 mm, sobre a face lateral do ligamento (Figura

01D), 500 pulsos com a sonda R05 sobre a face medial do ligamento (Figura 01E), e mais 500 pulsos com a sonda R35 (Figura 01C), com foco das ondas de choque a 35 mm sobre a face plantar do ligamento (Figura 01F), de acordo com as doses utilizadas na literatura, sempre com a intensidade energética E6, de 0,15 mJ/mm², e com frequência de pulso de 360.



A



B



C



D



E



F

FIGURA 01 (A – F): equipamento de ondas de choque extracorpóreas (A), com as sondas R05 (B), R35 (C) e a demonstração das aplicações lateral (D), medial (E) e plantar (F)

4.5. AVALIAÇÃO CLÍNICA E ULTRA-SONOGRÁFICA APÓS A APLICAÇÃO DE COLAGENASE

A avaliação clínica dos animais para determinação do grau de claudicação, sensibilidade das estruturas à palpação e observação de alterações locais foi feita antes do início do tratamento (S0), uma e duas semanas após cada aplicação de colagenase (S1, S2, S3, S4), antes de cada tratamento com a terapia por ondas de choque extracorpóreas (S4, S7, S10) e nas avaliações posteriores duas e quatro semanas após o fim do tratamento (S 12, S 14).

Os ligamentos suspensórios do boleto dos membros pélvicos foram avaliados ultra-sonograficamente antes do início do tratamento, uma e duas semanas após cada aplicação da colagenase (S1, S2, S3, S4), antes de cada tratamento com a terapia por ondas de choque extracorpóreas (S4, S7, S10) e nas avaliações posteriores duas e quatro semanas após o fim do tratamento (S 12, S 14). Nessas avaliações ultra-sonográficas, foram obtidos planos longitudinais e transversais das lesões, e as imagens foram congeladas e impressas para comparação.

Os seguintes parâmetros foram avaliados nas lesões:

-Ecogenicidade da lesão, graduada de 0 a 4 segundo Genovese et al. (1997):

0 – ecóico

1 – predominantemente ecóico

2 – 50% ecóico e 50% não ecóico

3 – predominantemente anecóico

4 – totalmente anecóico

- Percentual de área lesada de cada ligamento (GENOVESE et al., 1997): A porcentagem de área lesada dos ligamentos foi calculada a partir da área delimitada do ligamento e da área delimitada da lesão.



FIGURA 02: esquema do cálculo da porcentagem da área da lesão

- Percentual de redução da lesão, calculado para monitorizar a evolução da reparação da lesão, considerando o percentual da área da lesão inicial e das avaliações subsequentes.

- Paralelismo das fibras colágenas, avaliado através da observação das imagens longitudinais obtidas, graduado em escala de 0 a 3 (ALVES, 1998):

- 0 – ausência de paralelismo
- 1 – paralelismo discreto
- 2 – paralelismo parcial
- 3 – paralelismo total

4.6. EXAME MACROSCÓPICO E BIÓPSIA

Na décima-quinta semana após o início do experimento (S 15), foram realizadas as biópsias dos ligamentos.

Após jejum de 12 horas e anestesia geral intravenosa com medicação pré-anestésica com xilazina 10%⁷, indução com quetamina⁸ e diazepam⁹, e manutenção com éter gliceril guaiacol 5%¹⁰, quetamina e xilazina, sob infusão contínua, os animais foram submetidos a procedimento cirúrgico para biópsia dos ligamentos suspensórios do boleto dos membros pélvicos.

Cada animal foi colocado em decúbito dorsal sobre a mesa cirúrgica, possibilitando o acesso cirúrgico a seus membros pélvicos. A anti-sepsia foi feita com iodo povidine 1%, na região metatársica previamente tricotomizada.

Após a delimitação do campo cirúrgico, foi realizada a incisão cutânea próximo-distal, na face lateral do terço médio da região metatársica, de aproximadamente oito centímetros de extensão (Figura 03). A seguir, foi feita a divulsão roma do tecido subcutâneo e abertura de fáscia, visualizando o ligamento suspensório do boleto e foi feita a superficialização e a exposição do ligamento (Figura 04), para possibilitar o acesso. Uma vez localizada a região da lesão, foi realizada a excisão de fragmento de 1 cm² da lesão, para análise histopatológica, ultra-estrutural e imunoistoquímica, com o auxílio de pinça e bisturi (Figuras 05, 06 e 07). A síntese da fáscia foi realizada em plano único de sutura contínua com fio categute 2-0. A síntese cutânea foi procedida com fio de nylon em pontos simples separados.



FIGURA 03: incisão sobre o ligamento suspensório do boleteo.



FIGURA 04: superficialização da lesão do ligamento suspensório do boleteo.



FIGURA 05: retirada da biópsia da lesão do ligamento suspensório do boleteo.



FIGURA 06: retirada da biópsia da lesão do ligamento suspensório do boleto.



FIGURA 07: local da retirada da biópsia do ligamento suspensório do boleto.

4.7. AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Os fragmentos colhidos para exame histopatológico foram fixados em solução de formalina tamponada a 10% e processados pelos métodos habituais para obtenção de cortes histológicos, que foram corados pelos métodos de hematoxilina-eosina (H.E.) e tricrômio de Masson.

A análise histológica foi feita à microscopia óptica, sem o conhecimento prévio dos membros a que pertenciam as lâminas.

Para a avaliação das alterações histológicas da reparação dos ligamentos lesados foram considerados a quantidade e as características dos fibroblastos, a presença de infiltrado inflamatório e neovascularização, a presença de fibras colágenas e paralelismo das mesmas, e o grau de desorganização tecidual presente.

Um escore foi estabelecido para a graduação de cada característica na avaliação histológica, em uma escala de 0 a 3:

0 – ausente

1 – leve

2 – moderada

3 – severa

4.8. AVALIAÇÃO ULTRA-ESTRUTURAL

Foi feita a análise ultra-estrutural, através de microscopia eletrônica de transmissão, após a fixação das amostras em glutaraldeído 4% a 4°C, fixação com tetróxido de ósmio, inclusão em resina, colocação em malha quadriculada de cobre e coloração por acetato de urânio, seguido de citrato de chumbo, possibilitando a observação das fibras colágenas e das características morfológicas ultra-estruturais das organelas presentes nos ligamentos observados no experimento.

4.9. AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA

Para a avaliação imunohistoquímica para a pesquisa da presença de TGF - β 1, os fragmentos foram fixados em formalina tamponada a 10% e processados de forma habitual com a inclusão em parafina. Para a incubação com o anticorpo monoclonal liofilizado para TGF - β 1¹¹, o material foi desparafinado através de banhos sucessivos em xilol e em álcool absoluto em concentrações decrescentes. A recuperação antigênica foi feita em banho-maria a 96,5°C, em solução tamponada de citrato. A inibição da peroxidase endógena foi feita com peróxido de hidrogênio e água destilada (1:1). O material foi incubado com BSA (albumina bovina) 5% para redução das reações de fundo. O anticorpo primário foi incubado durante a noite a 4°C. O anticorpo secundário biotilado anti-coelho, anti-cabra e anti-camundongo¹² foi incubado a temperatura ambiente. O material foi incubado com Streptavidina-peroxidase¹³ a temperatura ambiente e DAB foi utilizado como cromógeno. A coloração de fundo foi feita com hematoxilina. As amostras foram graduadas em uma escala de 0 a 3:

0 - ausência de imunoreatividade

1 – baixa imunoreatividade

2 – moderada imunoreatividade

3 – intensa imunoreatividade

4.10. AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

Para a análise estatística dos resultados obtidos, foram utilizados testes paramétricos e não paramétricos, considerando a natureza das distribuições dos valores estudados e considerando a variabilidade das medidas obtidas. Foram

utilizados testes para amostras dependentes entre os membros tratado e controle do mesmo animal.

Foram aplicados o teste t de Student pareado para amostras quantitativas dependentes e o teste t de Wilcoxon para amostras não-paramétricas dependentes (ZAR, 1996).

O nível de significância adotado foi $p \leq 0,05$.

Os valores individuais de todas as variáveis mensuradas serão apresentados em TABELAS no Apêndice.

5. RESULTADOS

5.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA

Na avaliação clínica inicial, não foram observadas alterações na palpação profunda do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos, e não foi observada claudicação em nenhum dos animais.

À palpação profunda do ligamento suspensório do boleto, foi observado à inspeção, aumento de volume e de sensibilidade após a injeção intraligamentar de colagenase nos membros pélvicos dos dez animais utilizados no experimento. O aumento de sensibilidade à palpação profunda ocorreu logo após a injeção de colagenase, e duas injeções de colagenase foram necessárias para a produção das lesões de acordo com a descrição da literatura. A diferença entre as medianas dos escores de sensibilidade dos membros controle e dos membros tratados não foi estatisticamente significativa (Tabela 02, Figura 08).

A sensibilidade à palpação, tanto nos membros tratados como nos membros controle, sofreu alterações antes do início do tratamento por ondas de choque extracorpóreas, não servindo como parâmetro fidedigno para a avaliação do efeito analgésico das ondas de choque nesse trabalho.

Em relação ao grau de claudicação, foi observada claudicação leve, até grau 2, que se mostrou mais acentuada logo após cada injeção de colagenase, tanto nos membros controle como nos membros tratados. A diferença entre os membros tratados e controle, quanto ao grau de claudicação, foi estatisticamente significativa na décima (S 10) semana (Tabela 03, Figura 09).

TABELA 02: Valores médios dos escores de aumento de sensibilidade à palpação profunda da lesão do ligamento suspensório do bolete dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), nas análises semanais.

	S 0	S 1	S 2	S 3	S 4	S 7	S 10	S 12	S 14
Média A	0	1.3	0.4	0.9	1.1	1.9	0.3	0	0
Média B	0	1.1	0.1	0.8	1.1	2.4	0.8	0.2	0.1
Mediana A	0	1.0	0	1.0	1.5	2.0	0	0	0
Mediana B	0	1.0	0	1.0	1.0	2.0	1.0	0	0
Desvio Padrão A	0	0.7	0.8	0.9	1.0	0.6	0,5	0	0
Desvio Padrão B	0	0.7	0.3	0.8	0.9	0.5	0.6	0.4	0.3

A – Membros Tratados TOC
 B – Membros Controle
 S – Semana do experimento

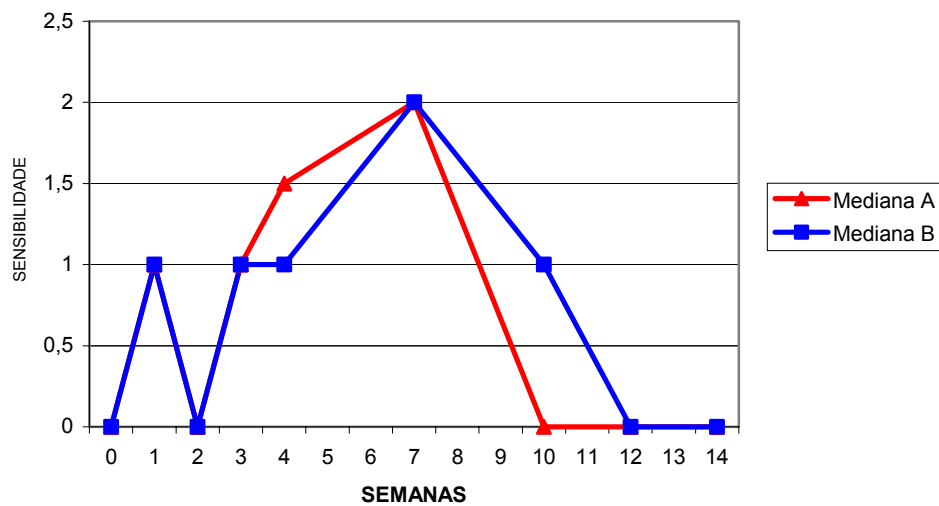


FIGURA 08: Medianas dos escores de aumento de sensibilidade à palpação da lesão do ligamento suspensório do bolete dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), nas análises semanais.

TABELA 03: Valores médios dos escores de claudicação dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) nas análises semanais.

	S 0	S 1	S 2	S 3	S 4	S 7	S 10	S 12	S 14
Média A	0	0	1.6	1.2	1.4	0.4*	0.2*	0*	0
Média B	0	0	1.3	1	1.4	0.7*	0.5*	0.1*	0
Mediana A	0	0	1.75	1.0	1.0	0.5	0*	0	0
Mediana B	0	0	1.0	1.0	1.0	0.5	0.5*	0	0
Desvio Padrão A	0	0	0.5	0.3	0.5	0.2	0.2	0.0	0
Desvio Padrão B	0	0	0.5	0.4	0.5	0.2	0.4	0.2	0

A – Membros Tratados TOC

B – Membros Controle

S – Semana do experimento

* - Diferenças estatisticamente significativas $p \leq 0,05$

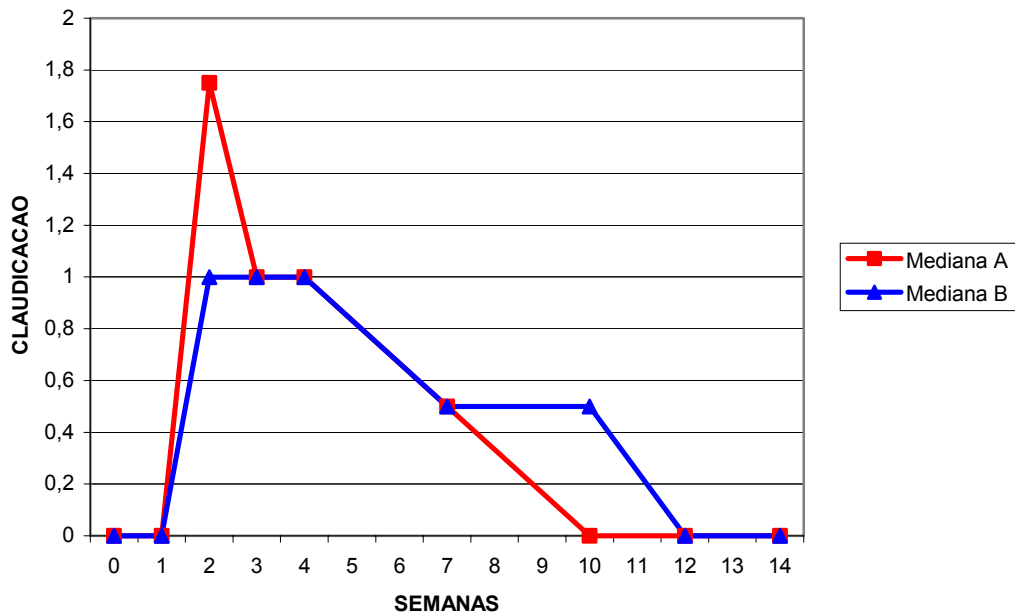


FIGURA 09: Medianas dos escores de claudicação dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) nas análises semanais.

