

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ÁCIDO HIALURÔNICO
RETICULADO, PURO E OZONIZADO, NA
OSTEOARTRITE DA ARTICULAÇÃO COXOFEMORAL
DE CÃES**

JOSÉ IVALDO DE SIQUEIRA SILVA JÚNIOR

**Botucatu – SP
Fevereiro/2020**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ÁCIDO HIALURÔNICO
RETICULADO, PURO E OZONIZADO, NA
OSTEOARTRITE DA ARTICULAÇÃO COXOFEMORAL
DE CÃES**

JOSÉ IVALDO DE SIQUEIRA SILVA JÚNIOR

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Titular Sheila Canevese Rahal

Co-orientador: Prof. Dr. Ivan Felismino Charas dos Santos

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Silva Júnior, José Ivaldo de Siqueira.

Avaliação dos efeitos do ácido hialurônico reticulado, puro e ozonizado, na osteoartrite da articulação coxofemoral de cães / José Ivaldo de Siqueira Silva Júnior. - Botucatu, 2020

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Sheila Canevese Rahal

Coorientador: Ivan Felismino Charas dos Santos

Capes: 50501003

1. Cão - Doenças. 2. Osteoartrite - Tratamento. 3. Ácido hialurônico. 4. Articulações - Doenças. 5. Doenças crônicas. 6. Viscosuplementação.

Palavras-chave: Doença articular degenerativa; Dor; Tratamento; Viscosuplementação.

Nome do autor: JoséIVALDO de Siqueira Silva Júnior

TÍTULO: **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ÁCIDO HIALURÔNICO RETICULADO, PURO E OZONIZADO, NA OSTEOARTRITE DA ARTICULAÇÃO COXOFEMORAL DE CÃES**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Titular Sheila Canevese Rahal
Presidente e Orientadora
Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária
FMVZ – UNESP – BOTUCATU

Prof. Dr. Jean Guilherme Fernandes Joaquim
Membro Titular
Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária
FMVZ – UNESP - BOTUCATU

Prof^a. Dra. Neuza de Barros Marques
Membro Titular
Departamento de Medicina Veterinária – Cirurgia de Pequenos Animais
DMV – UFRPE – RECIFE

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo apoio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, ao qual agradeço.

O ato de agradecer é generoso, traz consigo um carinho e sentimento de união que me faz refletir muitas vezes e inclusive me leva ao pensamento de que sem esse sentimento não haveria harmonia, paz, trabalho e reciprocidade. Sou grato a muitas pessoas, de muitas formas e imensamente grato ao universo e suas habilidades em me guiar por caminhos que sempre me levaram onde precisei chegar. Primeiramente a Deus, que em sua infinita representatividade me concede tantas coisas boas, alegrias e enormes satisfações.

A minha família, que sempre me apoia nas decisões, nas idas e vindas, em especial minha Mãe, Maria Almeida, meu espelho, lar e sempre meu cantinho no mundo, ao meu Pai, Ivaldo Siqueira, meu exemplo de firmeza, caráter e generosidade. Meus irmãos, José Pedro e Mariana, pelo convívio, alegrias e momentos de emoção, por me deixar sempre atento ao sentimento de preocupação, pés no chão e necessidade de voltar, vocês são meu futuro. Aos meus lindos e amados sobrinhos, José Emmanuel e José Miguel, meus motivos de continuar e saber para onde quero voltar. Vocês são a luz da nossa família. A minha avó materna, Mãe Judite... QUE MULHER!! Inspiração, doçura, pilar da família e exemplo de todos os sentimentos e atos bons que eu possa citar.

Aos meus grandes e familiares amigos de longa data, Luiz Gustavo, Bruno Veríssimo, Bruno Robson, Gean Carlos, Francielly Melo, Cynthia Medeiros, Keylla Almeida meus sinceros e felizes agradecimentos por tudo, cada impulso, cada gesto; vocês são essenciais.

Aos meus amigos e minha família em Botucatu, Maria Gabriela, Maria Bruna, Maria Barbara, Alice Maciel, pela irmandade, Maria Cotô (Marina Paiva), Thais Sato, Gustavo Manea, David Martins, Jenniffer Coris, Suelen Vieira, Gabriel Barbosa e José Ricardo, Maria Jaqueline, Maria Luciane Lily Abud, Vitor Yunes e Adriana Lopes, uma enorme gratidão pelo acolhimento, simplicidade, reciprocidade e afeto, foi essencial para minha estadia aconchegante nessas terras de Saci! A minha Zeninha e Juvita, minha família Pet, que tanto amo e aperto.

A todos do grande e afetuoso time de Anestesiologistas, em nome do Prof. Stélio Pacca L. Luna, Rúbia Mitali e Mayara Travalini, pelas parcerias, amizade e horas em procedimentos, minha gratidão.

A equipe de Imaginologia, em nome da Prof. Maria Jaqueline Mamprim, Fernanda Michelin e Carmel Rezende, pela parceria e participação no projeto.

A equipe do Laboratório Clínico, em nome da Profa. Regina Takahira, Adriana Lopes e Isadora Moreira, pela parceria e participação nos projetos.

Aos meus mestres orientadores:

Profa. Sheila Canevese Rahal, pelo aceite em me orientar e me guiar no universo acadêmico da pós-graduação, pela paciência, mansidão, pelo exemplo de profissional altruísta e visionário, pela dedicação a Pesquisa Científica e a nossa vida em Medicina Veterinária. Por ser essa pessoa acessível, que me compreende e ajuda na rotina dos projetos. Para mim és INCRÍVEL!

Prof. Ivan Felismino C. Santos, pelo aceite em me orientar, me acolher juntos aos demais projetos e grupo, me inserir no mundo da pesquisa científica e da pós-graduação, pelo exemplo profissional e a avidez nas descobertas e dedicação a vida acadêmica.

Prof. Jean Guilherme F. Joaquim, pela parceria e colaboração nos projetos, nas ideias e também na expansão dos meus horizontes dentro da Medicina Integrativa e Regenerativa em Medicina Veterinária.

A Profa. Neuza de Barros Marques e Profa. Tânia Alen Coutinho, Profa. Silvia Lorena e Prof. Almir Chalegre, pelo incentivo e apoio incondicional para minha vinda a Botucatu, pelas recomendações, conversas e indicações, além do exemplo de profissionalismo, e dedicação à Nossa Unidade Acadêmica de Garanhuns, UAG da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, minha eterna casa.

A todos os profissionais médicos veterinários, em nome de Luciane dos Reis Mesquita, pelas incontáveis ajudas e momentos no CEVAM, Centro Veterinário de Análise de Movimento, e fora dele, ao time de residentes da Cirurgia de Pequenos Animais, Professores e alunos da pós-graduação dos diversos setores, minha gratidão. Ao Departamento de Cirurgia e Anestesiologia de Pequenos Animais – DCAV – Unesp Botucatu.

Gratidão aos animais, pacientes do meu projeto de mestrado e aos tutores, motivos pelo qual me dedico com amor, carinho e afeição a Profissão Médica.

A Minha avó paterna, Raimunda Siqueira, *in memoriam*, por significar tanto para mim, por tudo que sou personalidade, amor e respeito aos animais e natureza. **Sempre e para sempre!!**

Sou grato a TUDO! Todos aqueles que passaram aos que ficaram e também aqueles que se foram. Sempre gosto de exemplificar minha vida e as situações através de metáforas simples e claras, geralmente utilizando comida; posso dizer hoje que minha experiência no mestrado, por mais laboriosa, e de intensa dedicação, tornou-se um fruto doce, saudável e que me brilha os olhos durante o desfrute.

GRATIDÃO!

Sumário

| | |
|---|-----|
| LISTA DE TABELAS..... | i |
| LISTA DE FIGURAS..... | iii |
| Resumo | iv |
| Abstract | v |
| CAPÍTULO 1 | 1 |
| 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA | 2 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 4 |
| 2.1 Displasia coxofemoral em cães..... | 4 |
| 2.2 Tratamentos padrões da displasia coxofemoral em cães..... | 5 |
| 2.2.1 Viscosuplementação..... | 6 |
| 2.2.2 Ozonioterapia..... | 10 |
| 3 REFERÊNCIAS | 14 |
| CAPÍTULO 2 | 19 |
| Trabalho científico: Emprego do ácido hialurônico reticulado, isolado ou associado ao gás ozônio, no tratamento da osteoartrite decorrente da displasia coxofemoral em cães..... | 20 |

Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Massa corpórea (kg) de 14 cães com osteoartrite tratados por aplicação intra-articular de ácido hialurônico (G1, n=7) ou ácido hialurônico associado com gás ozônio (G2, n=7), antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos..... 28
- Tabela 2.** Escore radiográfico das articulações coxofemorais e escore do exame ortopédico dos membros pélvicos de sete cães portadores de displasia coxofemoral, antes (M0) e aos 90 dias (M3) após o início do tratamento com ácido hialurônico intra-articular..... 29
- Tabela 3.** Escore radiográfico das articulações coxofemorais e escore do exame ortopédico dos membros pélvicos de sete cães portadores de displasia coxofemoral, antes (M0) e aos 90 dias (M3) após o início do tratamento intra-articular de ácido hialurônico associado com gás ozônio..... 30
- Tabela 4.** Valores de ângulo de Norberg de 14 cães com osteoartrite tratados por aplicação intra-articular de ácido hialurônico (G1, n=7) ou ácido hialurônico associado com gás ozônio (G2, n=7), antes (M0) e aos 90 (M3) dias após o início dos tratamentos..... 30
- Tabela 5.** Escores de claudicação em 14 cães com osteoartrite tratados com ácido hialurônico intra-articular (G1, n=7) ou ácido hialurônico intra-articular associado com gás ozônio (G2, n=7), antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos..... 31
- Tabela 6.** Valores goniométricos (°) em máxima extensão (ME) e máxima flexão (MF) das articulações coxofemorais, direita e esquerda, de 14 cães com osteoartrite tratados por aplicação intra-articular de ácido hialurônico (G1, n=7) ou ácido hialurônico associado com gás ozônio (G2, n=7), antes (M0) e aos 90 (M3) dias após o início dos tratamentos..... 34

Tabela 7. Valores da porcentagem de distribuição de peso corpóreo de 14 cães com osteoartrite tratados por aplicação intra-articular de ácido hialurônico (G1, n=7) ou ácido hialurônico associado com gás ozônio (G2, n=7), antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos..... 35