5.2. AVALIAÇÃO ULTRA-SONOGRÁFICA

Na avaliação ultra-sonográfica inicial, não foram observadas lesões no ligamento suspensório do boleto dos animais utilizados no experimento.

Os resultados obtidos nas avaliações ultra-sonográficas nos diferentes momentos permitiram a avaliação da diferença entre os membros tratados com a terapia por ondas de choque extracorpóreas e os membros utilizados como controle.

A diferença entre as medianas dos escores de ecogenicidade não foi estatisticamente significativa (Tabela 04, Figura 10).

A avaliação do escore de paralelismo das fibras mostrou uma ausência de paralelismo após as injeções de colagenase, e ocorreu um aumento do escore com diferença estatisticamente significativa após o início da terapia por ondas de choque nos membros tratados, quando comparado aos membros controle, na sétima (S 7), décima segunda (S 12) e décima quarta (S 14) semanas (Tabela 05, Figura 11).

A diferença na redução do percentual de lesão do ligamento suspensório do boleto dos membros tratados foi estatisticamente significativa a partir da décima semana até o final do experimento (S 10, S 12, S 14), quando comparada aos membros controle (Tabela 06, Figura 12).

A medida da área do ligamento suspensório do boleto aumentou após as aplicações de colagenase e começou a diminuir após o início do tratamento por ondas de choque nos membros tratados, quando comparado aos membros controle, e essa redução foi estatisticamente significativa após a sétima semana até o fim do experimento (S7, S 10, S 12, S 14). A medida da área da lesão do ligamento suspensório do boleto aumentou após as aplicações de colagenase, e a partir da

décima semana (S 10, S 12, S14) a redução da área de lesão foi estatisticamente diferente para os membros tratados, em relação aos membros controle (Tabela 07, Figura 13).

TABELA 04: Valores médios dos escores de ecogenicidade da lesão do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) nas análises semanais.

	S 0	S 1	S 2	S 3	S 4	S 7	S 10	S 12	S 14
Média A	1	2.6	2.5	2,7	2.6	2.4*	2.3	2.1*	2.0*
Média B	1	2.7	2.6	3.0	3.0	3.0*	2.7	2.6*	2.6*
Mediana A	1.0	3.0	2.5	3.0	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Mediana B	1.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Desvio Padrão A	0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.3	0.5
Desvio Padrão B	0	0.5	0.5	0	0	0	0.5	0.5	0.5

A – Membros Tratados TOC

B – Membros Controle

S – Semana do experimento

*- diferença estatisticamente significativa $p \leq 0,05$

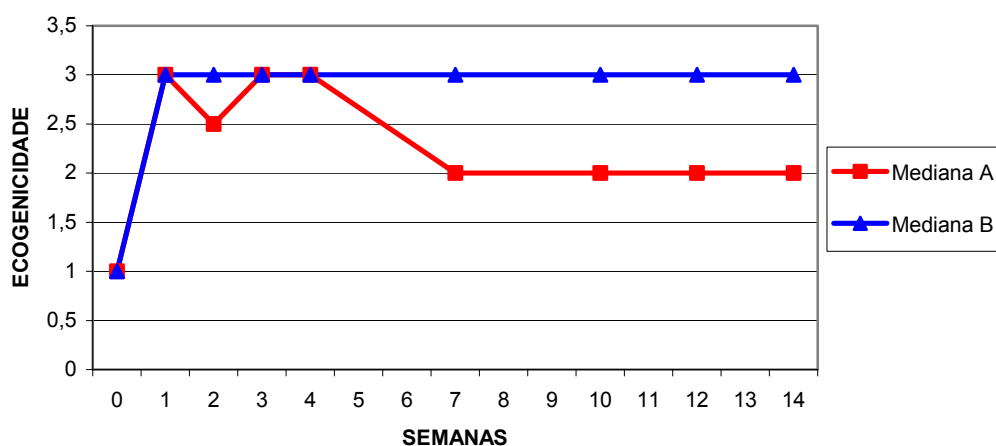


FIGURA 10: Medianas dos escores de ecogenicidade da lesão do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) nas análises semanais.

TABELA 05: Valores médios dos escores de paralelismo dos ecos das lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) nas análises semanais.

	S 0	S 1	S 2	S 3	S 4	S 7	S 10	S 12	S 14
Média A	3.0	0.6	0.8	0.4	0.5	1.1*	1.3*	1.7*	1.8*
Média B	3.0	0.5	0.7	0.5	0.4	0.5*	0.8*	1.0*	1.1*
Mediana A	3.0	0.5	1.0	0	0.5	1.0*	1.0	2.0*	2.0*
Mediana B	3.0	0.5	1.0	0.5	0	0.5*	1.0	1.0*	1.0*
Desvio Padrão A	0.0	0.7	0.4	0.5	0.5	0.3	0.5	0.5	0.4
Desvio Padrão B	0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.5	0.3

A – Membros Tratados TOC

B – Membros Controle

S – Semana do experimento

*, * - diferença estatisticamente significativa $p \leq 0,05$

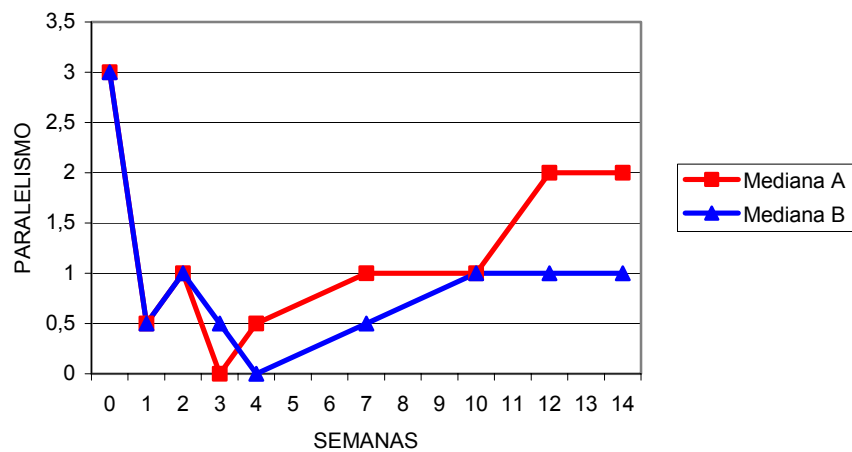


FIGURA 11: Medianas dos escores de paralelismo dos ecos das lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) nas análises semanais.

TABELA 06: Valores médios da porcentagem de lesão do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) nas análises semanais.

	S 0	S 1	S 2	S 3	S 4	S 7	S 10	S 12	S 14
Média % Lesão A	0.00%	18.18%	13.04%	24.89%	33.31%	39.29%	31.85%*	20.45%*	21.47%*
Média % Lesão B	0.00%	16.83%	13.45%	26.73%	32.39%	39.55%	43.99%*	35.82%*	31.99%*
Desvio Padrão A	0.00%	3.50%	6.24%	8.66%	10.70%	5.71%	9.57%	6.70%	6.51%
Desvio Padrão B	0.00%	3.71%	6.17%	9.24%	7.62%	5.71%	9.57%	6.70%	6.51%

A – Membros Tratados TOC

B – Membros Controle

S – Semana do experimento

* - diferença estatisticamente significativa $p \leq 0,05$

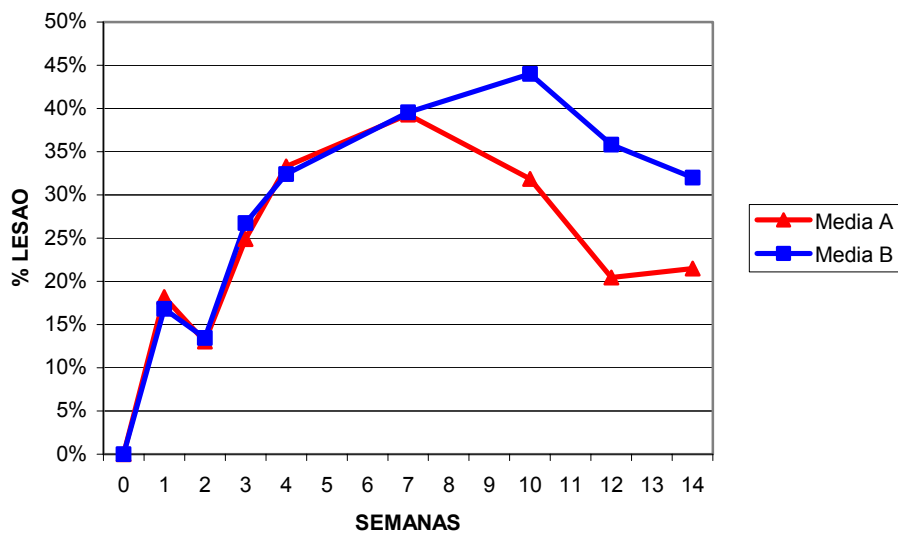


FIGURA 12: Valores médios da porcentagem de lesão do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) nas análises semanais.

TABELA 07: Valores médios da área total do ligamento suspensório do bolete e da área da lesão do ligamento suspensório do bolete dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) nas análises semanais.

	S 0	S 1	S 2	S 3	S 4	S 7	S 10	S 12	S 14
Média LSB A	1.28	1.57	1.56	1.90	1.87	1.60*	1.52*	1.54*	1.49*
Média LSB B	1.31	1.65	1.63	1.94	1.91	1.84*	1.83*	1.90*	1.72*
Desvio Padrão LSB A	0.29	0.38	0.38	0.37	0.39	0.29	0.28	0.29	0.22
Desvio Padrão LSB B	0.26	0.43	0.40	0.40	0.43	0.37	0.31	0.35	0.23
Média Lesão A	0.00	0.29	0.21	0.47	0.62	0.63	0.49**	0.32**	0.32**
Média Lesão B	0.00	0.29	0.22	0.53	0.63	0.74	0.82**	0.69**	0.56**
Desvio Padrão Lesão A	0	0.11	0.12	0.20	0.24	0.23	0.21	0.13	0.11
Desvio Padrão Lesão B	0	0.12	0.14	0.23	0.23	0.24	0.27	0.20	0.15

A – Membros Tratados TOC

B – Membros Controle

S – Semana do experimento

LSB – Ligamento Suspensório do Boletto

*, ** - diferença estatisticamente significativa $p \leq 0,05$

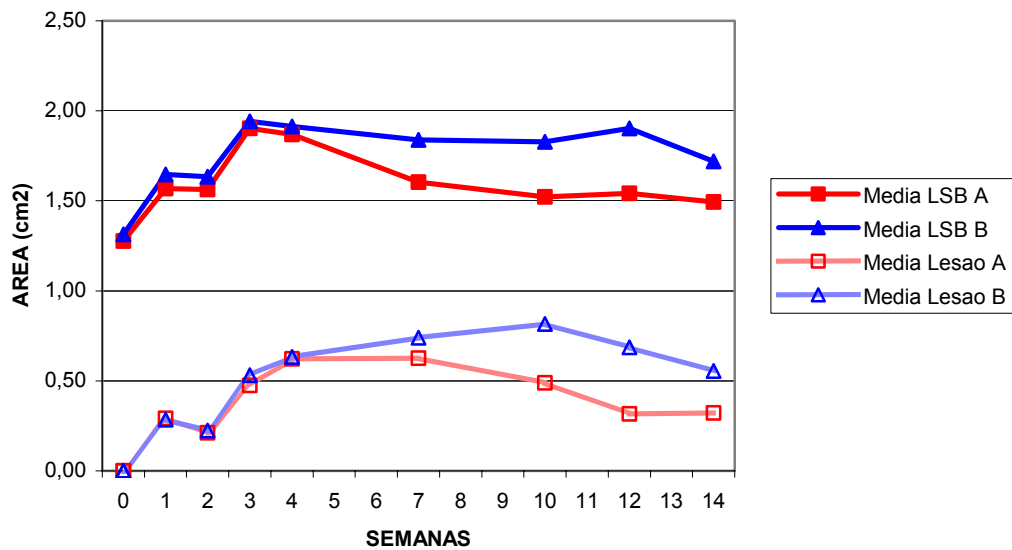


FIGURA 13: Valores médios da área total do ligamento suspensório do bolete e da área da lesão do ligamento suspensório do bolete dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) nas análises semanais.

5.3. EXAME MACROSCÓPICO

O local da lesão no ligamento suspensório do membro pélvico não foi facilmente identificado no momento da biópsia. A ultra-sonografia foi utilizada para determinação da distância da lesão à extremidade proximal do osso calcâneo, que foi de 23,7 cm em média no membros tratados e de 23,5 cm no membros controle, possibilitando a colheita cirúrgica da biópsia no local prévio da lesão. Foram observadas aderências e fibrose periligamentar na região da lesão em todos os animais.