Lista de Figuras

- Figura 1.** Imagens fotográficas da aquisição do gás ozônio. (a) Equipamento gerador de ozônio modelo O&L3.0 RM. (b) Incorporação do gás ozônio ao ácido hialurônico..... 24
- Figura 2.** Imagem fotográfica da aplicação de ácido hialurônico guiada por imagem ultrassonográfica na articulação coxofemoral de cão com osteoartrite, decorrente da displasia coxofemoral, por meio de agulha 30X08 acoplada a seringa de 1 mL..... 25
- Figura 3.** Comparação dos escores de claudicação em sete cães com osteoartrite tratados com ácido hialurônico intra-articular, antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início do tratamento..... 32
- Figura 4.** Comparação dos escores de claudicação em sete cães com osteoartrite tratados com ácido hialurônico intra-articular associado com gás ozônio, antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início do tratamento..... 32
- Figura 5.** Comparação dos escores de claudicação em 14 cães com osteoartrite tratados com ácido hialurônico intra-articular (Grupo 1, n=7) ou ácido hialurônico intra-articular associado com gás ozônio (Grupo 2, n=7), antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos..... 33

SILVA JÚNIOR, J.I.S. Avaliação dos efeitos do ácido hialurônico reticulado, puro e ozonizado, na osteoartrite da articulação coxofemoral de cães. Botucatu, 2020. 54p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal – Cirurgia de Pequenos Animais) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – (FMVZ), Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

RESUMO

O estudo teve por objetivo avaliar o ácido hialurônico reticulado, puro e ozonizado, no tratamento da osteoartrite secundária à displasia coxofemoral em cães. Foram empregados 14 cães distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Grupo 1 – infiltração única intra-articular de ácido hialurônico; Grupo 2 – infiltração única intra-articular de ácido hialurônico associado ao gás ozônio. Os cães foram avaliados quanto a condição de escore corporal, escores de exame ortopédico e radiográfico das articulações coxofemorais, escores de claudicação, goniometria manual das articulações coxofemorais e análise cinética. As análises foram realizadas antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos. Não foram observadas diferenças estatísticas dos cães dentro de cada grupo, tanto para a massa corpórea como escore de condição corpórea. O escore do exame ortopédico mostrou melhora após os tratamentos, mas não ocorreram mudanças nos escores radiográficos. Também não foram detectadas diferenças estatísticas com relação à avaliação goniométrica entre momentos e entre grupos. Não foram detectadas diferenças significativas nos escores de claudicação entre os grupos. Entretanto, diferenças estatísticas foram observadas para o escore de claudicação entre momentos, sendo $M0 > M2$ e $M0 > M3$ para o Grupo 1, e $M0 > M1$, $M0 > M2$ e $M0 > M3$ para o Grupo 2. A porcentagem de mudança do pico de força vertical comparando M0 e M1 foi positiva em oito e negativa em seis membros pélvicos do Grupo 1, e positiva em 12 e negativa em dois membros pélvicos do Grupo 2. Foi possível concluir que o emprego do ácido hialurônico reticulado intra-articular, isolado e associado ao gás ozônio, em cães com osteoartrite secundária à displasia coxofemoral permitiu uma melhora estatística nos escores de claudicação, e uma mudança de porcentagem positiva do pico de força vertical em 71,43% dos membros pélvicos.

Palavras-chave: Doença articular degenerativa; Dor; Viscosuplementação; Tratamento.

SILVA JÚNIOR, J.I.S. Evaluation of the effects of pure or ozonized reticulated hyaluronic acid on hip osteoarthritis in dogs. Botucatu, 2019. 56p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal – Cirurgia de Pequenos Animais) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – (FMVZ), Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

ABSTRACT

This study aimed to evaluate pure or ozonized reticulated hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis due to hip dysplasia in dogs. Fourteen client-owned dogs were randomly assigned into two groups: Group 1 - single intra-articular injection of hyaluronic acid; Group 2 - single intra-articular infiltration injection of hyaluronic acid associated with ozone gas. Dogs were evaluated for body condition scoring, orthopedic examination and radiographic scores of the hip joints, lameness scores, goniometric measurements of the hip joints, and kinetic analysis. The evaluations were conducted immediately before treatments (M0), and at days 30 (M1), 60 (M2) and 90 (M3) after treatments. There were no significant differences in body mass and body condition scoring (5-point scale) in each group in all evaluation moments. Orthopedic examination scores showed improvement after treatments, but no change was detected in radiographic scores. No significant differences were found between groups and in each group between moments for goniometric measurements of the hip joints. No statistical differences between groups were found concerning the lameness score. There were significant differences for lameness score among moments in Group 1, being M0>M2 and M0>M3, and Group 2 in which M0>M1, M0>M2 and M0>M3. The percent change of the PFV (%BW) comparing M0 and M1 was positive in eight and negative in six hind limbs in Group 1, and positive in 12 and negative in two hind limbs in Group 2. In conclusion, the intra-articular viscosupplementation alone or associated with ozone gas showed similar effects and allowed statistical improvement of lameness scores, and positive percentage change of PFV (%BW) in 71.43% of the hind limbs.

Key words: Articular degenerative disease; Pain; Treatment Viscosupplementation

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A displasia coxofemoral é uma afecção articular biomecânica, que tem uma base hereditária poligênica, sendo a lassitude articular um dos maiores fatores de risco, com contribuição, também, dos fatores ambientais e sobrepeso (VEZZONI, 2007; HEDHAMMAR, 2007; GINJA et al. 2010; SCHACHNER e LOPEZ, 2015). O tratamento a ser instituído depende da gravidade e do período da identificação da lesão (SCHACHNER e LOPEZ, 2015; DeCAMP et al., 2016). Existem procedimentos cirúrgicos empregados para melhorar a congruência articular, ou os paliativos, quando a doença osteoartrítica já estiver instalada (VEZZONI, 2007; GINJA et al. 2010; SCHACHNER e LOPEZ, 2015; DeCAMP et al., 2016). Há também os tratamentos conservativos que incluem o controle de massa corpórea, fisioterapia, restrição de atividade física, administração de suplementos condroprotetores, acupuntura e medicina regenerativa (ARNBJERG, 1999; VEZZONI, 2007; KIRKBY e LEWIS, 2011; SCHACHNER e LOPEZ, 2015; DeCAMP et al., 2016), entre outros

A viscosuplementação é uma modalidade de tratamento pouco estudada no tratamento ou prevenção da osteoartrite naturalmente adquirida em cães (NGANVONGPANIT et al., 2013; CARAPEBA et al., 2016). A mesma consiste em infiltrar o ácido hialurônico exógeno ou derivados do ácido hialurônico intra-articular, com o objetivo de diminuir a dor e melhorar a mobilidade articular (BEKEROM et al., 2006; REZENDE e CAMPOS, 2012; LEGRÉ-BOYER, 2015). Os efeitos terapêuticos do ácido hialurônico incluem a restauração das propriedades elásticas e viscosas do líquido sinovial, ação anti-inflamatória, ação anti-nociceptiva e a manutenção da síntese de ácido hialurônico pelos sinoviócitos (BEKEROM et al., 2006). As divergências em relação ao uso da viscoestimulação em pacientes humanos estão relacionadas ao tipo de fármaco utilizado, número de aplicações, técnica de aplicação, forma

de avaliação e pela heterogeneidade dos casos de osteoartrite (LEGRÉ-BOYER, 2015).

O gás ozônio sob condições controladas pode ser terapêutico, desencadeando uma cascata de compostos químicos que atuam em múltiplos alvos celulares (BOCCI, 2007). Estudos e relatos do seu uso em medicina humana tem sido demonstrado resultados positivos no tratamento de doenças infecciosas e isquêmicas, na cicatrização de feridas e em casos de osteoartrite, entre outros (Di PAOLO et al., 2004; BOCCI, 2007; BOCCI et al., 2011). Na osteoartrite do joelho em pacientes humanos, o ozônio atua diminuindo o processo degenerativo e melhorando a amplitude articular, além de favorecer a permeabilidade celular e diminuir a efusão articular, sendo considerado seguro e barato (FERNANDEZ-CUADROS, 2016).

Desde que estudos com viscosuplementação e/ou ozonioterapia em casos ortopédicos são ainda pouco explorados em cães (NGANVONGPANIT et al., 2013; CARAPEBA et al., 2016), a presente pesquisa avaliou de forma prospectiva cães portadores de displasia coxofemoral, como doença osteoartítica, tratados com estas modalidades terapêuticas. Foram assim estabelecidos dois capítulos, sendo um referente à Introdução e Revisão da Literatura e outro apresentado a pesquisa propriamente dita.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Displasia coxofemoral em cães

A displasia coxofemoral é uma das mais comuns doenças ortopédicas em cães, a despeito de vários programas de controle racial (GINJA et al., 2010). Trata-se de doença biomecânica, relacionada ao desenvolvimento anormal das articulações coxofemorais, que se inicia após o nascimento e progride durante a vida, ou cessa a progressão devido ao estabelecimento de fibrose e osteoartrose (ARNBJERG, 1999). A doença tem uma base hereditária poligênica, sendo a lassitude articular um dos maiores fatores de risco, com contribuição também dos fatores ambientais e alimentares (VEZZONI, 2007; HEDHAMMAR, 2007; GINJA et al. 2010; SCHACHNER e LOPEZ, 2015).

Há uma maior prevalência em cães de grande porte, braquiocefálicos, bem como naqueles com alta proporção de comprimento corpóreo e altura (SCHACHNER e LOPEZ, 2015). O diagnóstico clínico é efetuado pelo histórico, sinais clínicos, palpação articular e forma anormal de locomoção, que varia conforme a idade de apresentação, podendo o cão mostrar dificuldade de subir e descer escadas, andar de coelho quando corre, dificuldade de se levantar, andar rígido, claudicação uni ou bilateral, entre outros (ARNBJERG, 1999; DeCAMP et al., 2016).

A confirmação do diagnóstico requer, no entanto, o uso de métodos de imagens, sendo o exame radiográfico por esquema de escore subjetivo, como o determinado pela OFA (Orthopedic Foundation for Animals), um dos mais utilizados (ADAMS, 2000; FLÜCKIGER, 2007b). Para o laudo oficial da displasia coxofemoral, o cão precisa ser avaliado por exame radiográfico com no mínimo um ano de idade em locais como Austrália, Europa e Reino Unido, ou dois anos idade no caso dos Estados Unidos (FLÜCKIGER, 2007a) e Brasil. Deve-se ainda

considerar que a severidade do sinal radiográfico não corresponde muitas vezes a severidade dos achados clínicos e que aproximadamente 25% dos cães podem também ter lesões da coluna vertebral (ARNBJERG, 1999; SCHACHNER e LOPEZ, 2015).

2.2 Tratamentos padrões da displasia coxofemoral em cães

A meta do tratamento da displasia coxofemoral é a redução da dor, com o estabelecimento de uma locomoção o mais próximo possível do normal e com capacidade de suporte de peso (ARNBJERG, 1999). Na dependência da época da identificação da lesão, algumas técnicas cirúrgicas podem ser utilizadas para melhorar a congruência articular, tais como a sinfisiodesse, a osteotomia tripla ou dupla da bacia, e a artroplastia, em cães ainda jovens (VEZZONI, 2007; GINJA et al. 2010; SCHACHNER e LOPEZ, 2015; DeCAMP et al., 2016).