5.4. AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Ao exame histopatológico com as técnicas de coloração por hematoxilina-eosina e tricrômio de Masson foi constatada a presença de desorganização tecidual no local das lesões no ligamento suspensório do boleto, acompanhada de aumento da presença de fibroblastos e de neovascularização. A diferença relacionada ao aumento da presença de vasos, de fibroplasia e do grau de desorganização tecidual entre os grupos tratado e controle não foi estatisticamente significativa, ocorrendo grande variação individual, mas os membros tratados apresentaram um processo inflamatório de menor intensidade no local da lesão, com menor congestão. Foi observado maior conteúdo de fibras colágenas nos membros tratados, evidenciado por maior conteúdo de colágeno da matriz extracelular nas amostras coradas pelo método tricrômio de Masson, quando comparado aos membros controle (Tabelas 08 e 09, Figuras 14 e 15).

TABELA 08: Valores dos escores para a graduação das características histopatológicas das lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), com a coloração hematoxilina-eosina, observados ao microscópio óptico 400X.

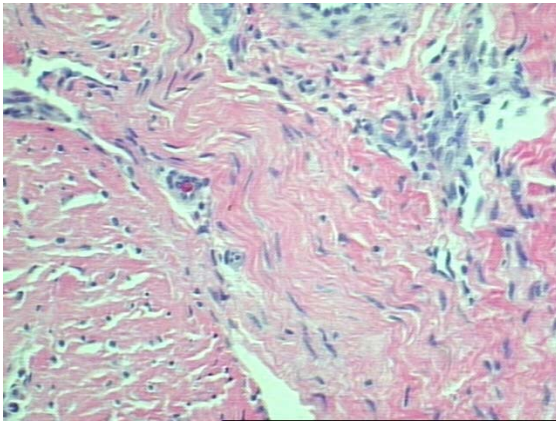
Animal	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
Hematoxilina-eosina	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Neovascularização	1	2	2	1	3	3	2	2	2	2	2	3	2	3	1	2	2	2	1	3
Fibroblastos	2	3	1	3	2	2	2	3	2	3	3	2	1	2	1	2	3	3	1	2
Desorganização	1	2	1	2	2	2	2	2	3	3	2	2	2	2	1	1	1	2	1	2

1 - Leve
 2 - Moderada
 3 - Intensa
 $p \leq 0,05$

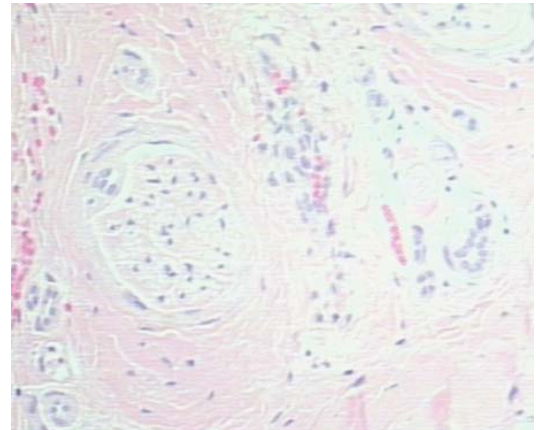
TABELA 09: Valores dos escores para a graduação das características histopatológicas das lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), com a coloração tricrômio de Masson, observados ao microscópio óptico 400X.

Animal	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
Tricrômio de Masson	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Neovascularização	2	2	1	1	2	2	2	3	2	2	2	3	2	3	1	2	3	3	2	3
Matriz Extracelular	3	2	1	1	2	3	2	1	3	3	3	2	3	1	3	2	3	2	3	2
Desorganização	2	2	1	1	1	3	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2

1 - Leve
 2 - Moderada
 3 - Intensa
 $p \leq 0,05$

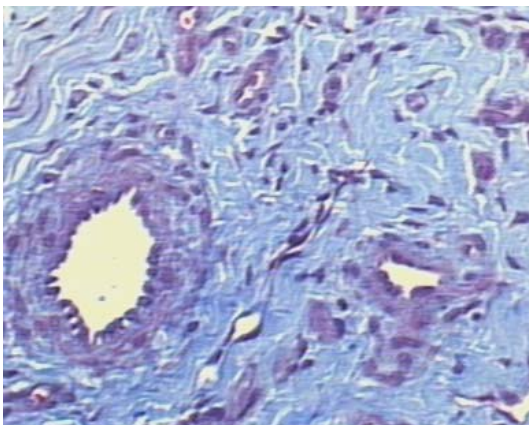


A – Membros Tratados TOC

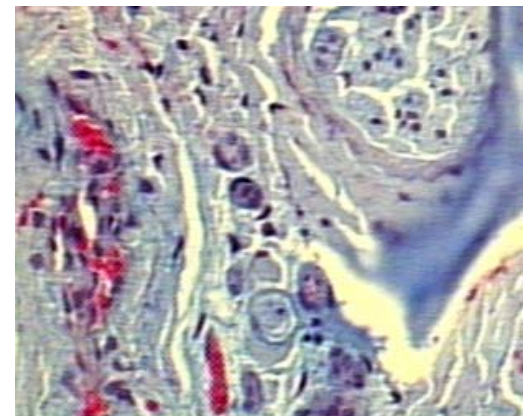


B – Membros Controle

FIGURA 14: Lesões do ligamento suspensório do bolete dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), na avaliação histológica, pela coloração hematoxilina-eosina, observados ao microscópio óptico 400X.



A – Membros Tratados TOC

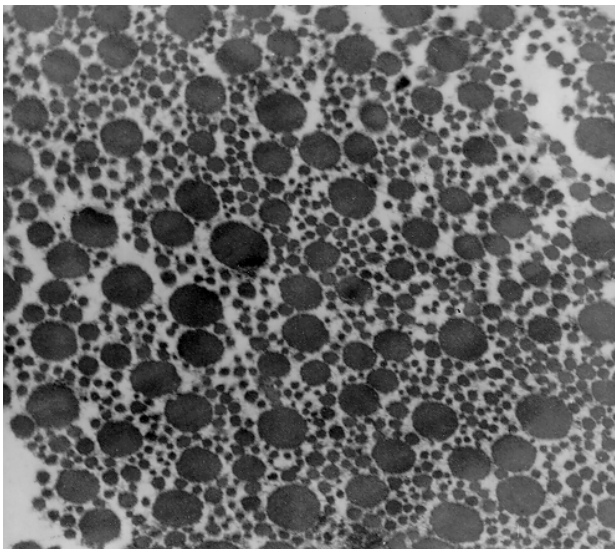


B – Membros Controle

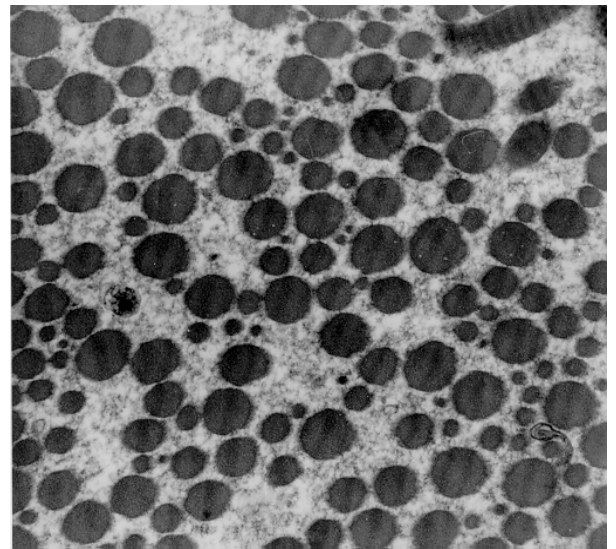
FIGURA 15: Lesões do ligamento suspensório do bolete dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), na avaliação histológica, pela coloração tricrômio de Masson, observados ao microscópio óptico 400X.

5.5. AVALIAÇÃO ULTRA-ESTRUTURAL

Na avaliação ultra-estrutural foi observado um aumento na quantidade de fibras colágenas de pequeno calibre (Figura 16) e uma maior quantidade de mitocôndrias nas amostras dos membros tratados, em relação aos membros controle.



A – Membros Tratados TOC

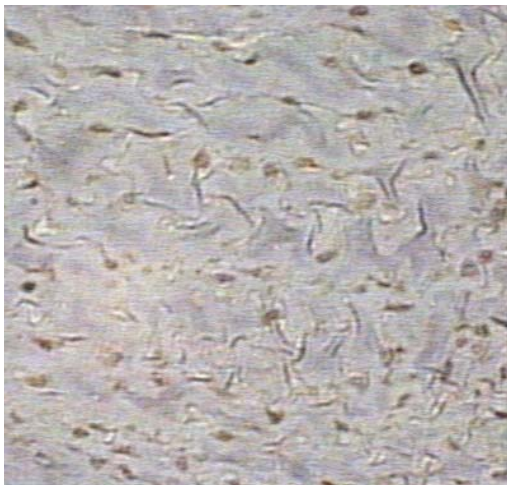


B – Membros Controle

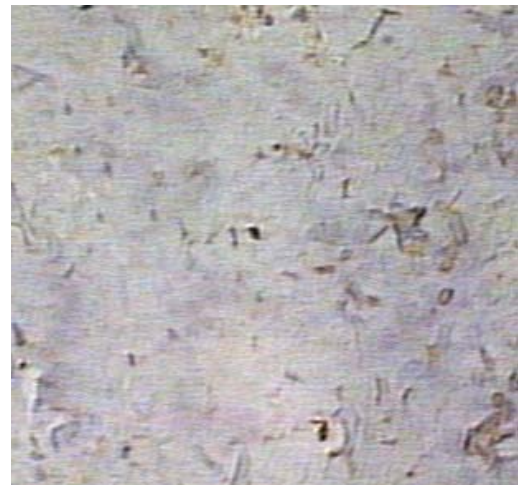
FIGURA 16: Lesões do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B) na avaliação ultra-estrutural, através de microscopia eletrônica de transmissão

5.6. AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA

Na avaliação imunoistoquímica, para a verificação da presença do $TGF\beta - 1$, apenas o material proveniente das biópsias de cinco animais foi avaliado e os membros tratados teve maior imunoreatividade do que o membros controle, apresentando intensa marcação citoplasmática dos fibroblastos. A diferença das médias entre os membros tratados e controle foi estatisticamente significativa (Figura 17, Tabela 10).



A – Membros Tratados TOC



B – Membros Controle

FIGURA 17: Lesões do ligamento suspensório do bolete dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), na avaliação imunoistoquímica para $TGF\beta - 1$, observados ao microscópio óptico 400X.

TABELA 10: Valores dos escores para a graduação da imunoreatividade na avaliação imunoistoquímica para TGF β - 1, observados ao microscópio óptico 400X.

Animal	1		3		6		7		9	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
TGF β - 1	2	1	3	1	3	2	3	1	3	1

1 – Baixa imunoreatividade
 2 – Moderada imunoreatividade
 3 – Intensa imunoreatividade +
 A – Membros Tratados TOC
 B – Membros Controle
 $p \leq 0,05$

6. DISCUSSÃO

6.1. EXAME CLÍNICO E ULTRA-SONOGRÁFICO

A desmíte induzida pela administração intraligamentar de colagenase tem sido considerada como um modelo eficiente para o estudo da reparação tecidual (WILLIAMS,1984; SPURLOCK, et al.,1989). A administração da colagenase provocou alterações clínicas locais, como aumento de volume, sensibilidade e temperatura em todos os animais utilizados, bem como claudicações simétricas nos membros pélvicos, principalmente nos primeiros três dias após cada injeção de colagenase. Esses efeitos foram similares aos de uma lesão de ocorrência natural, já que se observa com freqüência esses mesmos sinais clínicos ao se avaliar um equino com desmíte aguda (DYSON, 1996).

O aumento de volume na região após a administração de colagenase foi interpretado como um edema decorrente do processo inflamatório instalado, que permaneceu em média por três semanas após a administração da colagenase em todos os animais, o que corrobora os relatos de Williams (1984) e Gift et al. (1992).

Os aumentos de sensibilidade e temperatura junto à região lesada, notados à palpação, foram conseqüentes ao processo inflamatório que se instalou no local, permanecendo em média duas semanas, após cada aplicação de colagenase, conflitando com Williams (1984), onde essas alterações clínicas permaneceram por uma semana. Essa diferença entre os resultados experimentais poderia ser justificada se o tamanho da lesão inicial do relato fosse menor do que neste trabalho, porém esse dado não pode ser avaliado, uma vez que o autor não realizou

um acompanhamento ultra-sonográfico das lesões, ou ainda se a resposta às lesões induzidas com colagenase fosse diferente entre tendões e ligamentos.

A sensibilidade à palpação diminuiu antes do início do tratamento com as ondas de choque extracorpóreas. De acordo com Ogden (2001), seria esperada a redução da sensibilidade, porém ela foi reduzida antes do início do tratamento

Em relação à atividade locomotora, após a administração de colagenase, observou-se uma claudicação leve (até grau 2), por um período de um a dez dias em todos os animais. Estes dados estão de acordo com Foland et al. (1992), que relatou o aparecimento imediato de claudicação moderada após a aplicação de colagenase em tendões. Essa claudicação leve se mostrou mais acentuada logo após cada injeção de colagenase, tanto nos membros controle como nos membros tratados. A diferença entre os membros tratados e controle, quanto ao grau de claudicação, após o início do tratamento com a terapia por ondas de choque extracorpóreas foi estatisticamente significativa somente na décima (S 10) semana, o que pode ter sido subestimado devido ao tipo de escore de claudicação que foi utilizado, com somente cinco categorias de mensuração, além da natureza subjetiva da avaliação da dor em animais. Pode ter ocorrido também um efeito compensatório, pela presença de lesão em ambos os membros pélvicos, tornando a claudicação menos evidente. Outra forma de mensuração do grau de dor poderia atestar o efeito analgésico da terapia por ondas de choque extracorpóreas, para redução da claudicação, corroborando os dados de Haupt (1997), que relatou efeito analgésico significativo em diversas patologias ortopédicas em humanos. Diversos autores também relataram o efeito analgésico das ondas de choque em eqüinos (BÄR, 2000; BOENING, 2000; BREMS et al., 1999). Podemos referir, segundo Maier et al. (2003), que o efeito analgésico

pode estar relacionado a um pico inicial, seguido de redução prolongada da concentração de substância P, liberada nos terminais sensoriais centrais e periféricos dos neurônios nociceptivos após o estímulo, e concentrada nas fibras C polimodais e em algumas fibras A δ , em um experimento com periosteio de coelhos.

Os resultados obtidos nas avaliações ultra-sonográficas nos diferentes momentos do experimento permitiram a avaliação da diferença entre os membros tratados com a terapia por ondas de choque extracorpóreas e os membros controle.

Os resultados da avaliação ultra-sonográfica longitudinal e transversal das lesões, uma semana após a segunda aplicação de colagenase, demonstraram uma imagem hipoeecóica, bastante nítida, na maioria dos animais, possibilitando a delimitação e mensuração da área lesada, bem como a individualização das estruturas tendíneas e ligamentares adjacentes, concordando com os achados de Alves (1998) e conflitando com os dados de Henry et al. (1986), que não obtiveram uma imagem nítida, mesmo após uma semana de ocorrência da lesão.

As imagens anecóica e hipoeecóica, segundo Henry et al. (1986), Genovese et al.(1990), Goodship e Birch (1996), são compatíveis com áreas de hemorragia, edema e tecido de granulação inicial na fase aguda da lesão.

A lesão criada na primeira injeção de colagenase (2,5mg/ml) envolveu, em média, uma semana (S 1) após a aplicação de colagenase 17,92% (0,29cm²) da área transversal do ligamento suspensório do boleto, apresentando uma ecogenicidade média de grau 3. Já após 2 semanas (S 2) da aplicação de colagenase houve um aumento médio do ligamento de apenas 18,96%, e uma lesão média de 13,64%, ou de 0,22 cm², não condizendo com os resultados descritos na literatura para esse modelo experimental de produção de lesões em estruturas

tendíneas e ligamentares dos eqüinos, como por exemplo no experimento realizado em estruturas tendíneas, por Henninger (1994).

Em função da necessidade de uma maior lesão para se avaliar a efetividade das ondas de choque, optou-se, devido ao fato de que a primeira aplicação da colagenase não devido por uma nova aplicação de colagenase, com o dobro da concentração (5 mg/ml), para a produção de lesões mais semelhantes às descritas nos modelos experimentais. Após a segunda injeção de colagenase, o tamanho médio das lesões, na terceira semana (S 3), foi de 26,14% da área do ligamento, ou de 0,50 cm² em média, e, na quarta semana (S 4), de 33,57%. Ou de 0,65 cm², com o aumento médio da área do ligamento de 32,93%. Este resultado encontrou-se mais próximo ao modelo experimental descrito na literatura e as possíveis diferenças podem ter ocorrido pela pouca disponibilidade de informações específicas relacionadas ao modelo experimental de produção de lesão no ligamento suspensório do boleto do membro pélvico, com suas diferenças estruturais. Outra possível explicação para o fato de as lesões inicialmente geradas terem sido pequenas, pode ter sido alguma diferença de atividade no lote da colagenase utilizada.

Outra dificuldade que ocorreu durante o experimento foi a falta de padronização da estrutura do ligamento suspensório do boleto do membro pélvico, como ocorre no membro torácico, pois o ligamento suspensório do boleto do membro pélvico tem uma maior variabilidade de tamanho e de formato entre os animais e há até mesmo uma falta de simetria entre os ligamentos dos membros pélvicos de um mesmo animal (DYSON, 1996, 1995b).

Na terapia por ondas de choque extracorpóreas do ligamento suspensório do boleto dos membros tratados, foram utilizados 1500 pulsos por ligamento tratado, o que corresponde aos dados de Mc Clure e Evans (2002), que também utilizaram essa dosagem de pulsos com um equipamento semelhante, para o tratamento da desmite induzida do suspensório do boleto e aos dados de Boening (2000), que utilizou 2000 pulsos para o tratamento da desmite clínica, do suspensório do boleto. O intervalo utilizado entre os tratamentos também está de acordo com a literatura, que recomenda intervalo de 2 a 4 semanas entre os tratamentos (MC CLURE e EVANS, 2002, BOENING, 2000, HAUPT, 1997).

Nas avaliações ultra-sonográficas durante e após o tratamento do ligamento suspensório do boleto dos membros tratados com a terapia por ondas de choque extracorpóreas, na avaliação da ecogenicidade, a diferença observada não foi estatisticamente significativa, em relação aos membros controle. A avaliação do escore de paralelismo das fibras mostrou uma ausência de paralelismo após as injeções de colagenase e ocorreu um aumento do escore, com diferença estatisticamente significativa após o início da terapia por ondas de choque nos membros tratados, quando comparados aos membros controle, na sétima (S 7), décima segunda (S 12) e décima quarta (S 14) semanas. O percentual de lesão do ligamento suspensório do boleto apresentou maior redução nos membros tratados, em relação aos membros controle, e essa diferença foi estatisticamente significativa a partir da décima semana, até o final do experimento (S 10, S 12, S 14). A medida da área do ligamento suspensório do boleto aumentou após a injeção de colagenase e começou a diminuir mais acentuadamente após o início do tratamento por ondas de choque extracorpóreas nos membros tratados, quando comparado aos membros

controle, e essa redução foi estatisticamente significativa da sétima semana até o fim do experimento (S 7, S 10, S 12, S 14). A medida da área da lesão do ligamento suspensório do boleto aumentou após a injeção de colagenase e, a partir da décima semana (S 10, S12, S14), a redução da área de lesão foi estatisticamente maior nos membros tratados em relação aos membros controle. Todos estes dados provenientes da avaliação ultra-sonográfica são semelhantes aos dados de Mc Clure e Evans (2002), que também encontraram diferença significativa nos escores de alinhamento das fibras e área de percentagem da lesão, nos membros tratados com terapia por ondas de choque extracorpóreas em um experimento com desmíte induzida do suspensório do boleto. Essas características ultra-sonográficas, segundo Genovese (1997), Foland et al. (1992) e Watkins et al.(1985) podem ser utilizadas na avaliação da reparação tendínea entre diferentes tratamentos.

Essas diferenças entre os membros controle e os membros tratados comprovaram o benefício da terapia por ondas de choque extracorpóreas nas desmites induzidas em eqüinos, proporcionando a reparação tecidual com redução mais rápida da área total do ligamento suspensório do boleto, do percentual e da área de lesão, e um aumento dos escores de paralelismo das fibras. Além disso, o fato de as diferenças entre os membros tratados e controle, relacionadas às avaliações ultra-sonográficas de escores de paralelismo, e do tamanho das lesões terem permanecido com diferença estatística significativa por duas avaliações após o último tratamento com ondas de choque (S 12 e S 14) comprovou a persistência dos efeitos desta terapia.

6.2. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA, HISTOPATOLÓGICA, ULTRA-ESTRUTURAL E IMUNOISTOQUÍMICA

O local da lesão no ligamento suspensório do boleto do membro pélvico não foi facilmente identificado no momento da biópsia. A ultra-sonografia foi utilizada para determinação da distância da lesão à extremidade proximal do osso calcâneo, que foi de 23,7 cm em média nos membros tratados e de 23,5 cm nos membros controle, e possibilitou a colheita cirúrgica da biópsia no local prévio da lesão. Foram observadas aderências e fibrose periligamentar na região da lesão em todos os animais, com resultados semelhantes aos de Spurlock et al. (1999) e de Williams et al. (1984).

Não foram encontradas na literatura descrições da técnica de biópsia cirúrgica do ligamento suspensório do boleto.

Ao exame histopatológico com as técnicas de coloração por hematoxilina-eosina e tricrômio de Masson, constatou-se a presença de desorganização tecidual no local das lesões no ligamento suspensório do boleto, acompanhada de fibroplasia e de neovascularização, o que corrobora os dados de Williams (1984), Goodship et al. (1994), Spurlock et al. (1999) e Maffulli et al. (2002). A diferença relacionada ao aumento da presença de vasos e da quantidade e característica dos fibroblastos, e do grau de desorganização tecidual não foi estatisticamente significativa entre os membros tratados e controle e houve uma grande variação individual. Foi observada uma maior maturação do tecido de reparação ligamentar, com processo inflamatório menos intenso no local da lesão nos membros tratados, quando comparado aos membros controle. Observou-se também nos membros tratados, através da

coloração de tricrômio de Masson, um maior conteúdo de fibras colágenas, evidenciado por uma coloração mais intensa da matriz extracelular, e fibroplasia com menor quantidade de fibroblastos por área nos membros tratados, o que refletiu um maior grau de maturação da cicatriz do ligamento suspensório do boleto.

A maior quantidade de vasos neoformados nos membros controle sugeriu uma menor velocidade do processo de reparação tecidual, quando comparado aos membros tratados, sem diferença estatística. Seria esperado que nos membros tratados, com uma maior expressão de TGF β - 1 houvesse um número maior de vasos devido ao estímulo da angiogênese. No trabalho em questão isto pode ter ocorrido, porém a biópsia foi realizada somente na décima quinta semana (S 15), onde o processo de reparação tecidual, tanto dos membros controle como dos membros tratados, se apresentava numa fase mais tardia, com o desaparecimento dos vasos neoformados.

Na análise ultra-estrutural foi observado um aumento na quantidade de fibras colágenas de menor diâmetro nos membros tratados, em relação aos membros controle, o que refletiu a formação de novas fibrilas de colágeno, correspondendo aos dados de Reddy et al. (1998), que estudaram a morfometria das fibras colágenas em tendões de coelhos submetidos a diferentes tratamentos, e aos dados de Damsch et al. (1992) e de Cherdehutham et al. (2001). A presença de maior quantidade de mitocôndrias também foi evidente nas amostras provenientes dos membros tratados, o que refletiu um maior potencial para o metabolismo celular, sugerindo uma maior capacidade dessas células para sintetizar e secretar colágeno, fatores de crescimento e outras macromoléculas da matriz extracelular (BIRCH et al., 1997), em relação aos membros controle.

A imunistoquímica para o anticorpo monoclonal TGF β - 1 mostrou maior imunoreatividade nos membros tratados do que nos membros controle, o que corrobora os dados de Chang et al. (1997), onde ocorreu a aceleração do processo de reparação tecidual pelo TGF β - 1, devido ao aumento da deposição de matriz extracelular, em diversos modelos experimentais. A detecção da expressão do TGF β - 1 através da imunistoquímica pode explicar a diminuição da presença de células inflamatórias nesta fase (FU et al., 2002). O efeito da forma ativa do TGF β - 1 na proliferação dos fibroblastos é bifásico, mostrando uma alta proliferação de fibroblastos em resposta a baixas concentrações da forma ativa, e um efeito de supressão da proliferação e estímulo da diferenciação em resposta a altas concentrações da forma ativa do TGF β - 1, demonstrando sua capacidade de auto-regulação (GHAHARY et al., 2002; BORDER & RUOSLAHTI, 1992).

Esse mecanismo somente poderia ser estabelecido mais precisamente se as avaliações fossem feitas em diversas ocasiões durante o processo de reparação, possibilitando um acompanhamento da variação da expressão do TGF β - 1, permitindo a avaliação de seu papel na reparação ligamentar com o uso da terapia por ondas de choque extracorpóreas. A expressão do TGF β e de seus receptores em tendões normais é mínima, quando em comparação ao tendão com lesão (NGO et al., 2001).

O TGF β tem sua ação pró-inflamatória na fase inicial da reparação tecidual e também participa na modulação da deposição de componentes da matriz extracelular, aumentando significativamente a síntese de colágeno, fibronectina e glicosaminoglicanos pelos fibroblastos (CHANG et al., 1997). O processo pode se tornar patológico quando ocorre a persistência de altas concentrações de TGF β e

ocorre a deposição excessiva de componentes da matriz extracelular, levando à fibrose (BORDER & RUOSLAHTI, 1992). Não foi possível a observação, nesta pesquisa, da relação entre aderências e as ondas de choque, uma vez que tanto os membros controle como os membros tratados apresentaram aderências periligamentares. Pode-se inferir que essas aderências estejam mais relacionadas à localização anatômica do ligamento do que à quantidade do fator de crescimento em questão e ao tratamento com ondas de choque extracorpóreas.

Wang et al. (2000) sugerem que um dos possíveis mecanismos de ação da terapia por ondas de choque extracorpóreas pode estar relacionado ao TGF β . Novos estudos com a realização de biópsias em diferentes momentos do processo de reparação são necessários para o esclarecimento do papel do TGF β no efeito das ondas de choque.

Pela presença de maior quantidade de fibras colágenas demonstrada pela avaliação ultra-estrutural, maior conteúdo de matriz extracelular observado na histopatologia (tricroômio de Masson) e maior imunoreatividade para o TGF β - 1 nos membros tratados, quando comparado aos membros controle, pode-se atestar a maturidade do tecido de reparação após o tratamento por ondas de choque extracorpóreas na desmíte induzida em eqüinos.

Todos esses parâmetros utilizados para a monitoração do processo de reparação da lesão ligamentar em eqüinos induzida pela injeção de colagenase, como a observação do aumento dos escores de paralelismo e a redução do tamanho das lesões, nas avaliações ultra-sonográficas, as avaliações histopatológicas, imunistoquímicas e ultra-estruturais justificam as diferenças observadas entre os membros tratados e controle, permitindo a demonstração de

que os membros tratados com as ondas de choque extracorpóreas apresentaram um processo de reparação tecidual em grau mais avançado de maturação, quando comparado com os membros controle.