No animal adulto uma vez que a doença osteoartrítica já estiver instalada são necessários outros tipos de tratamentos cirúrgicos (denervação, prótese total da cabeça do fêmur, excisão da cabeça e colo femoral), ou o uso de tratamentos conservativos (emagrecimento, tratamentos fisioterápicos, mudanças de ambiente, restrição de atividade, medicamentos, suplementos, acupuntura, medicina regenerativa), sendo a opção determinada pelas condições ambientais e de saúde geral, temperamento do animal, condições financeiras do proprietário e presença de demais comorbidades (ARNBJERG, 1999; VEZZONI, 2007; SCHACHNER e LOPEZ, 2015).

Entre os medicamentos e suplementos, podem ser citados o emprego de anti-inflamatórios não esteroidais, analgésicos, antioxidantes e condroprotetores (ARNBJERG, 1999; KIRKBY e LEWIS, 2011). O exato mecanismo das drogas anti-inflamatórias no alívio dos sinais da osteoartrite não está completamente compreendido, mas acredita-se que o mais significativo seja a inibição das prostaglandinas (ARNBJERG, 1999). O uso prolongado de anti-inflamatórios não esteroidais não é recomendado pelo potencial de lesões gastrointestinais, mesmo com os inibidores de COX-2 (DeCAMP et al., 2016).

Entre os indicados para o tratamento da osteoartrite em cães podem ser citados: firoxibe, deracoxibe, carprofeno, meloxicam, e aspirina tamponada (MORISHIN FILHO e RAHAL, 2008; DeCAMP et al., 2016). Contudo, a efetividade do fármaco pode mostrar variação individual (DeCAMP et al., 2016).

2.2.1 Viscosuplementação

Outra modalidade de tratamento ainda pouca explorada no tratamento ou prevenção da osteoartrite naturalmente adquirida em cães é a viscosuplementação (NGANVONGPANIT et al., 2013; CARAPEBA et al., 2016). A viscosuplementação consiste em aplicar ácido hialurônico exógeno, ou derivados do ácido hialurônico, por via intra-articular, com o objetivo de diminuir a dor e melhorar a mobilidade articular (BEKEROM et al., 2006; REZENDE e CAMPOS, 2012; LEGRÉ-BOYER, 2015). O ácido hialurônico é classificado como glicosaminoglicano, cujas moléculas de alto peso molecular se entrelaçam e formam uma solução de alta viscosidade (REZENDE e CAMPOS, 2012). Na articulação normal o ácido hialurônico é responsável por proporcionar a função viscosa e elástica do líquido sinovial, porém na articulação com osteoartrite a concentração e o peso molecular estão diminuídos (BEKEROM et al., 2006). Com a viscoelasticidade diminuída do líquido sinovial há uma maior susceptibilidade do desenvolvimento de lesões por sobrecarga na cartilagem (REZENDE et al., 2000).

Há pelo menos quatro mecanismos relacionados aos efeitos terapêuticos do ácido hialurônico: restauração das propriedades elásticas e viscosa do líquido sinovial; efeitos anti-inflamatórios; efeito anti-nociceptivos; e normalização da síntese de ácido hialurônico pelos sinoviócitos (BEKEROM et al., 2006). Em pacientes humanos, a injeção, especialmente no joelho, geralmente é bem tolerada e segura, sendo realizada ambulatoriamente; contudo, efeitos adversos como derrame, artralgia e calor têm sido citados em alguns pacientes (BEKEROM et al., 2006; REZENDE e CAMPOS, 2012; LEGRÉ-BOYER, 2015; BOWMAN et al., 2018). Há citações que o tratamento

não proporciona alívio imediato para muitos pacientes humanos, sendo as vezes necessário em torno de 5 semanas para a total ação (BOWMAN et al., 2018).

De acordo com Rezende e Campos (2012), existem vários produtos no mercado com características diferentes. Há aqueles de origem aviária e os de origem não aviária ou fermentados por bactérias. Com relação à síntese, existem os hialuronanos com cadeias de moléculas longas extraídas da crista do galo, ou por biofermentação, e os hialanos com molécula de hialuronano quimicamente modificada por meio de ligações cruzadas. Há também preparações com adjuvantes (manitol, sorbitol, sulfato de condroitina), reticulados ou não, com o intuito de prolongar a ação, embora isso não esteja claramente demonstrado (LEGRÉ-BOYER, 2015).

Petrella et al. (2010) ao compararem a eficácia e a segurança do ácido hialurônico de origem aviária (Synvisc) com o de origem não aviária (Suplasyn) em pacientes humanos com osteoartrite do joelho, aplicados 1 vez por semana em três semanas consecutivas, observaram maior número de efeitos adversos com ácido hialurônico de origem aviária. Os efeitos adversos incluíram dor, efusão e eritema.

Embora controverso, parece que o peso molecular, a concentração e a presença de ligações cruzadas podem influenciar de forma positiva nos resultados da viscosuplementação (REZENDE e CAMPOS, 2012). A dose depende da forma do ácido hialurônico (reticulado ou não) e a capacidade da articulação (LEGRÉ-BOYER, 2015). O Hylan G-F 20 permite aplicação única (três ampolas de Synvisc Classic® ou uma ampola de Synvisc One®), ao passo que os hialuronanos requerem aplicação semanal, por três a cinco semanas (REZENDE e CAMPOS, 2012).

Os estudos de meta-análise com relação à efetividade da viscoestimulação, principalmente no tratamento da osteoartrite do joelho em pacientes humanos são muito variáveis, com alguns recomendando (BELLAMY et al., 2006; LEGRÉ-BOYER, 2015) e outros questionando a validade (RICHETTE et al., 2009; AMMAR et al., 2015). Naqueles que indicam a utilização é citado que a viscoestimulação tem demonstrado eficácia significativa (20%) em relação ao placebo em termos de dor e função, permitindo a redução da administração de opióides analgésico e anti-inflamatórios não esteroidais

(LEGRÉ-BOYER, 2015). Além disso, foi observado que o emprego do ácido hialurônico em pacientes humanos com osteoartrite do joelho tem permitido um retardo na cirurgia de prótese articular, em uma relação dose-resposta (ALTMAN et al., 2015). As divergências nas recomendações provavelmente têm relação com o tipo de medicamento utilizado, número de aplicações, técnica de aplicação, forma de avaliação e pela heterogeneidade dos casos de osteoartrite (AMMAR et al., 2015; LEGRÉ-BOYER, 2015). Foi também referido que uma das potenciais razões da variabilidade dos efeitos dos tratamentos seria os níveis de hialuronidases (enzimas que degradam o ácido hialurônico) no fluído sinovial dos pacientes (BOWMAN et al., 2018).

Henrotin et al. (2015) conduziram um consenso relativo ao emprego da viscosuplementação com ácido hialurônico no manejo da osteoartrite em pacientes humanos, a partir do qual foram determinadas algumas diretrizes, tais como: a viscosuplementação foi considerada efetiva nas osteoartrites de classificação média a moderada do joelho; não deve ser indicada nos casos avançados de osteoartrite da articulação do coxal; não deve ser indicada apenas em pacientes que não mais respondem aos analgésicos e anti-inflamatórios; a reticulação é uma forma comprovada para prolongar o tempo de permanência intra-articular do produto, entre outras.

Henrotin et al. (2017) avaliaram o efeito de um composto do ácido hialurônico reticulado, em pacientes humanos sintomáticos com osteoartrite do joelho. Foi aplicada uma única injeção de ácido hialurônico reticulado com manitol, que foi comparada a um grupo que recebeu solução salina. Não ocorreram diferenças significativas entre grupos relativos à função e à dor, mas foi possível demonstrar que o uso do ácido hialurônico diminuiu significativamente o marcador de catabolismo de cartilagem (Coll2-1).

Em estudo de revisão relativo à viscosuplementação com ácido hialurônico na osteoartrite do coxal em pacientes humanos, Abate et al. (2008) citaram a importância de a infiltração ser efetuada de forma guiada por ultrassom ou por fluoroscopia, que além de permitirem a correta inserção da agulha também possibilitam a realização da lavagem articular. Segundo os autores, a viscosuplementação é recomendada nos casos em que anti-inflamatórios não esteroidais são contraindicados ou pouco tolerados, ou mesmo quando são

ineficientes, além dos casos de pacientes jovens. A dor parece ser reduzida dentro de três meses e o efeito pode ser mantido por mais tempo (12-18 meses).

Com relação aos cães os resultados das pesquisas são também contraditórios, especialmente nos com lesões experimentais, como apresentados abaixo.

Por meio de avaliações bioquímicas, Smith Jr. et al. (2001) avaliaram o efeito da aplicação intra-articular de ácido hialurônico ($1,5 \times 10^6$ Da) adicionado de solução salina (10 mg/0,67 ml) na modificação do líquido sinovial do joelho de cães (n=30) com osteoartrite induzida pela ruptura do ligamento cruzado cranial. Os resultados demonstraram que o uso de ácido hialurônico não alterou o volume do fluído sinovial, ou o peso molecular do ácido hialurônicos no fluído sinovial dos joelhos com osteoartrite. Os autores concluíram que as aplicações da medicação intra-articular utilizada não restauraram as características do ácido hialurônico da articulação natural dos cães.

Smith Jr. et al. (2005) promoveram osteoartrite no joelho de cães (n=30) por meio da transecção do ligamento cruzado cranial e testaram o ácido hialurônico intra-articular ($0,5-0,73 \times 10^6$ Da; Hyalgan®) como tratamento profilático (cinco aplicações semanais de 1 ml juntamente com salina), que foi iniciado após a ruptura do cruzado, bem como o efeito terapêutico no qual o produto foi aplicado após a presença das mudanças osteoartíticas. Segundo os autores, o produto não alterou a progressão da osteoartrite e não promoveu mudança de carga do membro instável pela avaliação na plataforma de força.

Sagliyan et al. (2009) analisaram o uso do ácido hialurônico com enxerto esponjoso autógeno no tratamento de defeitos osteocondrais (10 mm) induzidos no joelho de cães. Os defeitos foram induzidos em ambos os joelhos, sendo que o direito recebeu enxerto e o esquerdo enxerto e ácido hialurônico. Foi empregado 2 mg/kg de ácido hialurônico intra-articular imediatamente ao procedimento cirúrgico e 1 mês após. Pelas avaliações macroscópicas e histopatológicas, no terceiro e sexto meses pós-operatórios, o grupo que recebeu o ácido hialurônico recuperou rapidamente comparado ao grupo controle.