Na literatura consultada, não foram encontrados estudos experimentais envolvendo o ligamento suspensório do boleto dos eqüinos submetido à análise histopatológica , imunoistoquímica e ultra-estrutural após o tratamento com ondas de choque extracorpóreas.

Uma próxima etapa deste estudo seria a investigação do efeito da terapia por ondas de choque extracorpóreas em diferentes momentos da aplicação, bem como novas pesquisas sobre seus efeitos em outras enfermidades ortopédicas dos eqüinos.

7. CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos, nas condições em que foi realizado o experimento, permite as seguintes conclusões:

- 1- A terapia por ondas de choque extracorpóreas se mostrou efetiva para o tratamento das desmites induzidas nos eqüinos.
- 2- As avaliações ultra-sonográficas demonstraram a influência das ondas de choque extracorpóreas sobre o processo da reparação ligamentar, após o início do tratamento, com a redução da área de lesão, quando comparado ao ocorrido nos membros utilizados como controle.
- 3- A utilização do exame ultra-sonográfico demonstrou ser eficaz na avaliação do processo de reparação ligamentar, induzida experimentalmente por injeção de colagenase.
- 4- As ondas de choque extracorpóreas favoreceram a maturação da reparação observada nas lesões ligamentares induzidas, nas avaliações histológicas, imunoistoquímicas e ultra-estruturais.
- 5- A utilização da análise ultra-estrutural demonstrou ser eficaz para a avaliação do processo de reparação ligamentar induzida experimentalmente por injeção de colagenase, evidenciando um aumento no número de fibras colágenas de pequeno calibre.
- 6- A terapia por ondas de choque extracorpóreas promoveu uma maior expressão do fator de crescimento $TGF\beta - 1$ no tecido de reparação ligamentar.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹⁴

ALMEKINDERS, L. C.; TEMPLE, J. D. Etiology, diagnosis and treatment of tendonitis: an analysis of the literature. **Med. Sci. Sports Exercise**, Indianápolis, v.30, n. 8, p. 1183 – 1190, 1998.

ALVES, A. L. G. et al. Avaliação ultra-estrutural de fibras tendíneas de eqüinos acometidos por tendinite. **R. Bras. Ci. Vet.** Santa Maria, v. 9, n. 1, p. 21 – 24, jan./abr. 2002.

ALVES, A. L. G. et al. Effects of beta- aminopropionitrile fumarate and exercise on equine tendon healing: Gross and histological aspects. **J. Equine Vet. Sci.**, Wildomar, v. 21, n. 7, p. 335 – 340, 2001a.

ALVES, A. L. G. et al. Influência do fumarato de beta-aminopropionitrila associada ao exercício na cicatrização tendínea - avaliação clínica e ultra-sonográfica. **Rev. Educ. Contin. CRMV-SP.**, São Paulo, v. 4, p. 17 – 19, 2001b.

ALVES, A. L. G. **Influência do fumarato de beta-aminopropionitrila associada à atividade física na reparação tendínea de eqüinos após agressão pela colagenase. Análise ultra-sonográfica e morfológica.**1998. 114p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

AMMENDOLIA, A.; DONATO, G. Effects of unfocused shockwave treatment in human soft tissue: preliminary study. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR MUSCULOSKELETAL SHOCKWAVE THERAPY, 4., 2001, Berlin. **Proceedings** ... Berlin, 2001. 1 CD-ROM.

BÄR, K. et al. Extrakorporale stosswellentherapie (ESWT) – eine möglichkeit zur therapie der podotrochlose. **Tierärztl. Prax.**, Stuttgart, v. 29 G , p. 163 – 167, 2001.

BÄR, K. et al. Extrakorporale stosswellentherapie in der veterinärmedizin. **Tierärztl. Prax.**, Stuttgart, v. 28 G, p.119 – 123, 2000.

BERTA, M. Presupposti teorici e modificazioni energetiche nell'applicazione della terapia con onde d'urto sull'arto del cavallo. In: ONDE D'URTO IN VETERINARIA, 1998, Torino. **Atti del Convegno...** Torino, 1998. 1 CD-ROM.

BIRCH, H. L.; RUTTER, G. A.; GOODSHIP, A. E. Oxidative energy metabolism in tendon cells. **Res. Vet. Sci.**, London, v. 62, p. 93 - 97, 1997.

BOENING, K. J. et al. Radial extracorporeal shock wave therapy for chronic insertion desmopathy of the proximal suspensory ligament. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 46., 2000, San Antonio. **Proceedings...** Lexington, 2000. p. 203 – 207.

BORDER, W. A.; RUOSLAHTI, E. Transforming growth factor- β in disease: the dark side of tissue repair. *J. Clin. Invest.*, New York, v. 90, n. 1, p. 1 – 7, jul. 1992.

BREMS, R.; CARTANJEN, B.; KAMINSKI, M. Shockwave therapy: a promising and gentle therapy method for the treatment of orthopedic disorders. In: WORLD EQUINE VETERINARY ASSOCIATION CONGRESS, 6., 1999, Paris. **Proceedings...** Paris, 1999. 1 CD-ROM.

CAMINOTO, E. H. et al. Estudo retrospectivo da terapia de ondas de choque radiais extracorpóreas (RSWT) no tratamento de condições ortopédicas em 103 eqüinos no Brasil. In: CICADE - CONFERENCIA INTERNACIONAL DE CABALLOS DE DEPORTE, 3., 2003, Curitiba. **Proceedings...** Essen, 2003. 1 CD-ROM.

CHANG, J. et al. Gene expression of transforming growth factor beta-1 in rabbit zone II flexor tendon wound healing: evidence for dual mechanisms of repair. **Plast. Reconstr. Surg.** Baltimore, v. 100, p. 937 – 944, set. 1997.

CHERDEHUTHAM, W. et al. Effects of exercise on the diameter of collagen fibrils in the central core and periphery of the superficial digital flexor tendon in foals. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 62, n. 10, p.1563 - 1570, out. 2001.

CHEN, J. Y. J. et al. Extracorporeal shockwave promotion of osteogenic cells proliferation and bone related proteins expression. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR MUSCULOSKELETAL SHOCKWAVE THERAPY, 4., 2001, Berlin. **Proceedings** ... Berlin, 2001. 1 CD-ROM.

COSENTINO, R. et al. Efficacy of extracorporeal shockwave treatment in calcaneal enthesophytosis. **Ann. Rheum. Dis.**, London, v. 60, p. 1064 – 1067, 2001.

COWLES, R. R. Proximal suspensory desmitis – a qualitative survey. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 46., 2000, San Antonio. **Proceedings**... Lexington, 2000. p. 143 - 144.

COWLES, R. R.; JOHNSON, L. D.; HOLLOWAY, P. M. Proximal suspensory desmitis: A retrospective study. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 40., 1994, Vancouver. **Proceedings**...Lexington, 1994.

CREVIER-DENOIX, N. et al. Mechanical correlations derived from segmental histologic study of the equine superficial digital flexor tendon, from foal to adult. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 59, n. 8, p. 969 - 985, ago. 1998.

DAHLGREN, L. A.; ROSENBUSCH, R. F.; BOOTH, L. C. Development of an in vitro model for the study of the response of equine tendon fibroblasts to injury and medication. **Vet. Comp. Orthop. Traumatol.**, Salt Lake, v. 10, p. 6 - 11, 1997.

DAMSCH, S. et al. Intratendinöse injection von hochmolekularem natrium-hyaluronat bei pferden chronischer tendonitis-klinische, licht- und elektronenmikroskopische befunde. **Pferdeheilkunde**, Stuttgart, v. 8, n. 6, p. 333 – 343, nov./dez. 1992.

DELIUS, M. et al. Biological effects of shock waves: in vivo effect of high energy pulses on rabbit bone. **Ultrasound Med. Biol.**, Elmsford, v. 21, p. 1219 - 1225, 1995.

DENOIX, J. M. Functional Anatomy of tendons and ligaments in the distal limbs. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, Philadelphia, v. 10, n. 2, p. 273 – 322, ago. 1994.

DONATI, S. Desmite inserzionali: possibilita di impiego delle onde d'urto e risultati clinici. In: ONDE D'URTO IN VETERINARIA, 1998, Torino. **Atti del Convegno...** Torino, 1998. 1 CD-ROM.

DYSON, S. Proximal suspensory desmitis in the forelimb and the hindlimb. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 46., 2000, San Antonio. **Proceedings...**Lexington, 2000. p.127 – 142.

DYSON, S. Diagnosis and prognosis of suspensory desmitis. In: DUBAI EQUINE INTERNATIONAL SYMPOSIUM: THE EQUINE ATHLETE: TENDON, LIGAMENT AND SOFT TISSUE INJURIES, 1996, Dubai. **Proceedings...** Dubai: Neyenesch Printers, 1996. p. 207 - 225.

DYSON, S. Suspensory ligament desmitis. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, Philadelphia, v. 11, n. 2, p. 177 - 215, ago. 1995a.

DYSON, S. Proximal suspensory desmitis in the hindlimb. **Equine Vet. Educ.**, London, v. 7, n. 5, p. 275 - 278, 1995b.

DYSON, S. Proximal suspensory desmitis in the hindlimb: 42 cases. **Br. Vet. J.**, London, v. 150, n. 3, p. 279, 1994.

DYSON, S. Ultrasonographic examination of the metacarpal and metatarsal regions in the horse. **Equine Vet. Educ.**, London, v. 4, n. 3, p. 139 - 144, 1992.

DYSON, S. Proximal suspensory desmitis: clinical, ultrasonographic and radiographic features. **Equine Vet. J.**, London, v. 23, n. 1, p. 25 – 31, jan. 1991.

FERRARIO, R.; NASSA, G. Patologie osse intra-ed extra-articolari in fase acuta e in fase crônica: risposta clinica allá terapia com onde d'urto. In: ONDE D'URTO IN VETERINARIA, 1998, Torino. **Atti del Convegno...** Torino, 1998. 1 CD-ROM.

FOLAND, J.W. et al. Effect of sodium hyaluronate in collagenase-induced superficial digital flexor tendinitis in horses. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 53, n. 12, p. 2371 - 2376, dez. 1992.

FU, S. C. et. al. Increased expression of transforming growth factor – β 1 in patellar tendinosis. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, v. 400, p. 174 - 183, jul. 2002.

FUSETTI, L. Le teniti: risposta clinica al trattamento con onde d'urto. In: ONDE D'URTO IN VETERINARIA, 1998, Torino. **Atti del Convegno...** Torino, 1998. 1 CD-ROM.

GHAHARY, A. et al. Cell proliferating effect of latent transforming growth factor- β 1 is cell membrane dependent. **Wound Rep. Reg.**, Malden, v. 10, p. 328 – 335, set. 2002.

GAUGHAN, E. M. The influence of sequential intratendinous sodium hyaluronate on tendon healing in horses. **Vet. Comp. Orthop. Traumatol.**, Salt Lake, v. 8, p. 40 - 45, 1995.

GAUGHAN, E. M. et al. Effects of sodium hyaluronate on tendon healing and adhesion formation in horses. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 52, n. 5, p. 764 - 773, 1991.

GENOVESE, R. et al. Quantitative sonographic assessment in the clinical management of superficial digital flexor injuries in thoroughbred racehorses. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 43., 1997, Phoenix. **Proceedings**...Lexington, 1997. p. 285 - 290.

GIBSON, K. T.; STEEL, C. M. Conditions of the suspensory ligament causing lameness in horses. **Equine Vet. Educ.**, London, v. 14, n. 1, p. 39 – 50, jan. 2002.

GIFT, L. J. et al. The influence of intratendinous sodium hyaluronate on tendon healing in horses. **Vet. Comp. Orthop. Traumatol.**, Salt Lake, v. 5, p. 151 - 157, 1992.

GILLIS, C. L. Rehabilitation of tendon and ligament injuries. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 43., 1997, Phoenix. **Proceedings**...Lexington, 1997. p. 306 - 309.

GIMENO, E. J.; MASSONE, A. R.; PORTIANSKY, E. L. Introducción a las técnicas de inmunohistoquímica y aplicaciones en patología veterinaria. In: CURSO INTERNACIONAL DE POSGRADO EN TECNICAS DE INMUNOHISTOQUIMICA, LECTINHISTOQUIMICA Y MICROSCOPIA ELECTRONICA, 14., 2002, La Plata. **Proceedings**... La Plata, 2002. 1 CD-ROM.

GOODSHIP, A.E. The pathophysiology of flexor tendon injury in the horse. **Equine Vet. Educ.**, London, v. 5, n. 1, p. 23 - 29, jan. 1993.

GOODSHIP, A. E.; BIRCH, H. L.; WILSON, A. M. The pathobiology and repair of tendon and ligament injury. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, Philadelphia, v. 10, n. 2, p. 323 - 349, ago. 1994.