Hellström et al. (2003) empregaram dois tratamentos na artrite em uma articulação (ombro, cotovelo, carpo, joelho e tarso) de 36 cães: hialuronato

sódio de alto peso molecular (Hylartil - 4,000,000) aplicado por duas injeções articulares (3 a 18 mg) com intervalo de três semanas, ou 2mg/kg de carprofeno por via oral, duas vezes por dia, por quatro semanas. Com três semanas não ocorreu diferença entre os grupos, com um terço dos casos completamente recuperado e o restante com melhora significativa. Com seis semanas, o grupo com o hialuronato sódio foi significativamente melhor (58% totalmente recuperado e 10% sem melhora) que o grupo controle. Conforme os autores, o efeito de uma ou três injeções de hialuronato dura em torno de 6 a 12 meses.

Cães com osteoartrite devido à displasia coxofemoral foram avaliados por Carapeba et al. (2016), sendo que um grupo (n=8) recebeu ácido hialurônico (5-10 mg) e o outro (n=8) injeção de solução salina (0,5-1,0 mL) em combinação com tratamento conservativo convencional (nutracêutico oral e carprofeno). O máximo período de acompanhamento foi de 90 dias. Ambos protocolos reduziram os sinais clínicos da afecção, porém os resultados foram mais evidentes com o ácido hialurônico.

Nganvongpan et al. (2013) utilizaram 31 cães com luxação patelar de graus 2 e 3, que foram operados e receberam os seguintes tratamentos: G1 – articulação operada recebeu hialuronato de sódio intra-articular; G2 – recebeu duas aplicações de ácido hialurônico, uma após a cirurgia e outra com 1 semana após o procedimento; G3 – não recebeu injeção. Houve melhora clínica na avaliação ao final de 4 semanas em G1 e G2 comparado ao G3, mas não ocorreram diferenças entre G1 e G2.

2.2.2 Ozonioterapia

O gás ozônio foi descoberto em meados do século XIX, sendo uma molécula formada de três átomos de oxigênio em uma estrutura dinamicamente instável, incolor e com odor acre (Di PAOLO et al., 2004). É considerado um gás reativo, podendo ser tóxico principalmente ao sistema respiratório quando inalado diretamente (Di PAOLO et al., 2004; BOCCI, 2007). Contudo, sob condições controladas pode ser terapêutico, desencadeando uma cascata de compostos químicos que atuam em múltiplos alvos celulares (BOCCI, 2007). Em

medicina humana tem sido obtido bons resultados para doenças infecciosas e isquêmicas, na cicatrização de feridas, em casos de osteoartrite, entre outros (Di PAOLO et al., 2004; BOCCI, 2007; BOCCI et al., 2011).

O ozônio é caracterizado pela versatilidade e várias formas de administração, entre as quais podem ser citadas a auto-hemoterapia, por insuflação retal, pela exposição corporal quase total, por aplicação tópica de óleo ozonizado e pela via intra-articular (Di PAOLO et al., 2004; BOCCI et al., 2011). Segundo Bocci et al. (2011), embora o ozônio possa ser administrado com grande flexibilidade, nunca deve ser injetado diretamente como mistura gasosa nos vasos sanguíneos, devido ao risco de provocar embolismo.

De acordo com Fernandez-Cuadros (2016), o ozônio não é uma droga homeopática e tem propriedades relação dose/efeito. A dose de ozônio total é equivalente ao volume de gás (ml) multiplicado pela concentração de ozônio (ug/ml). A janela terapêutica está entre 10-80 ug/ml, porém a dose adequada para diferentes aplicações médicas precisa ser ainda estabelecida.

Mishra et al. (2011) realizaram estudo prospectivo com pacientes humanos com osteoartrite do joelho, que foram tratados com ozônio intra-articular aplicado 1 vez por mês por 3 meses, ou por injeção de metilprednisolona. Aqueles em que a metilprednisolona falhou foi realizada uma aplicação de ozônio. Foi observada melhor resposta do grupo tratado com ozônio em relação ao alívio da dor, da incapacidade e rigidez em comparação com o grupo que fez uso de metilprednisolona.

Segundo Fernandez-Cuadros et al. (2016), na osteoartrite do joelho em pacientes humanos, o ozônio diminui o processo degenerativo e melhora a amplitude articular, bem como melhora a permeabilidade celular e diminui a efusão articular, sendo considerado seguro e baixo custo. Além disso, afirmaram que o ozônio tem a capacidade de inibir as citocinas inflamatórias, metaloproteinases, óxido nítrico, mas também estimular as citocinas anti-inflamatórias, fatores de crescimento, condrócitos e células tronco.

Pacientes humanos (n=42) com osteoartrite crônica do joelho foram incluídos em estudo prospectivo, por Invernizzi et al. (2017), que compararam a terapia intra-articular com ozônio ou ácido hialurônico (500,000-730,000 Da), aplicada 1 vez por semana por 4 semanas, com avaliação por mais

4 semanas. Os autores concluíram que ambos tratamentos são comparáveis em termos de segurança e melhoria da qualidade de vida, porém o ácido hialurônico mostrou períodos mais longos de redução da dor.

Lopes de Jesus (2017) analisaram a efetividade da injeção de ozônio na osteoartrite do joelho de pacientes humanos (n=98), que foram divididos em dois grupos: placebo e aqueles que receberam 20 µg/ml de ozônio por 8 semanas. O grupo que recebeu ozônio apresentou alívio da dor, melhora funcional e melhora da qualidade de vida. Segundo os autores, a principal limitação do estudo foi a não realização de exames de imagem para avaliar a evolução dos tratamentos.

Um total de 102 pacientes com osteoartrite do joelho, média-moderada ou moderada, foram divididos para avaliação, por Duymus et al. (2017), em três protocolos aplicados intra-articular: G1 – duas doses de plasma rico em plaqueta; G2 – única dose de ácido hialurônico, G3 – quatro doses de ozônio. O plasma rico em plaqueta foi superior aos outros dois tratamentos, sendo efetivo em alcançar no mínimo 12 meses de atividades diárias livres de dor.

Anzolin e Bertol (2018) afirmaram, baseado em estudo de meta análise, que a ozonioterapia aplicada por via intra-articular, ou mesmo retal, tem potencial para proporcionar benefícios clínicos na osteoartrite em pacientes humanos, visando o efeito analgésico, alívio de dor, rigidez e incapacidade física, promovendo redução da inflamação articular e melhora da qualidade de vida. Nos estudos as concentrações de ozônio variaram de 20µg/mL a 15g/mL, com frequência de 1 a 3 vezes por semana, com tratamento mais comumente entre 3 e 4 meses.

Arias-Vázquez et al. (2019) realizaram estudo de meta análise sobre a efetividade da ozonioterapia no manejo da dor em pacientes humanos com osteoartrite do joelho. A ozonioterapia apresentou efeito terapêutico comparada ao placebo, ou outros tratamentos não invasivos, porém não houve efeito comparado ao uso de ácido hialurônico ou plasma rico em plaquetas. Segundo os autores, a infiltração intra-articular de ozônio pode ser como opção para o manejo da dor, com efeitos a curto prazo, ou seja, pico com 1 mês e declínio após 3 a 6 meses de tratamento.

3 REFERÊNCIAS

- ABATE, M.; PELOTTI, P.; AMICIS, D.; IORIO, A.; GALLETTI, S.; SALINI, V. Viscosupplementation with hyaluronic acid in hip osteoarthritis (a review). *Upsala J. Med. Sci.*, v.113, n.3, p.261–178, 2008.
- ADAMS, W.M. Radiographic diagnosis of hip dysplasia in the young dog. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, v.30, n.2, p.267-280, 2000.
- ALTMAN, R.; LIM, S.; STEEN, R.G.; DASA, V. *PLoS One*, v.10, n.12:e0145776, p.1-13, 2015.
- ANZOLIN, A.P.; BERTOL, C.D. Ozone therapy as an integrating therapeutic in osteoarthrosis treatment: a systematic review. *Br. J. P.*, v.1, n.2, p.171-175, 2018.
- AMMAR, T.Y.; PEREIRA, T.A.P.; MISTURA, S.L.L.; KUHN, A.; SAGGIN, J.I.; LOPES JÚNIOR, O.V. Viscosupplementation for treating knee osteoarthrosis: review of the literature. *Rev. Bras. Ortop.*, v.50, n.5, p.489–494, 2015.
- ARIAS-VÁZQUEZ, P.I.; TOVILLA-ZÁRATE, C.A.; HERNÁNDEZ-DÍAZ, Y., GONZÁLEZ-CASTRO, T.B.; JUÁREZ-ROJOP, I.E.; LÓPEZ-NARVÁEZ, M.L.; BERMUDEZ-OCAÑA, D.Y.; BARJAU-MADRÍGAL, H.A.; LEGORRETA-RAMÍREZ, G. Short-term therapeutic effects of ozone in the management of pain in knee osteoarthritis: a meta-analysis. *P.M. R.*, v.11, n.8, p.879-887, 2019.
- ARNBJERG, J. Recent information about hip dysplasia. *Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.*, v.29, n.4, p. 921- 934, 1999.
- BEKEROM, M.P.J. V.D.; MYLLE, G.; RYS, B.; MULIER, M. Viscosupplementation in symptomatic severe hip osteoarthritis: A review of the literature and report on 60 patients. *Acta Orthop Belg.*, v.72, n.5, p.560-568, 2006.
- BELLAMY, N.; CAMPBELL, J.; ROBINSON, V.; GEE, T.; BOURNE, R.; WELLS, G. Viscosupplementation for the treatment of osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst. Rev.*, v.19, n.2, 2006.

- BOCCI, C. The case for oxygen-ozone therapy. *Brit. J. Biomed. Sci.*, v.64, n.1, p.44-48, 2007.
- BOCCI, V.; ZANARDI, I.; TRAVAGLI, V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. *Med. Gas Res.*, v.1, n.1, p.62-9, 2011.
- BOWMAN, S.; AWAD, M.E.; HAMRICK, M.W.; HUNTER, M.; FULZELE, S. Recent advances in hyaluronic acid based therapy for osteoarthritis. *Clin. Transl. Med.*, v.7, n.6, p.1-11, 2018.
- CARAPEBA, G.O.L.; CAVALETI, P.; NICÁCIO, G.M.; B. BRINHOLI, R.J.; GIUFFRIDA, R.; CASSU, R.N. Intra-articular hyaluronic acid compared to traditional conservative treatment in dogs with osteoarthritis associated with hip dysplasia. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, p.1-10, 2016.
- DeCAMP, C.E.; JOHNSTON, S.A.; DÉJARDIN, L.M.; SCHAEFER, S.L. *Handbook of small animal orthopedics and fracture repair*. 5.ed. St. Louis: Elsevier, 2016. 868p.
- DI PAOLO, N.; BOCCI, V.; GAGGIOTTI, E. Ozone therapy. *Internat. J. Artif. Organs*, v.27, n.3, p.168-175, 2004.
- DUYMUS, T.M.; MUTLU, S.; DERNEK, B.; KOMUR, B.; AYDOGMUS, S.; KESIKTAS, F.N. Choice of intra-articular injection in treatment of knee osteoarthritis: platelet-rich plasma, hyaluronic acid or ozone options. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, v.25, n.2, p.485-492, 2017.
- FERNANDEZ-CUADROS, M.E.; PEREZ-MORO, O.S.; MIRÓN-CANELO, J.A. Could ozone be used as a feasible future treatment in osteoarthritis of the knee? *Divers. Equal. Health Care*; v.13, n.3, p.232-239, 2016.
- FLÜCKIGER, M. How to take and read hip joint radiographs in a structured way. *Eur. J. Companion Anim. Pract.*, v.17, n.2, p.133-134, 2007a.
- FLÜCKIGER, M. Scoring radiographs for canine Hip Dysplasia - the big three organisations in the world. *Eur. J. Companion Anim. Pract.*, v.17, n.2, p.135-140, 2007b.
- GINJA, M.M.D.; SILVESTRE, A.M.; GONZALO-ORDEN, J.M.; FERREIRA, A.J.A. Diagnosis, genetic control and preventive management of canine hip dysplasia: A review. *Vet. J.*, v.184, p.269–276, 2010.

- HEDHAMMAR, A. Canine Hip Dysplasia as influenced by genetic and environmental factors. *Eur. J. Companion Anim. Pract.*, v.17, n.2, p.141-143, 2007.
- HELLSTRÖM, L.E.; CARLSSON, C.; BOUCHER, J.F.; MICHANEK, P. Intra-articular injections with high molecular weight sodium hyaluronate as a therapy for canine arthritis. *Vet. Rec.*, v.153, n.3, p.89-90, 2003.
- HENROTIN, Y.; RAMAN, R.; RICHETTE, P.; BARD, H.; JEROSCH, J.; CONROZIER, T.; CHEVALIER, X.; MIGLIORE, A. Consensus statement on viscosupplementation with hyaluronic acid for the management of osteoarthritis. *Semin. Arthritis Rheum.*, v.45, n.2, p.140-149, 2015.
- HENROTIN, Y.; BERENBAUM, F.; CHEVALIER, X.; MARTY, M.; RICHETTE, P.; RANNOU, F. Reduction of the serum levels of a specific biomarker of cartilage degradation (Coll2-1) by hyaluronic acid (KARTILAGE® CROSS) compared to placebo in painful knee osteoarthritis patients: the Epikart study, a pilot prospective comparative randomized double blind trial. *BMC Musculoskeletal Disord.*, v.18, n.1:222, p.1-10, 2017.
- INVERNIZZI, M.; STAGNO, D.; CARDA, S.; GRANA, E.; PICELLI, A.; SMANIA, N.; CISARI, C.; BARICICH, A. Safety of intra-articular oxygen-ozone therapy compared to intra-articular sodium hyaluronate in knee osteoarthritis: a randomized single blind pilot study. *Int. J. Phys. Med. Rehabil.*, v.5, n.384, p.1-6, 2017.
- KIRKBY, K.A.; LEWIS, D.D. Canine Hip Dysplasia: reviewing the evidence for nonsurgical management. *Vet. Surg.*, v.41, p.2-9, 2011.
- LEGRÉ-BOYER. V. Viscosupplementation: techniques, indications, results. *Orthop. Traumatol. Surg. Res.*, v.101, p.S101–S108, 2015.
- LOPES DE JESUS, C.C.; SANTOS, F.C.; JESUS, L.M.O.B.; MONTEIRO, I.; SANT'ANA, M.S.S.C.; TREVISANI, V.F.M. Comparison between intra-articular ozone and placebo in the treatment of knee osteoarthritis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled study. *PLoS One*, v.12, n.7, e0179185, p.1-9, 2017.
- MISHRA, S.K.; PRAMANIK, R.; DAS, P.; DAS, P.P.; PALIT, A.K.; ROY, J.; HALDER, R.N. Role of intra-articular ozone in osteo-arthritis of knee for functional and symptomatic improvement. *IJPMR*, v.22, n.2, p.65-69, 2011.

- MORISHIN FILHO, M.M.; RAHAL, S.C. O uso de antiinflamatórios inibidores COX-2 seletivos na osteoartrite canina. *Vet. e Zootec.*, v.15, n.3, p.407-415, 2008.
- NGANVONGPANIT, K.; BURIN BOONSRI, B.; SRIPRATAK, T.; MARKMEE, P. Effects of one-time and two-time intra-articular injection of hyaluronic acid sodium salt after joint surgery in dogs. *J. Vet. Sci.*, v.14, n.2, p.215-222, 2013.
- PETRELLA, R.; COGLIANO, A., DECARIA, J. Comparison of avian and nonavian hyaluronic acid in osteoarthritis of the knee. *Orthop. Res. Ver.*, v.2, p.5–9, 2010.
- REZENDE, M.U; CAMPOS, G.C. Viscosuplementation. *Rev. Bras. Ortop.*, v.47, n.2, p.160-164, 2012.
- REZENDE, M.U.; HERNANDEZ, A.J.; CAMANHO, G.L.; AMATUZZI, M.M. Articular cartilage and osteoarthrosis. *Acta Ortop. Bras.*, v.8, n.2, p.100-104, 2000.
- RICHETTE, P.; RAVAUD, P.; CONROZIER, T.; EULLER-ZIEGLER, L.; MAZIERES, B.; MAUGARS, Y.; MULLEMAN, D.; CLERSON, P.; CHEVALIER, X. Effect of hyaluronic acid in symptomatic hip osteoarthritis. A multicenter, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.*, v.60, n.3, p.824-830, 2009.
- SAGLIYAN, A.; KARABULUT, E.; UNSALDI, E.; YAMAN, I. Evaluation of the activity of intraarticular hyaluronic acid in the repair of experimentally induced osteochondral defects of the stifle joint in dogs. *Veterinari Med.*, v.54, n.1, p.33–40, 2009.
- SCHACHNER, E.R.; LOPEZ, M.J. Diagnosis, prevention, and management of canine hip dysplasia: a review. *Vet. Med. Res. Rep.*, v.6, p.181–192, 2015.
- SMITH Jr., G.N.; MICKLER, E.A.; MYERS, S.L.; BRANDT, K.D. Effect of intraarticular hyaluronan injection on synovial fluid hyaluronan in the early stage of canine post-traumatic osteoarthritis. *J. Rheumatol.*, v.28, n.6, p.1341-1346, 2001.
- SMITH Jr., G.N.; MYERS, S.L.; BRANDT, K.D.; MICKLER, E.A.; ALBRECHT, M.E. Effect of intraarticular hyaluronan injection on vertical ground reaction force and progression of osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection. *J. Rheumatol.*, v.32, n.2, p.325-334, 2005.

VEZZONI, A. Definition and clinical diagnosis of Canine Hip Dysplasia; early diagnosis and treatment options. *Eur. J. Companion Anim. Pract.*, v.17, n.2, p.126-132, 2007.

CAPÍTULO 2

TRABALHO CIENTÍFICO

Revista a ser enviada: Frontiers of Veterinary Science

Emprego do ácido hialurônico reticulado, isolado ou associado ao gás ozônio, no tratamento da osteoartrite decorrente da displasia coxofemoral em cães

Resumo

O estudo teve por objetivo avaliar o ácido hialurônico reticulado, isolado ou associado ao gás ozônio, no tratamento da osteoartrite secundária à displasia coxofemoral em cães. Foram empregados 14 cães distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Grupo 1 – infiltração única intra-articular de ácido hialurônico; Grupo 2 – infiltração única intra-articular de ácido hialurônico associado ao gás ozônio. Cada articulação coxofemoral recebeu 0,75 mL do ácido hialurônico. O gás ozônio na concentração de 45 µg/mL foi incorporado ao ácido hialurônico por meio de insuflação. Os cães foram avaliados quanto a condição de escore corporal, escores de exame ortopédico e radiográfico das articulações coxofemorais, escores de claudicação, goniometria manual das articulações coxofemorais e análise cinética. As análises foram realizadas antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos. Não foram observadas diferenças estatísticas dos cães dentro de cada grupo, tanto para a massa corpórea como para o escore de condição corpórea (escala de cinco pontos). O escore do exame ortopédico mostrou melhora após os tratamentos, mas não ocorreram mudanças nos escores radiográficos. Também não foram detectadas diferenças estatísticas com relação à avaliação goniométrica entre momentos e entre grupos. Não foram detectadas diferenças significativas nos escores de claudicação entre os grupos. Entretanto, diferenças estatísticas foram observadas para o escore de claudicação entre momentos, sendo M0>M2 e M0>M3 para o Grupo 1, e M0>M1, M0>M2 e M0>M3 para o Grupo 2. A porcentagem de mudança do pico de força vertical (como porcentagem de peso corpóreo) comparando M0 e M1 foi positiva em oito e negativa em seis membros pélvicos do Grupo

1, e positiva em 12 e negativa em dois membros pélvicos do Grupo 2. Foi possível concluir que o emprego do ácido hialurônico reticulado intra-articular, isolado e associado ao gás ozônio, em cães com osteoartrite secundária à displasia coxofemoral permitiu uma melhora estatística nos escores de claudicação, e uma mudança de porcentagem positiva do pico de força vertical em 71,43% dos membros pélvicos.

Palavras-chave: Doença articular degenerativa, Viscosuplementação, Dor, Tratamento.

Introdução

A displasia coxofemoral é uma das mais comuns doenças ortopédicas em cães, a despeito de vários programas de controle racial (Ginja et al., 2010). Trata-se de doença biomecânica, relacionada ao desenvolvimento anormal das articulações coxofemorais, que se inicia após o nascimento e progride durante a vida, podendo mostrar certa estabilidade devido ao estabelecimento de fibrose e osteoartrose (Arnbjerg, 1999; Anderson, 2011). A meta do tratamento da displasia coxofemoral é a redução da dor, com o estabelecimento de uma locomoção o mais próximo possível do normal e com capacidade de suporte de peso, bem como a diminuição da progressão da doença (Arnbjerg, 1999; Ginja et al., 2010; Anderson, 2011; Harper, 2017).

No animal adulto e uma vez que a doença osteoartrítica já estiver instalada podem ser utilizados os tratamentos cirúrgicos (denervação, prótese da cabeça do fêmur, excisão da cabeça e colo femoral), ou o uso de tratamentos conservativos (emagrecimento, tratamentos fisioterápicos, mudanças de ambiente, restrição de atividade, medicamentos, suplementos, acupuntura, medicina regenerativa), sendo a opção determinada pelas condições ambientais e de saúde geral, temperamento do animal, condições financeiras do proprietário e presença de demais comorbidades (Arnbjerg, 1999; Vezzoni, 2007; Anderson, 2011; Kirkby e Lewis, 2012; Schachner e Lopez, 2015; Harper, 2017).