- HAUPT, G. Use of extracorporeal shock waves in the treatment of pseudarthrosis, tendinopathy and other orthopedic diseases. **J. Urol.**, Baltimore, v. 158, p. 4 – 11, 1997.
- HELLER, K.D.; NIETHARD, F.U. Der einsatz der extrakorporalen stosswellentherapie in der orthopädie – eine metaanalyse. **Z. Orthop.**, Stuttgart, v. 136, p. 390 - 491, 1998.
- HENNINGER, R. Treatment of superficial digital flexor tendinitis. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, Philadelphia, v. 10, n. 2, p. 409 - 424, ago. 1994.
- HENRY, G. A.; PATTON, C. S.; GOBLE, D. O. Ultrasonographic evaluation of iatrogenic injuries of the accessory (carpal check) ligament and superficial digital flexor tendon. **Vet. Radiol.**, Raleigh, v. 27, p. 132-140, 1986.
- IKEDA, K.; KATSURO, T.; TAKAYAMA, K. Application of extracorporeal shock wave on bones: preliminary report. **J. Trauma**, Baltimore, v. 47, p. 946, 1999.
- JOHANNES, E. J. et al. Effects of high-energy shockwaves on normal human fibroblasts in suspension. **J. Surg. Res.**, New York, v. 57, p. 677 - 681, 1994.
- KEG, P. R. et al. The effect of the high palmar nerve block and ulnar nerve block on lameness provoked by a collagenase-induced tendonitis of the lateral branch of the suspensory ligament. **Vet. Q.**, Dordrecht, v. 18, suppl. 2, p. 103 - 105, 1996.
- KEG, P.R. et al. The effect of regional nerve blocks on the lameness caused by collagenase induced tendonitis in the midmetacarpal region of the horse: a study using gait analysis, and ultrasonography to determine tendon healing. **J. Vet. Med. A.**, Berlin, v. 39, p. 349 - 364, 1992.

KRISCHEK, O. et al. Symptomatische niedrig-energetische stosswellentherapie bei fersenschmerzen und radiologisch nachweisbarem plantaren fersensporn. **Z. Orthop.**, Stuttgart, v. 136, p. 169 - 174, 1998.

LÖFFELD, S. **Radiale extrakorporale stosswellentherapie bei pferden mit chronischer insertionsdesmopathie am ursprung des musculus interosseus medius.** 132p. 2000. Tese (Doutorado) - Klinik für pferde der Tierärztlichen Hochschule, Hannover.

MADISON, J. B. Acute and chronic tendinitis in horses. **Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.**, Princeton Junction, v. 6, p. 853 - 856, jun. 1995.

MAFFULLI, N.; MOLLER, H. D.; EVANS, C. H. Tendon healing: can it be optimized ?. **Br. J. Sports Med.**, London, v. 36, n. 5, p. 315 – 316, out. 2002.

MAIER, M. et al. Substance P and Prostaglandine E₂ release after shock wave application to the rabbit femur. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, v. 406, n. 1, p. 237 - 245, jan. 2003.

MC CARROL, D. G.; MC CLURE, S. Extracorporeal shock wave therapy for treatment of osteoarthritis of the tarsometatarsal and distal intertarsal joints of the horse. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 48, 2002, Orlando. **Proceedings...**Lexington, 2002. p. 378 – 380.

MC CLURE, S.; EVANS, R. B. In vivo evaluation of extracorporeal shock wave therapy for collagenase induced suspensory ligament desmitis. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 48, 2002, Orlando. **Proceedings...** Lexington, 2002. p. 378 - 380.

MC CLURE, S.; VAN SICKLE, D.; WHITE, R. Extracorporeal shockwave therapy: what does it do to equine bone? In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE

PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 46., 2000, San Antonio.

Proceedings...Lexington, 2000. p. 197 - 199.

MEIER, M. et al. Analgetische wirkung nieder-energetischer extrakorporaler stosswellen bei tendinosis calcarea, epikondylitis humeri radialis und plantarfasziitis.

Z. Orthop., Stuttgart, v. 138, p. 34 - 38, 2000.

MOYER, W.; FORD, T. S.; ROSS, M. W. Proximal suspensory desmitis. In:

AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL

CONVENTION, 35., 1989, Colorado. **Proceedings**... Lexington, 1989. p. 409 -

412.

MURPHY, D. J.; NIXON, A. J. Biochemical and site-specific effects of insulin-like growth factor I on intrinsic tenocyte activity in equine flexor tendons. **Am. J. Vet.**

Res., Schaumburg, v. 58, p. 103 - 109, 1997.

NGO, M. B. S et al. Differential expression of transforming growth factor – [beta] receptors in a rabbit zone II flexor tendon wound healing model. **Plast. Reconstr.**

Surg. Baltimore, v. 108, n. 5, p. 1260 - 1267, out. 2001.

OGDEN, J. A. et al. Shock wave therapy in Musculoskeletal disorders. **Clin. Orthop.**

Relat. Res., Philadelphia, v. 387, p. 22 - 40, jun. 2001.

PERLICK, L. et al. Vergleich der ergebnisse der mittelenergetischen ESWT und der operativen therapie in der technik nach Mittelmeyer bei der therapieresistenten

epicondylitis humeri radialis. **Z. Orthop.**, Stuttgart, v. 137, p. 316 - 21, 1999.

POOL, R. R. Pathologic changes in tendonitis of athletic horses. In: DUBAI EQUINE INTERNATIONAL SYMPOSIUM: THE EQUINE ATHLETE: TENDON, LIGAMENT

AND SOFT TISSUE INJURIES, 1996, Dubai. **Proceedings**... Dubai, 1996. p. 109 -

117.

POOL, R. R. Pathology of tendons and ligaments. **J. Equine Vet. Sci.**, Wildomar, v. 12, n. 3, p. 145 - 148, 1992.

QUIRION, P. Radial shockwave therapy for equine orthopedic problems. **J. Equine Vet. Sci.**, Wildomar, v. 20, p. 733 - 735, 2000.

REDDING, W. R.; BOOTH, L.C.; POOL, R. R. The effects of polysulphated glycosaminoglycan on the healing of collagenase induced tendinitis. **Vet. Comp. Orthop. Traumatol.**, Salt Lake, v. 12, p. 48 - 55, 1999.

REDDY, G. K. et al. Biochemistry and biomechanics of healing tendon: Part II. Effects of combined laser therapy and electrical stimulation. **Med. Sci. Sports Exercise.**, Baltimore, v. 30, n. 6, p. 794 – 800, jun. 1998.

ROMPE, J. D. et al. Dose-related effects of shock waves on rabbit tendo Achillis: a sonographic and histological study. **J Bone Joint Surg.**, London, v. 80 – B, p. 546 – 552, mai. 1998.

ROMPE, J. D. et al. Extrakorporale stosswellentherapie der epicondylopathia humeri radialis – ein alternatives behandlungskonzept. **Z. Orthop.**, Stuttgart, v. 134, p. 63 - 66, 1996.

ROMPE, J. D. et al. Extrakorporale stosswellentherapie in der orthopädie. **Fortschr. Med.**, Minich, v. 18, p. 26 – 33, 1997.

ROSS, M. W. Surgical management of superficial digital flexor tendinitis. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 43., 1997, Phoenix. **Proceedings**...Lexington, 1997. p. 291 - 296.

SEIL, R. et al. Extrakorporale stosswellentherapie bei der tendinosis calcarea der rotatorenmanschette: vergleich verschnieder behandlungsprotokolle. **Z. Orthop.**, Stuttgart, v. 137, p. 310 - 315, 1999.

SCHADEN, W.; FISCHER, A.; SAILLER, A. Extracorporeal shock wave therapy of nonunion or delayed osseous union. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, v. 387, p. 90 - 94, jun. 2001.

SIEBERT, W.; BUCH, M. **Extracorporeal shock waves in orthopaedics**. Berlin: Springer-Verlag, 1997. 245p.

SISTERMANN, R.; KATTHAGEN, B.D. 5 Jahre lithotripsie des plantaren fernsensornes: erfahrungen und ergebnisse – eine untersuchung nach 36,9 monaten. **Z. Orthop.**, Stuttgart, v. 136, p. 402 - 406, 1998.

SPINDLER, A. et al. Extracorporeal Shock Wave treatment for chronic calcific tendinitis of the shoulder. **J. Rheumatol.**, Toronto, v. 25, p. 1161 - 1163, 1998.

SPURLOCK, S. L. et al. Treatment of acute superficial flexor tendon injuries in performance horses with high molecular weight sodium hyaluronate. **J. Equine Vet. Sci.**, Wildomar, v. 19, n. 5, p. 338 - 344, 1999.

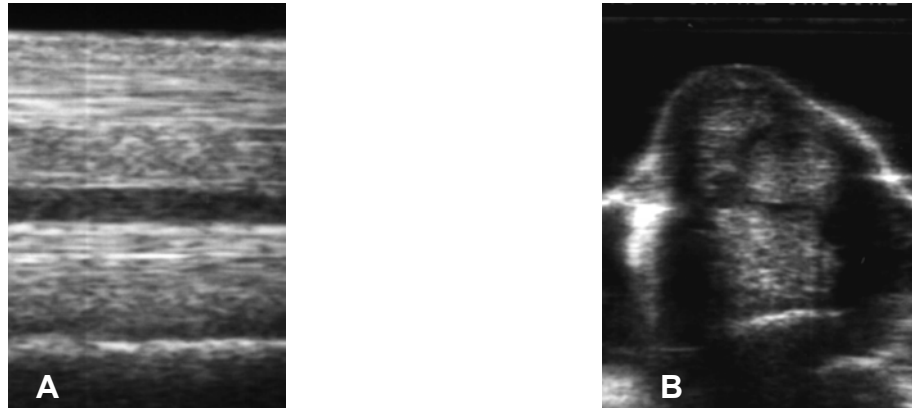
SPURLOCK, G. H.; SPURLOCK, S. L.; PARKER, G. A. Ultrasonographic, gross, and histologic evaluation of a tendonitis disease model in the horse. **Vet. Radiol.**, Raleigh, v. 30, n. 3, p. 184 – 188, 1989.

STICKLE, R. et al. Radiographic diagnosis proximal suspensory desmitis. **Vet. Radiol. Ultrasound.**, Raleigh, v. 37, p. 105 - 107, 1996.

STASHAK, T.S. **Adam's Lameness in horses**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1987. 906p.

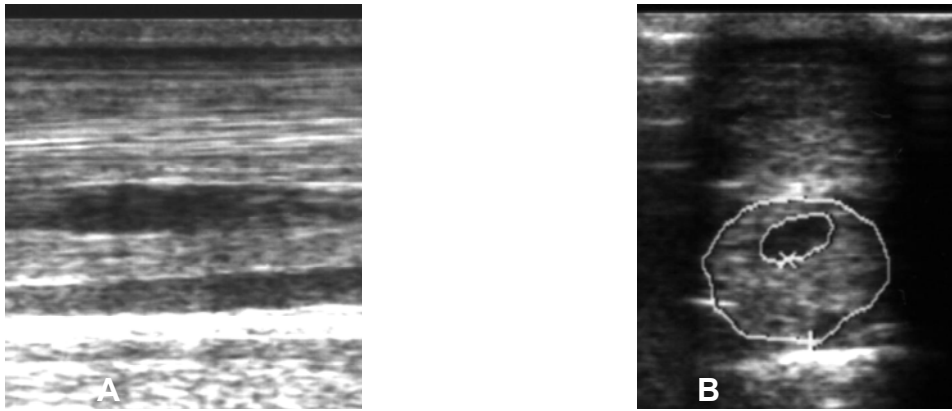
- VALCHANOU, V. D.; MICHAILOV, P. High energy shock waves in the treatment of delayed and nonunion fractures. **Int. Orthop.**, Berlin, v. 15, p. 181 - 184, 1991.
- VAN DER BELT, A.J.M.; KEG, P.R.; BARNEVELD, A. The correlation between dose and distribution of intratendinous fluid injections in the flexor ligaments of the horse. **J. Vet. Med. A.**, Berlin, v. 40, p. 713 - 719, 1993.
- WANG, C. J. et al. Treatment of nonunions in long bone fractures with shock waves. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, v. 387, p. 95 – 101, jun. 2001.
- WANG F. S. et al. Extracorporeal shock wave promotes growth and differentiation of bone-marrow stromal cells towards osteoprogenitors associated with induction of TGF β - 1. **J Bone Joint Surg.**, London, v. 84-B, n. 3, p. 457 – 461, abr. 2002.
- WANG, F. S.; KEUNDER, K. D.; WANG, C. J. Transforming growth factor beta 1 involved in extracorporeal shock wave promotion of bone marrow mesenchymal osteoprogenitors growth. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR MUSCULOSKELETAL SHOCK WAVE THERAPY, 3., 2000, Naples. **Proceedings...** Naples, 2000. p. 99.
- WATKINS, J. P. et al. Healing of surgical created defects in equine superficial digital flexor tendon: Effects of pulsing electromagnetic field therapy on collagen-type transformation and tissue and morphologic reorganization. **Am. J. Vet. Res.**, Schumburg, v. 46, n. 10, p. 2097 - 2103, out. 1985.
- WILLIAMS, I. F. Studies on the pathogenesis of equine tendonitis following collagenase injury. **Res. Vet. Sci.**, London, v. 36, p. 326 - 338, 1984.
- ZAR, J.H. **Biostatistical analysys**. 3.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996. 718p.

9. APÊNDICE



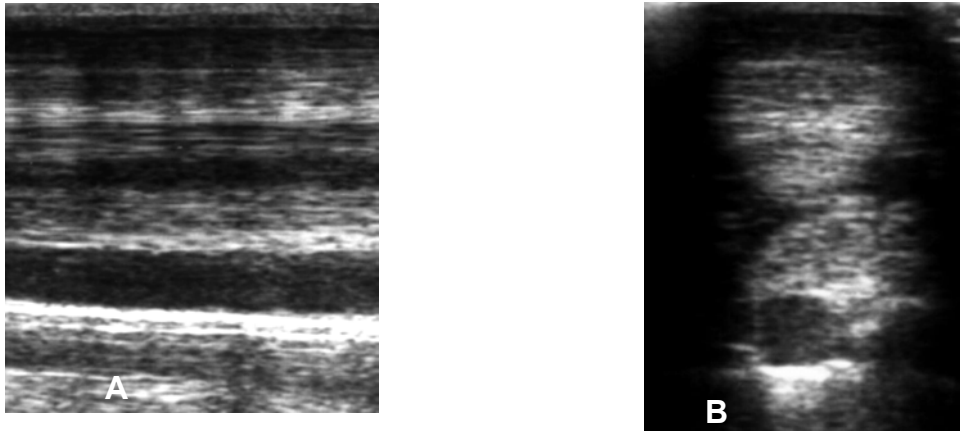
A: Imagem ultra-sonográfica longitudinal do ligamento suspensório do boleto na S 0
B: Imagem transversal do ligamento suspensório do boleto na S 0.

FIGURA 19: Imagem ultra-sonográfica do ligamento suspensório do boleto na semana inicial do experimento (S 0)



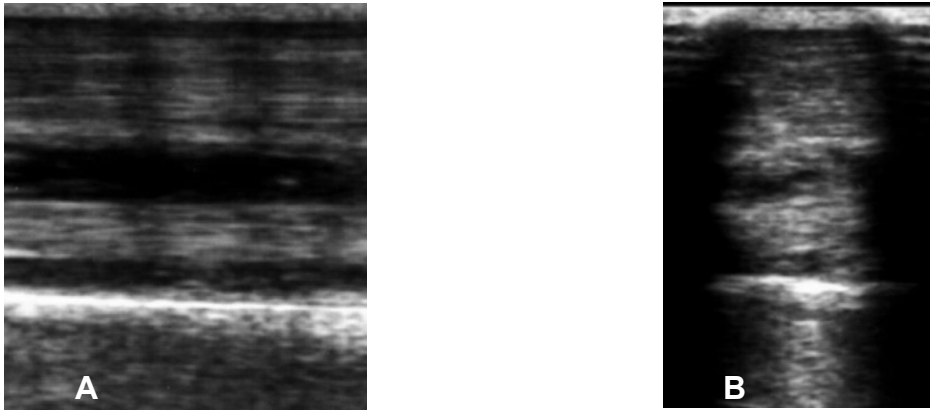
A: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 1 semana de evolução.
B: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto, com 1 semana de evolução.

FIGURA 20: Imagem ultra-sonográfica da lesão do ligamento suspensório do boleto, com uma semana de evolução (S 1)



- A: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 2 semanas de evolução.
- B: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 2 semanas de evolução.

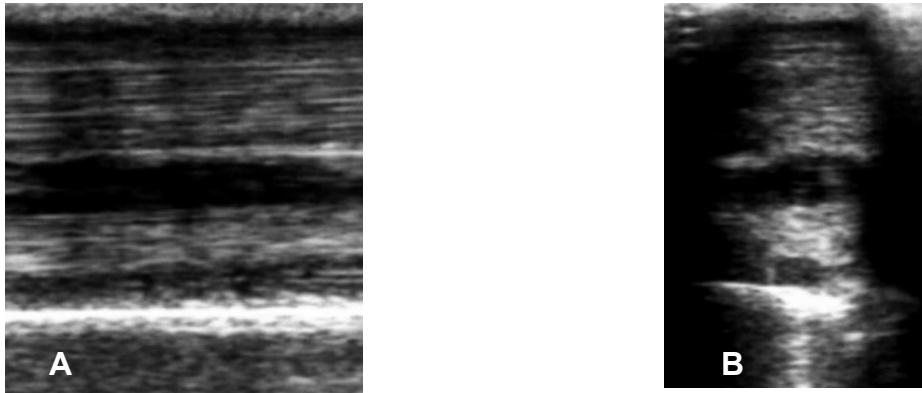
FIGURA 21: Imagem ultra-sonográfica da lesão do ligamento suspensório do boleto, com duas semanas de evolução, na data da segunda injeção de colagenase (S 2)



A: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 3 semanas de evolução.

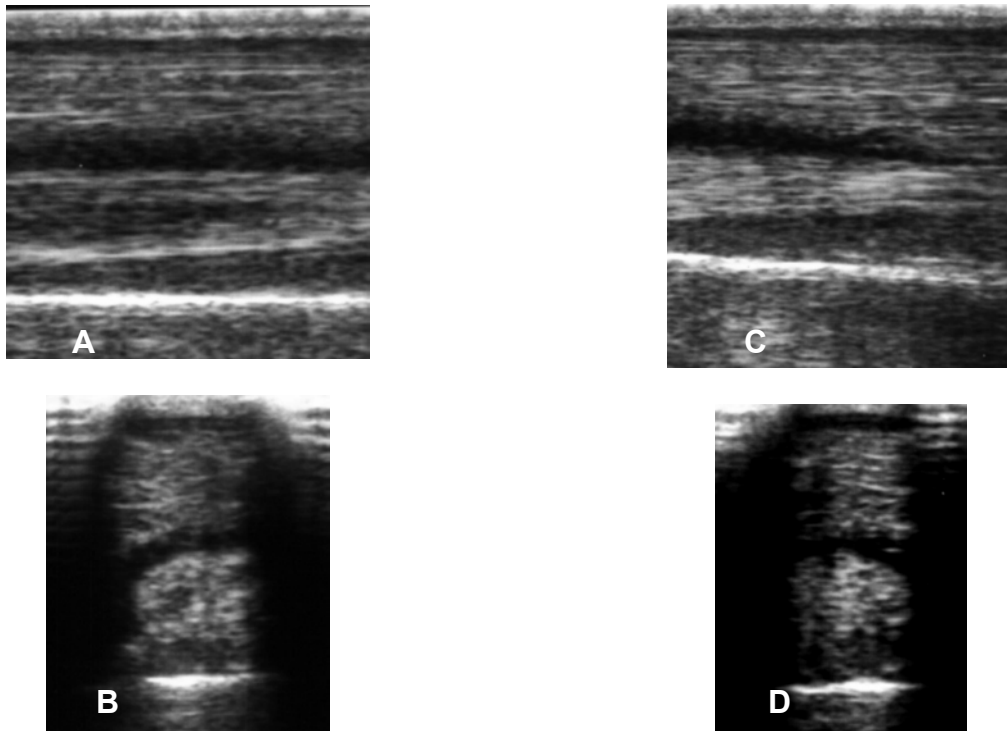
B: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto, com 3 semanas de evolução.

Figura 22: Imagem ultra-sonográfica de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 3 semanas de evolução (S 3).



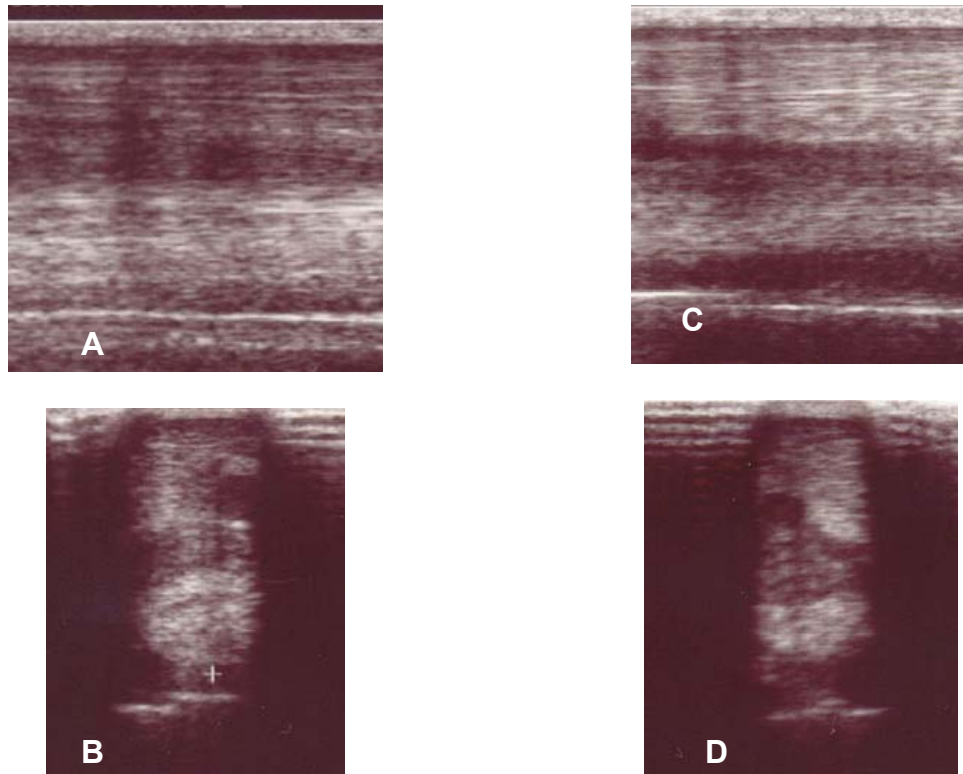
A: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 4 semanas de evolução.
B: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 4 semanas de evolução.

Figura 23: Imagem ultra-sonográfica de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 4 semanas de evolução, na data do primeiro tratamento com ondas de choque (S 4).



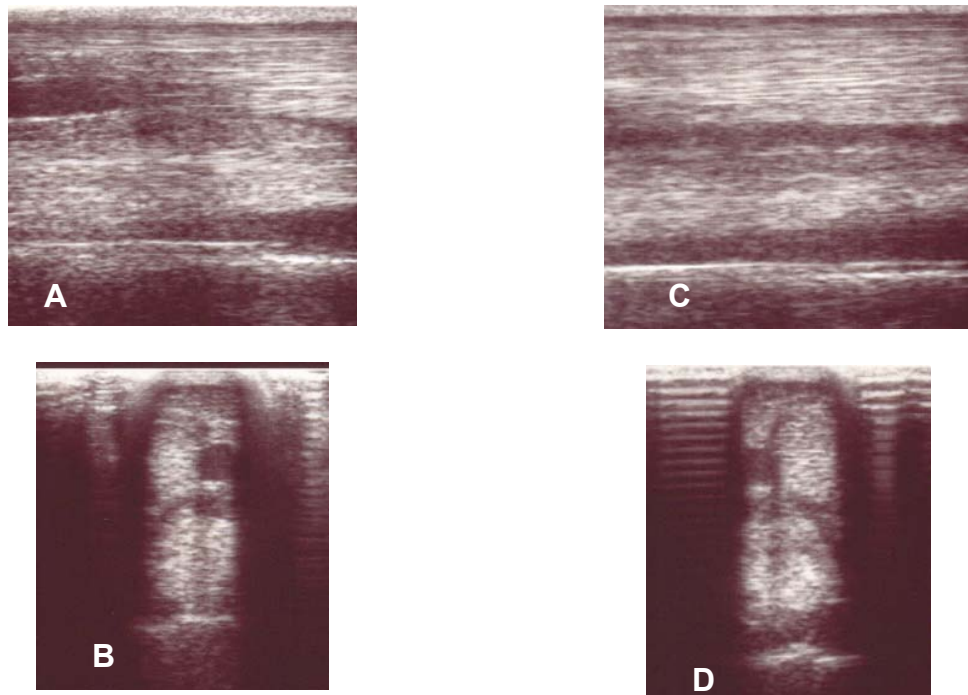
- A: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 7 semanas de evolução, membros tratados.
- B: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto, com 7 semanas de evolução, membros tratados.
- C: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 7 semanas de evolução, membros controle.
- D: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 7 semanas de evolução, membros controle.

Figura 24: Imagem ultra-sonográfica de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 7 semanas de evolução, na data do segundo tratamento com ondas de choque (S 7).



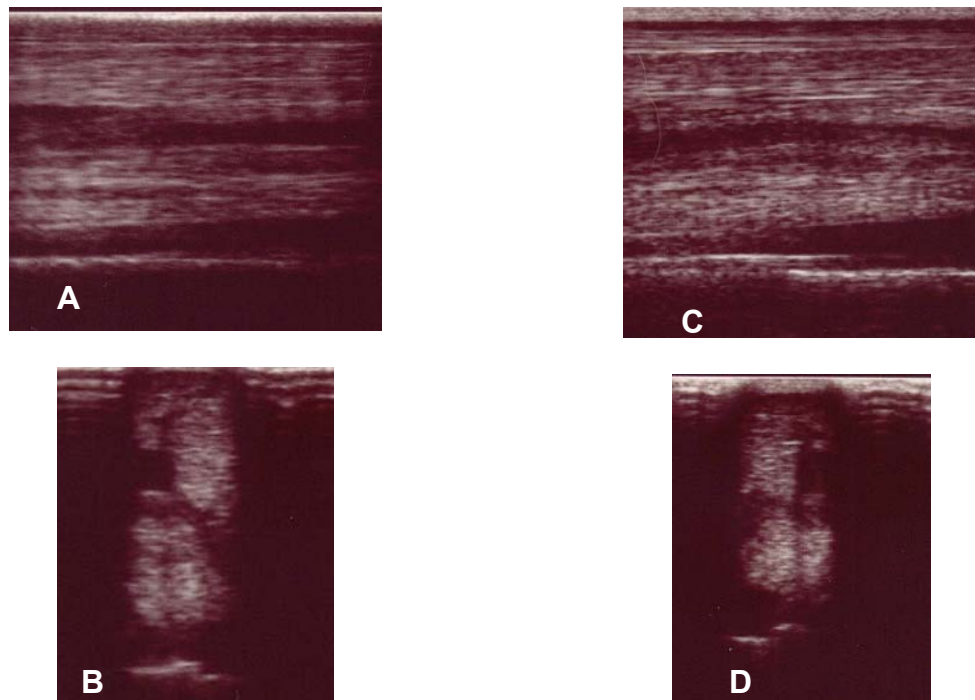
- A: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 10 semanas de evolução, membros tratados.
- B: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto, com 10 semanas de evolução, membros tratados.
- C: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 10 semanas de evolução, membros controle.
- D: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 10 semanas de evolução, membros controle.