Entre os medicamentos e suplementos, podem ser citados o emprego de anti-inflamatórios não esteroidais, analgésicos, antioxidantes e condroprotetores (Arnbjerg, 1999; Kirkby e Lewis, 2012; Harper, 2017). Outra modalidade de tratamento ainda pouca explorada no tratamento ou prevenção da osteoartrite naturalmente adquirida em cães é a viscosuplementação (Hellström et al., 2003; Nganvongpanit et al., 2013; Carapeba et al., 2016). A viscosuplementação consiste em aplicar ácido hialurônico exógeno, ou

derivados do ácido hialurônico, por via intra-articular, com o objetivo de diminuir a dor e melhorar a mobilidade articular (Bekerom et al., 2006; Rezende e Campos, 2012; Legré-Boyer, 2015).

O ácido hialurônico é classificado como glicosaminoglicano, cujas moléculas de alto peso molecular se entrelaçam e formam uma solução de alta viscosidade (Rezende e Campos, 2012). Na articulação normal o ácido hialurônico é responsável por proporcionar a função viscosa e elástica do fluído sinovial, porém na articulação com osteoartrite a concentração e o peso molecular estão diminuídos (Bekerom et al., 2006; Harper, 2017). Com a viscoelasticidade diminuída do líquido sinovial há uma maior susceptibilidade do desenvolvimento de lesões por sobrecarga na cartilagem (Rezende et al., 2000). Há pelo menos quatro mecanismos relacionados aos efeitos terapêuticos do ácido hialurônico: restauração das propriedades elásticas e viscosa do líquido sinovial, efeitos anti-inflamatórios, efeito anti-nociceptivos, normalização da síntese de ácido hialurônico pelos sinoviócitos (Bekerom et al., 2006).

Por sua vez, o ozônio intra-articular tem sido empregado, em pacientes humanos com osteoartrite, com o intuito de aliviar a dor, a rigidez e a incapacidade física, de forma a promover a redução da inflamação articular e a melhora na qualidade de vida (Mishra et al., 2011; Fernandez-Cuadros et al., 2016; Invernizzi et al., 2017; Lopes de Jesus et al., 2017; Anzoli e Bertol, 2018; Arias-Vázquez et al., 2019). O mecanismo de ação não está completamente compreendido (Anzoli e Bertol, 2018), mas acredita-se que ao injetar ozônio no fluído sinovial haveria formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e produtos da oxidação dos lipídeos (LOPs) (Fernandez-Cuadros et al., 2016). Assim, na osteoartrite o ozônio seria responsável por ativar o metabolismo celular, reduzir a síntese de prostaglandinas, induzir a síntese de enzimas antioxidantes, reduzir o estresse oxidativo, além de aumentar o suprimento de oxigênio aos tecidos, promover efeito imuno-modulador e melhora da vascularização, entre outros (Fernandez-Cuadros et al., 2016; Anzoli e Bertol, 2018).

Visto que o emprego da viscosuplementação em cães com displasia coxofemoral é ainda limitado (Carapeba et al., 2016), o presente estudo teve como objetivo avaliar o ácido hialurônico reticulado, isolado e associado ao gás ozônio, no tratamento da osteoartrite secundária à displasia coxofemoral em cães. A hipótese foi que o acréscimo do gás ozônio permitiria uma melhor evolução clínica dos cães, comparado ao uso isolado do ácido hialurônico.

Material e Métodos

Animais e ambiente de experimentação

A metodologia adotada no presente trabalho foi analisada e aprovada pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil (no. CEUA – 0101/2018).

Foram utilizados 23 cães adultos, diagnosticados com osteoartrite secundária à displasia coxofemoral, provenientes da rotina do Hospital Veterinário da FMVZ, Unesp, Campus de Botucatu. Antes do início do estudo, todos os tutores foram esclarecidos sobre as etapas dos procedimentos e autorizaram a execução do experimento, mediante assinatura do termo de consentimento.

Os cães foram selecionados por meio dos sinais clínicos; exame físico, incluindo geral, ortopédico e neurológico; exames laboratoriais, tais como hemograma e exame bioquímico sérico relativo à alanina aminotransferase, ureia e creatinina; e análise radiográfica da articulação coxofemoral. O critério de inclusão foi o uso de cães portadores de displasia coxofemoral, com sinais clínicos de claudicação e dor, sem prévio tratamento cirúrgico para a afecção. Entre os critérios de exclusão foram terem sido submetidos a qualquer procedimento cirúrgico prévio não ortopédico por no mínimo seis meses, estarem recebendo qualquer tipo de medicação anti-inflamatória por até três meses, apresentarem outras afecções musculoesqueléticas e/ou neurológicas, bem como apresentarem afecção de outros sistemas.

Tratamentos

Os cães foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Grupo 1 – infiltração única intra-articular de ácido hialurônico; Grupo 2 – infiltração única intra-articular de ácido hialurônico associado ao gás ozônio.

Em todos os animais foi empregado em média 0,75 mL do ácido hialurônico, seja este isolado (8mg/gramas) (Hialurox, São Carlos, Brazil), ou associado ao gás ozônio. O gás ozônio na concentração de 45 µg/mL foi incorporado ao ácido hialurônico por meio de insuflação, utilizando agulha hipodérmica estéril (30X08). O equipamento gerador de

ozônio foi o modelo O&L3.0 RM (Ozone & Life; São José dos Campos, São Paulo, Brasil) (Figura 1).



Figura 1. Imagens fotográficas da aquisição do gás ozônio. (a) Equipamento gerador de ozônio modelo O&L3.0 RM. (b) Incorporação do gás ozônio ao ácido hialurônico.

A infiltração intra-articular foi realizada em ambas as articulações, com os cães sob anestesia geral com propofol e posicionados em decúbito lateral. Após tricotomia e antissepsia da área com clorhexidina degermante 2%, seguida de clorhexidina alcoólica, efetuou-se a infiltração guiada pela imagem ultrassonográfica (MyLab Alpha, Esaote®; Monções, São Paulo, Brasil) com o uso de agulha hipodérmica 30X08, ou mandril do cateter 22G, que foram acoplados à seringa de 1 mL. A agulha foi introduzida cranialmente ao trocanter maior e direcionada ventralmente até atingir a articulação (Figura 2).

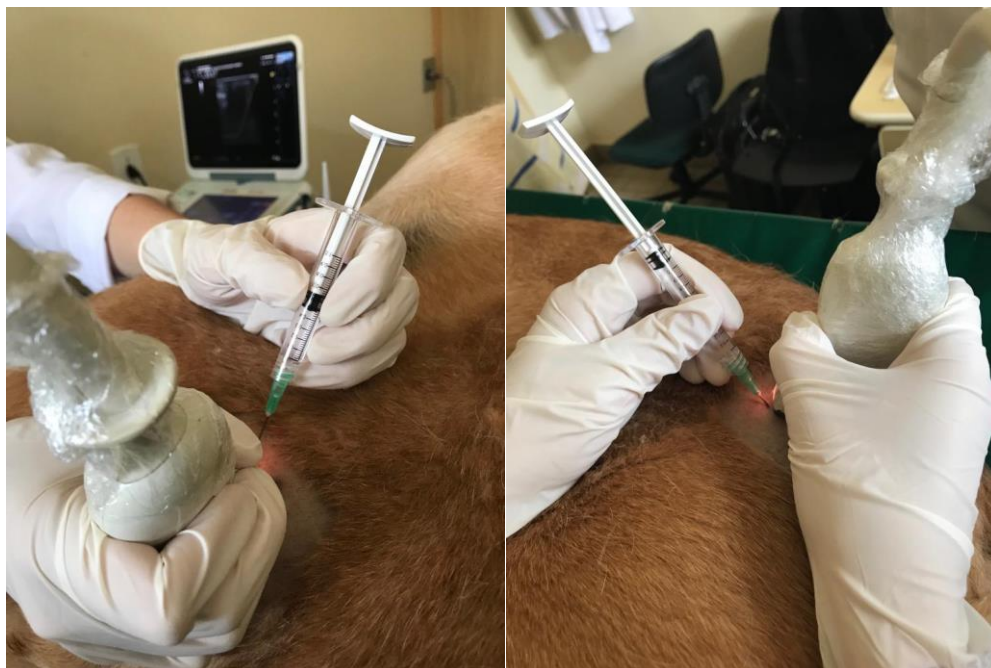


Figura 2. Imagem fotográfica da aplicação de ácido hialurônico guiada por imagem ultrassonográfica na articulação coxofemoral de cão com osteoartrite, decorrente da displasia coxofemoral, por meio de agulha 30X08 acoplada a seringa de 1 mL.

Escore de Condição Corpórea

Uma escala de cinco pontos (Baldwin et al., 2010) foi usada para estimar o escore de condição corpórea antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos.

Escores de exame ortopédico e radiográfico das articulações coxofemorais

Os escores do exame ortopédico das articulações coxofemorais, direita e esquerda, relativos aos sinais de crepitação e dor à palpação foram: 1 – ausente, 2 – leve, 3 – moderado, 4 - grave.

Para a avaliação radiográfica, após jejum alimentar de oito horas, os cães foram submetidos a medicação pré-anestésica com acepromazina (0,05 mg/kg, IM) e sulfato de morfina (0,5 mg/kg, IM), seguido da indução e manutenção anestésica com propofol (5 mg/kg, via IV). Os animais foram posicionados em decúbito dorsal com os membros pélvicos estendidos e rotacionados internamente, de modo a manter a patela no sulco troclear. Os fêmures permaneceram paralelos entre si e simétricos em relação à coluna

vertebral e à pélvis. O exame radiográfico foi realizado com o aparelho digital (GE Health, DR-F; Barueri, São Paulo, Brasil), empregando distância foco-filme de um metro, com técnica de 60 a 90 kV e 5,0 a 6,4 mAs. A análise radiográfica da displasia coxofemoral foi baseada na classificação da Orthopedic Foundation for Animals (OFA) (Flückiger, 2007), atribuindo-se valores de escores: 0 - não displásicas (excelente, bom e regular), 1 - limítrofe, 2 -leve, 3 – moderado, 4 – grave. Além disso, foi mensurado o ângulo de Norberg, com o uso do software ClearCanvas Workstation®, conforme previamente descrito (DeCamp et al., 2016). Todas as imagens foram armazenadas com o uso do programa SYNAPSE (PACS), Fujifilm no formato DICOM. As análises foram realizadas antes (M0) e 90 dias (M3) após o início dos tratamentos.

Avaliação da claudicação

Para a avaliação da claudicação foi utilizada a classificação visual por escore, baseada no relatado por Millis e Mankin (2014), como segue: 0 (normal), 1 (claudicação intermitente), 2 (claudicação óbvia com apoio de peso), 3 (claudicação grave com apoio de peso), 4 (claudicação intermitente sem apoio de peso), 5 (não uso do membro). Todos os cães foram filmados durante a locomoção ao caminhar. As avaliações foram realizadas antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos.

Goniometria manual das articulações coxofemorais

Para a realização da goniometria utilizou-se o goniômetro universal (20 cm) de material plástico (Carci® - Indústria e Comércio de Aparelhos Cirúrgicos e Ortopédicos Ltda.; São Paulo, São Paulo, Brasil), em escala com intervalo de dois graus de graduação.

A aferição goniométrica das articulações coxofemorais foi realizada em triplicata por um único avaliador experiente, com o cão posicionado em decúbito lateral, de acordo com o previamente descrito (Jaegger et al., 2002). Tendo por base o trocanter maior do fêmur, um braço do goniômetro foi posicionado em direção do tubérculo sacral para o ísquio e o outro braço foi direcionado do trocanter maior ao epicôndilo femoral lateral. Foram determinadas a máxima flexão e a máxima extensão. As mensurações foram realizadas antes (M0) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos.

Análise cinética

Após aclimatização e familiarização do cão ao ambiente e a plataforma, este foi

conduzido ao caminhar com guia e do lado direito do condutor, em linha reta sobre a plataforma de pressão (Walkway High Resolution HRV4; Tekscan Inc. South Boston, MA, USA). Após calibração do sistema, de acordo com o fabricante, foi estabelecida velocidade entre 0,9 e 1,1 m/s e aceleração entre -0,2 e 0,2 m/s². Foram registradas em torno de 15 passagens, tendo sido selecionadas cinco trilhas válidas. Considerou-se como trilha válida quando os quatro membros do cão estiveram em contato com a superfície em cada ciclo de passada, sem detecção de movimento brusco de cabeça ou tração da guia pelo condutor.

A obtenção e o processamento dos dados foram efetuados com o auxílio do software Walkway 7,0 (Tekscan). O Pico de Força Vertical (PFV) foi normalizado de acordo com o peso corpóreo e representado como uma porcentagem do peso corpóreo (%PC). A porcentagem de mudança do PFV(%PC) foi calculado com previamente descrito (Torres, 2020) pela equação: $\frac{[(\bar{x}_2)-(\bar{x}_1)]}{(\bar{x}_1)} \times 100$

As análises cinéticas foram realizadas antes (M0) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos.

Análise estatística

As análises das variáveis (massa corpórea, ângulo de Norberg, escores de claudicação, medidas goniométricas) foram realizadas com utilização de testes paramétricos e não-paramétricos, de acordo com os pressupostos de normalidade (distribuição de Gauss) e homogeneidade de variâncias. As características foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) pelo método dos quadrados mínimos utilizando os efeitos fixos grupo, momento e a interação grupo x momento. Em caso de variáveis não-paramétricas, foram utilizados os testes de Wilcoxon e Kruskal-Wallis. Toda análise estatística foi realizada com utilização de programa estatístico SAS (versão 9.3) pelos procedimentos GLM (testes paramétricos) e NPAR1WAY (testes não-paramétricos) com nível significativo inferior a 5% ($P < 0,05$).

Resultados

Dos 23 cães avaliados, apenas 14 atenderam o critério de inclusão e foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos equitativos. O Grupo 1 estava constituído de 4 cães machos e 3 fêmeas, incluindo 3 castrados e 4 inteiros; com idade média de 5,9 anos ($\pm 2,3$ anos); 3 sem raça definida, 2 da raça pastor alemão e 2 da raça dogue alemão; com massa corpórea média de 38,3 kg ($\pm 13,8$ kg). O Grupo 2 compunha-se de 3 cães machos e 4 fêmeas, sendo 6 castrados e 1 inteiro; com idade média de 6,4 anos ($\pm 2,7$ anos); 3 da raça pastor alemão, 2 sem raça definida, 1 labrador retriever e 1 rottweiler; com massa corpórea média de 33,6 kg ($\pm 12,6$ kg). Os cães foram numerados de 1 a 7 para cada Grupo.

Tanto no Grupo 1 como no Grupo 2, os cães não apresentaram sinais de complicações devido à aplicação intra-articular dos medicamentos.

Não foram detectadas diferenças estatísticas na comparação da massa corpórea entre grupos e em cada grupo entre momentos (Tabela 1). O escore de condição corpórea não foi afetado pelos tratamentos. No Grupo 1, 71,43% (n=5) dos cães tinham escore 3 e 28,57% (n=2) tinham escore 4. No Grupo 2, 42,85% dos cães tinham escore 3 (n=4) e 57,14% (n=3) tinham escore 4.

Tabela 1. Massa corpórea (kg) de 14 cães com osteoartrite tratados por aplicação intra-articular de ácido hialurônico (G1, n=7) ou ácido hialurônico associado com gás ozônio (G2, n=7), antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos.

| Grupos | Média geral | M0 | M1 | M2 | M3 |
|-----------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| G1 | 38,3 \pm 13,8 ^a | 38,1 \pm 14,6 ^a | 38,0 \pm 14,4 ^a | 38,8 \pm 14,6 ^a | 38,3 \pm 14,9 ^a |
| G2 | 33,6 \pm 12,6 ^a | 34,0 \pm 13,8 ^a | 33,5 \pm 13,5 ^a | 32,9 \pm 13,1 ^a | 34,0 \pm 13,2 ^a |

Letras minúsculas representam não ocorrência de diferenças significativas ($P < 0,05$) nas médias dos grupos e momentos avaliados.

Escores de exame ortopédico e radiográfico das articulações coxofemorais

No Grupo 1, os escores radiográficos das articulações coxofemoral direita e esquerda foram iguais em cada animal antes e após o tratamento, dos quais 57,14% apresentaram classificação severa, 28,57% moderada e 14,71% leve (Tabela 3). O escore do exame ortopédico mostrou que no membro pélvico direito, antes do tratamento, 57,14% dos cães tinham classificação moderada, 28,57% leve e 14,71% severa. Contudo, após o tratamento, a classificação foi 57,14% leve e 42,85% moderada. Em relação ao membro pélvico esquerdo, antes do tratamento, 42,85% dos cães tinha classificação moderada, 42,85% leve e 14,71% severa. Entretanto, após o tratamento, a classificação foi 71,43% leve e 28,57% moderada (Tabela 2).

Tabela 2. Escore radiográfico das articulações coxofemorais e escore do exame ortopédico dos membros pélvicos de sete cães portadores de displasia coxofemoral, antes (M0) e aos 90 dias (M3) após o início do tratamento com ácido hialurônico intra-articular.

| Grupo 1 Cão (número) | Escore radiográfico | | | | Escore exame ortopédico | | | |
|----------------------------|---------------------|----|----------------------|----|-------------------------|----|-------------------------|----|
| | Articulação Direita | | Articulação Esquerda | | Membro Pélvico Direito | | Membro Pélvico Esquerdo | |
| | M0 | M3 | M0 | M3 | M0 | M3 | M0 | M3 |
| 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 2 | 3 | 2 |
| 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 6 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 |
| 7 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 |

Escore radiográfico: 0 = ausente (excelente, bom e razoável); 1 = limítrofe; 2 = leve; 3 = moderado; 4 = severo. Escore do exame ortopédico (sinais de crepitação e dor à palpação): 1 - ausente; 2 - leve; 3 - moderado; 4 - severo.

No Grupo 2, os escores radiográficas das articulações coxofemorais direita e esquerda foram iguais em cada animal antes e após o tratamento, dos quais 57,14% mostraram classificação moderado e 42,85 leve (Tabela 4). O escore do exame ortopédico mostrou que no membro pélvico direito, antes do tratamento, 57,14% dos cães mostraram classificação moderada, 28,57% leve e 14,71% severa. No entanto, após o tratamento, a classificação foi 42,85% moderada e 57,14% leve. Em relação ao membro pélvico esquerdo, antes do tratamento, 42,85% dos cães tinha classificação moderada, 42,85%

leve e 14,71% severa. Entretanto, após o tratamento, a classificação foi 71,43% leve e 28,57% moderada (Tabela 3).

Tabela 3. Escore radiográfico das articulações coxofemorais e escore do exame ortopédico dos membros pélvicos de sete cães portadores de displasia coxofemoral, antes (M0) e aos 90 dias (M3) após o início do tratamento intra-articular de ácido hialurônico associado com gás ozônio.

| Grupo 2 Cão (número) | Escore radiográfico | | | | Escore exame ortopédico | | | |
|----------------------------|------------------------|----|-------------------------|----|---------------------------|----|----------------------------|----|
| | Articulação Direita | | Articulação Esquerda | | Membro Pélvico Direito | | Membro Pélvico Esquerdo | |
| | M0 | M3 | M0 | M3 | M0 | M3 | M0 | M3 |
| 8 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 |
| 9 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 10 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 11 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 12 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 |
| 13 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 2 | 4 | 3 |
| 14 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 |

Escore radiográfico: 0 = ausente (excelente, bom e razoável); 1 = limítrofe; 2 = leve; 3 = moderado; 4 = severo. Escore do exame ortopédico (sinais de crepitação e dor à palpação): 1 - ausente; 2 - leve; 3 - moderado; 4 - severo.

Não ocorreram diferenças estatísticas ao se comparar os valores do ângulo de Norberg antes (M0) e 90 dias (M3) após o início do tratamento, entre momentos e entre grupos (Tabela 4).

Tabela 4. Valores de ângulo de Norberg (mediana) de 14 cães com osteoartrite tratados por aplicação intra-articular de ácido hialurônico (G1, n=7) ou ácido hialurônico associado com gás ozônio (G2, n=7), antes (M0) e aos 90 (M3) dias após o início dos tratamentos.

| | M0 | M3 |
|----------------|--------|--------|
| Grupo 1 | 101,25 | 100,75 |
| Grupo 2 | 100,25 | 98,5 |

Escore de Claudicação

Não foram detectadas diferenças significativas nos escores de claudicação entre os grupos (Tabela 5). Entretanto, na avaliação entre os momentos em cada grupo, observou-se no Grupo 1 diferença significativa ao se comparar M0xM2 (P= 0,0031) e M0xM3 (P= 0,0004). No Grupo 2 ocorreram diferenças significativas entre M0xM1 (P = 0,0018), M0xM2 (P= 0,0019) e M0xM3 (P=0,0006). A evolução individual dos escores de claudicação dos cães dos Grupos 1 e 2 estão representados nas Figuras 3 e 4, respectivamente. A comparação entre Grupos está representada na Figura 5.