FIGURA 25: Imagem ultra-sonográfica da lesão do ligamento suspensório do boleto, com dez semanas de evolução, na data da terceira terapia com ondas de choque (S 10)



- A: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 12 semanas de evolução, membros tratados.
- B: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto, com 12 semanas de evolução, membros tratados.
- C: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 12 semanas de evolução, membros controle.
- D: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 12 semanas de evolução, membros controle.

FIGURA 26: Imagem ultra-sonográfica da lesão do ligamento suspensório do boleto, com doze semanas de evolução (S 12)



- A: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 14 semanas de evolução, membros tratados.
- B: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto, com 14 semanas de evolução, membros tratados.
- C: Imagem longitudinal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 14 semanas de evolução, membros controle.
- D: Imagem transversal de uma lesão do ligamento suspensório do boleto com 14 semanas de evolução, membros controle.

FIGURA 27: Imagem ultra-sonográfica da lesão do ligamento suspensório do boleto, com catorze semanas de evolução (S 14)

TABELA 10: Valores médios da área do ligamento suspensório do boleto (a), da área da lesão (L) e da porcentagem da área de lesão em relação à área do ligamento (%), dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), observados ao exame ultra-sonográfico nos diferentes momentos analisados: início do experimento (S0), com uma (S 1), duas (S 2), três (S 3) e com quatro semanas (S 4).

	aS0	aS1	LS1	%S1	aS2	LS2	%S2	aS3	LS3	%S3	aS4	LS4	%S4
1A	1,21	1,44	0,23	15,97	1,49	0,10	6,71	1,99	0,28	14,07	1,88	1,05	55,85
1B	1,26	1,40	0,30	21,43	1,46	0,20	13,70	2,08	0,76	36,54	1,94	0,78	40,21
2A	1,65	1,70	0,32	18,82	1,51	0,26	17,22	2,11	0,48	22,75	1,79	0,47	26,26
2B	1,67	1,69	0,32	18,93	1,60	0,11	6,88	1,81	0,28	15,47	2,37	0,48	20,25
3A	1,43	2,11	0,49	23,22	1,68	0,10	5,95	2,17	0,34	15,67	2,13	0,60	28,17
3B	1,61	2,15	0,39	18,14	1,94	0,16	8,25	2,19	0,57	26,03	2,11	0,73	34,60
4A	1,80	1,92	0,42	21,88	2,14	0,34	15,89	2,35	0,71	30,21	2,72	1,04	38,24
4B	1,70	2,54	0,52	20,47	2,22	0,52	23,42	2,74	0,89	32,48	2,54	0,98	38,58
5A	1,32	1,11	0,18	16,22	1,19	0,24	20,17	1,37	0,31	22,63	2,03	0,47	23,15
5B	1,14	1,28	0,22	17,19	1,20	0,19	15,83	1,35	0,19	14,07	1,16	0,33	28,45
6A	1,13	1,31	0,24	18,32	1,56	0,31	19,87	1,73	0,36	20,81	1,68	0,72	42,86
6B	1,19	1,18	0,11	9,32	1,51	0,30	19,87	1,80	0,68	37,78	1,52	0,51	33,55
7A	1,06	0,97	0,13	13,40	1,03	0,04	3,88	1,27	0,47	37,01	1,37	0,55	40,15
7B	1,12	1,47	0,25	17,01	1,40	0,07	5,00	1,48	0,52	35,14	1,48	0,34	22,97
8A	1,32	2,00	0,26	13,00	2,14	0,37	17,29	2,24	0,75	33,48	1,48	0,34	22,97
8B	1,37	1,87	0,35	18,72	2,28	0,37	16,23	2,08	0,58	27,88	2,13	0,58	27,23
9A	0,82	1,53	0,30	19,61	1,72	0,27	15,70	1,66	0,27	16,27	1,62	0,49	30,35
9B	1,00	1,51	0,19	12,58	1,64	0,13	7,93	1,76	0,25	14,20	2,10	0,95	45,24
10A	1,03	1,59	0,34	21,38	1,17	0,09	7,69	2,14	0,77	35,98	1,98	0,50	25,25
10B	1,08	1,38	0,20	14,49	1,09	0,19	17,43	2,13	0,59	27,70	1,78	0,65	36,52
média	1,30	1,61	0,29	17,92%	1,60	0,22	13,64	1,92	0,50	26,14	1,93	0,65	33,57

a – Área do Ligamento suspensório do boleto (cm²)

L – Área da lesão no Ligamento suspensório do boleto (cm²)

% - Porcentagem de lesão do Ligamento suspensório do boleto

S – Semana do experimento

A – Membros Tratados TOC

B – Membros Controle

TABELA 11: Valores médios da área do ligamento suspensório do boleto (a), da área da lesão (L) e da porcentagem da área de lesão em relação à área do ligamento (%), dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), observados ao exame ultra-sonográfico nos diferentes momentos analisados: com quatro (S 4), com sete (S 7), com dez (S 10), com doze (S 12) e com catorze semanas (S 14).

	aS4	LS4	%S4	aS7	LS7	%S7	aS10	LS10	%S10	aS12	LS12	%S12	aS14	LS14	%S14
1A	1,88	1,05	55,85	1,64	0,53	32,32	1,63	0,51	31,29	1,60	0,31	19,38	1,48	0,32	21,62
1B	1,94	0,78	40,21	1,59	0,80	50,31	1,89	0,99	52,38	1,99	0,93	46,73	1,69	0,54	31,95
2A	1,79	0,47	26,26	1,62	0,60	37,04	1,80	0,68	37,78	1,98	0,23	11,62	1,66	0,31	18,67
2B	2,37	0,48	20,25	2,13	0,84	39,44	2,31	0,94	40,69	2,42	0,69	28,51	1,95	0,72	36,92
3A	2,13	0,60	28,17	1,94	0,72	37,11	1,80	0,82	45,56	1,84	0,50	27,17	1,70	0,30	17,65
3B	2,11	0,73	34,60	2,11	0,94	44,55	2,18	1,24	56,88	2,48	0,93	37,50	1,99	0,72	36,18
4A	2,72	1,04	38,24	1,98	0,99	50,00	1,85	0,79	42,70	1,84	0,58	31,52	1,60	0,47	29,38
4B	2,54	0,98	38,58	2,32	1,03	44,40	1,98	0,97	48,99	2,06	0,91	44,17	1,82	0,45	24,73
5A	2,03	0,47	23,15	1,47	0,58	39,46	1,19	0,31	26,05	1,21	0,24	19,83	1,08	0,22	20,37
5B	1,16	0,33	28,45	1,35	0,49	36,30	1,35	0,46	34,07	1,41	0,41	29,08	1,33	0,39	29,32
6A	1,68	0,72	42,86	1,40	0,55	39,29	1,41	0,50	35,46	1,41	0,41	29,08	1,64	0,16	9,76
6B	1,52	0,51	33,55	1,41	0,49	34,75	1,82	0,69	37,91	1,62	0,53	32,72	1,59	0,51	32,08
7A	1,37	0,55	40,15	1,50	0,61	40,67	1,31	0,40	30,53	1,29	0,22	17,05	1,43	0,27	18,88
7B	1,48	0,34	22,97	1,47	0,34	23,13	1,60	0,38	23,75	1,71	0,47	27,49	1,72	0,40	23,26
8A	1,48	0,34	22,97	2,01	0,61	30,35	1,74	0,27	15,52	1,74	0,24	13,79	1,75	0,52	29,71
8B	2,13	0,58	27,23	2,26	1,02	45,13	2,04	1,03	50,49	1,95	0,70	40,51	2,02	0,81	40,10
9A	1,62	0,49	30,35	1,22	0,55	45,08	1,43	0,27	18,88	1,24	0,19	15,32	1,24	0,23	18,55
9B	2,10	0,95	45,24	1,72	0,74	43,02	1,62	0,73	45,06	1,59	0,55	34,59	1,58	0,52	32,91
10A	1,98	0,50	25,25	1,25	0,52	41,60	1,06	0,34	32,08	1,27	0,25	19,69	1,36	0,41	30,15
10B	1,78	0,65	36,52	2,03	0,70	34,48	1,49	0,74	49,66	1,79	0,66	36,87	1,51	0,49	32,45

a – Área do Ligamento suspensório do boleto (cm²)

L – Área da lesão no Ligamento suspensório do boleto (cm²)

% - Porcentagem de lesão do Ligamento suspensório do boleto

S – Semana do experimento

A – Membros Tratados TOC

B – Membros Controle

TABELA 12: Valores das graduações de claudicação dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), observados ao exame clínico nos diferentes momentos analisados: início do experimento (S0), com uma (S 1), duas (S 2), três (S 3) e com quatro semanas (S 4).

semana	membro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	média	desvio padrão
S 0	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
S 0	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
S 1	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
S 1	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
S 2	A	2	1	1	2	2	2	2	1	1	1,5	1,6	0,5
S 2	B	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1,3	0,5
S 3	A	1	1	1	2	1	1	1,5	1	1	1	1,2	3,0
S 3	B	1,5	1	1	1,5	1	0,5	1,5	1	0,5	0,5	1,0	2,6
S 4	A	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1,5	1,4	0,5
S 4	B	2	1	2	2	1	1	1	2	1	1	1,4	0,5
S 7	A	0,5	0	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0,4	0,2
S 7	B	1	0,5	1	1	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,7	0,2
S 10	A	0,5	0	0	0,5	0	0	0,5	0	0	0	0,2	0,2
S 10	B	0,5	0	0,5	0,5	0,5	0,5	1,5	0	0	0,5	0,5	0,4
S 12	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
S 12	B	0,5	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0,1	0,2
S 14	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
S 14	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0

S – Semana do experimento
A – Membros Tratados TOC
B – Membros Controle

TABELA 13: Valores dos escores de sensibilidade à palpação do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), observados ao exame clínico nos diferentes momentos analisados: início do experimento (S0), com uma (S 1), duas (S 2), três (S 3), quatro (S 4), sete (S 7), dez (S 10), doze (S 12) e com catorze semanas (S 14).

semana	membro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	média	desvio padrão
S 0	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000
S 0	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000
S 1	A	1	2	1	2	0	1	2	1	2	1	1,3	0,675
S 1	B	1	1	1	2	0	0	2	1	2	1	1,1	0,738
S 2	A	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0,4	0,843
S 2	B	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0,1	0,316
S 3	A	1	1	1	2	0	2	2	0	0	0	0,9	0,876
S 3	B	1	1	1	1	0	2	2	0	0	0	0,8	0,789
S 4	A	2	2	1	2	0	2	2	0	0	0	1,1	0,994
S 4	B	2	2	1	1	1	2	2	0	0	0	1,1	0,876
S 7	A	2	2	2	3	1	2	2	1	2	2	1,9	0,568
S 7	B	2	3	3	3	2	2	3	2	2	2	2,4	0,516
S 10	A	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0,3	0,483
S 10	B	1	1	1	1	0	1	2	1	0	0	0,8	0,632
S 12	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000
S 12	B	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0,2	0,422
S 14	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000
S 14	B	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0,1	0,316

S – Semana do experimento
A – Membros Tratados TOC
B – Membros Controle

TABELA 14: Valores dos escores de ecogenicidade da lesão do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), observados ao exame ultra-sonográfico nos diferentes momentos analisados: início do experimento (S0), com uma (S 1), duas (S 2), três (S 3), quatro (S 4), sete (S 7), dez (S 10), doze (S 12) e com catorze semanas (S 14).

semana	membro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	média	desvio padrão
S 0	A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,000
S 0	B	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,000
S 1	A	3	2	3	3	2	3	2	3	3	2	2,6	0,516
S 1	B	3	2	3	3	2	3	3	3	3	2	2,7	0,483
S 2	A	2	2	3	3	3	3	2	2	3	2	2,5	0,527
S 2	B	2	2	2	3	3	3	3	3	3	2	2,6	0,516
S 3	A	3	3	3	3	2	3	2	2	3	3	2,7	0,483
S 3	B	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0,000
S 4	A	3	3	3	3	2	3	2	2	3	2	2,6	0,516
S 4	B	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0,000
S 7	A	3	3	2	2	2	3	2	2	3	2	2,4	0,516
S 7	B	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0,000
S 10	A	2	2	2	3	2	2	2	3	3	2	2,3	0,483
S 10	B	3	2	3	3	2	3	3	3	2	3	2,7	0,483
S 12	A	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2,1	0,316
S 12	B	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2,6	0,516
S 14	A	2	2	2	2	1	2	2	2	3	2	2	0,471
S 14	B	2	3	3	3	3	3	2	2	2	3	2,6	0,516

S – Semana do experimento
A – Membros Tratados TOC
B – Membros Controle

TABELA 15: Valores dos escores de paralelismo das fibras da lesão do ligamento suspensório do boleto dos membros pélvicos tratado (A) e controle (B), observados ao exame ultra-sonográfico nos diferentes momentos analisados: início do experimento (S0), com uma (S 1), duas (S 2), três (S 3), quatro (S 4), sete (S 7), dez (S 10), doze (S 12) e com catorze semanas (S 14).

semana	membro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	média	desvio padrão
S 0	A	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0,000
S 0	B	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0,000
S 1	A	1	2	0	0	1	0	1	0	0	1	0,6	0,699
S 1	B	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0,5	0,527
S 2	A	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0,8	0,422
S 2	B	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0,7	0,483
S 3	A	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0,4	0,516
S 3	B	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0,5	0,527
S 4	A	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0,5	0,527
S 4	B	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0,4	0,516
S 7	A	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1,1	0,316
S 7	B	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0,5	0,527
S 10	A	2	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1,3	0,483
S 10	B	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0,8	0,422
S 12	A	2	2	2	1	2	2	2	1	1	2	1,7	0,483
S 12	B	1	2	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0,471
S 14	A	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	1,8	0,422
S 14	B	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1,1	0,316

S – Semana do experimento
A – Membros Tratados TOC
B – Membros Controle