Tabela 5. Escores de claudicação em 14 cães com osteoartrite tratados com ácido hialurônico intra-articular (G1, n=7) ou ácido hialurônico intra-articular associado com gás ozônio (G2, n=7), antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos.

| | Mediana | Mínimo | Máximo |
|-----------------|----------------|---------------|---------------|
| Grupo G1 | | | |
| M0 | 1 | 1 | 2 |
| M1 | 1 | 0 | 2 |
| M2 | 0 | 0 | 1 |
| M3 | 0 | 0 | 1 |
| Grupo G2 | | | |
| M0 | 2 | 2 | 3 |
| M1 | 0 | 0 | 2 |
| M2 | 1 | 0 | 2 |
| M3 | 0 | 0 | 1 |

Escores de claudicação: 0 - normal; 1 - claudicação intermitente; 2 - evidente claudicação com suporte de peso; 3 - grave claudicação com suporte de peso; 4 - claudicação intermitente sem suporte de peso; 5 - sem apoio.

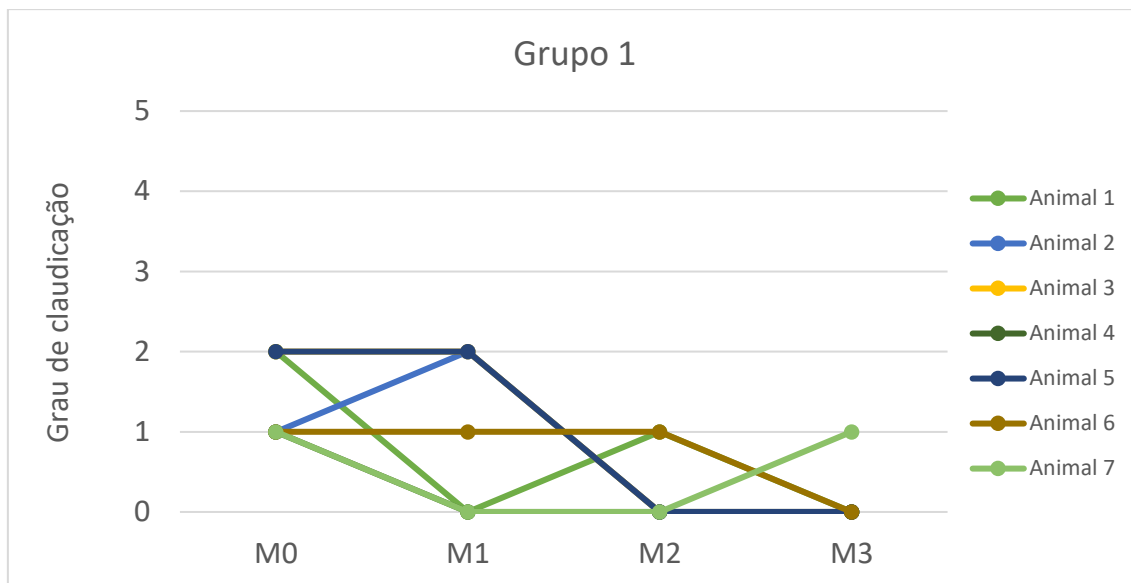


Figura 3. Comparação dos escores de claudicação em sete cães com osteoartrite tratados com ácido hialurônico intra-articular, antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início do tratamento.

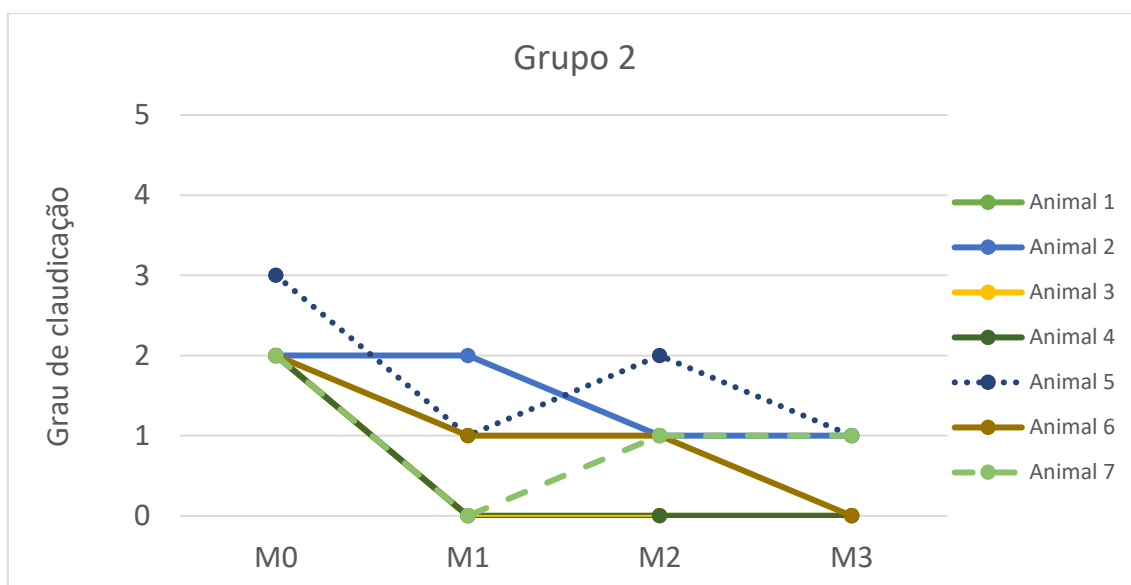


Figura 4. Comparação dos escores de claudicação em sete cães com osteoartrite tratados com ácido hialurônico intra-articular associado ao gás ozônio, antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início do tratamento.

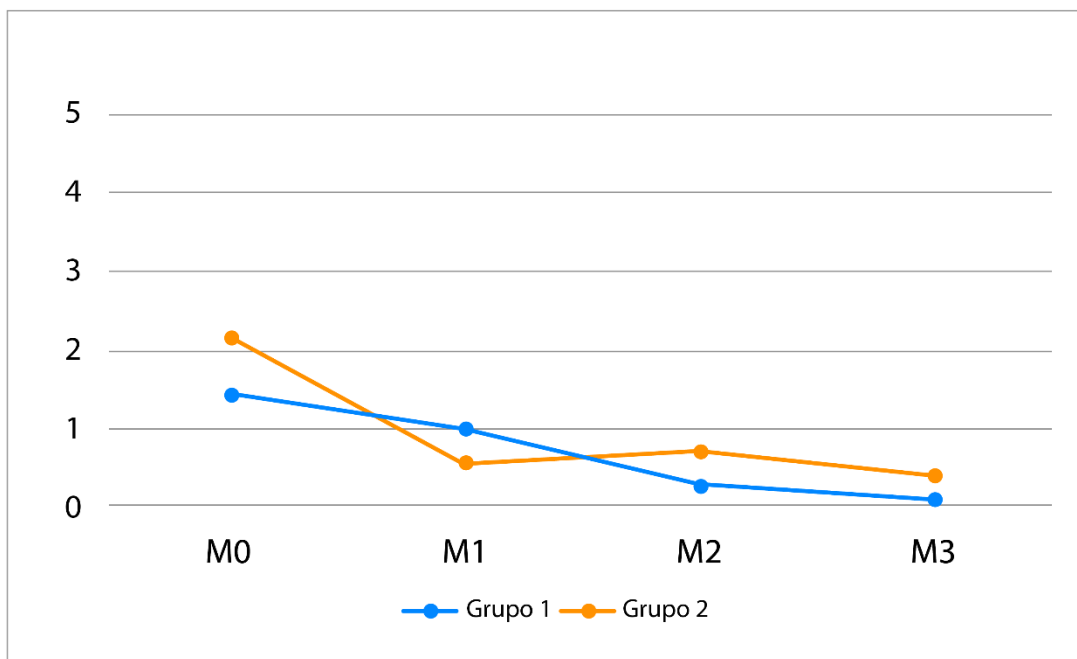


Figura 5. Comparação dos escores de claudicação em 14 cães com osteoartrite tratados com ácido hialurônico intra-articular (Grupo 1, n=7) ou ácido hialurônico intra-articular associado com gás ozônio (Grupo 2, n=7), antes (M0) e aos 30 (M1), 60 (M2) e 90 (M3) dias após o início dos tratamentos.

Goniometria das articulações coxofemorais

Não ocorreram diferenças estatísticas ao se comparar os valores goniométricos antes (M0) e 90 dias (M3) após o início do tratamento, entre momentos e entre grupos (Tabela 6).

Tabela 6. Valores goniométricos (°) em máxima extensão (ME) e máxima flexão (MF) das articulações coxofemorais, direita e esquerda, de 14 cães com osteoartrite tratados por aplicação intra-articular de ácido hialurônico (G1, n=7) ou ácido hialurônico associado com gás ozônio (G2, n=7), antes (M0) e aos 90 (M3) dias após o início dos tratamentos.

| | Mediana (n=7) | Mínimo | Máximo |
|------------------|----------------------|---------------|---------------|
| Grupo G1 | | | |
| ME direita - M0 | 88,0 | 36,66 | 102,66 |
| ME direita – M3 | 97,66 | 36,66 | 113,33 |
| ME esquerda - M0 | 82,66 | 42,0 | 108,0 |
| ME esquerda – M3 | 92,66 | 46,0 | 115,0 |
| MF direita - M0 | 66,66 | 42,66 | 83,33 |
| MF direita – M3 | 52,66 | 46,0 | 72,0 |
| MF esquerda - M0 | 65,66 | 48,0 | 118,66 |
| MF esquerda – M3 | 62,0 | 48,0 | 118,66 |
| Grupo G2 | | | |
| ME direita - M0 | 108,0 | 36,66 | 120,66 |
| ME direita – M3 | 106,33 | 102,0 | 118,66 |
| ME esquerda - M0 | 92,33 | 46,0 | 111,33 |
| ME esquerda – M3 | 102,83 | 46,0 | 112,66 |
| MF direita - M0 | 59,66 | 46,0 | 91,66 |
| MF direita – M3 | 77,5 | 46,0 | 90,66 |
| MF esquerda - M0 | 76,5 | 45,33 | 118,66 |
| MF esquerda – M3 | 84,5 | 44,66 | 118,66 |

p > 0,05

Análise cinética

A porcentagem de mudança do pico de força vertical (como porcentagem de peso corpóreo) comparando M0 e M1 foi positiva em oito e negativa em seis membros pélvicos do Grupo 1, e positiva em 12 e negativa em dois membros pélvicos do Grupo 2 (Tabela 7).

Tabela 7. Porcentagem de mudança do pico de força vertical (como porcentagem de peso corpóreo) dos membros pélvicos de 14 cães com osteoartrite tratados por aplicação intra-articular de ácido hialurônico (G1, n=7) ou ácido hialurônico associado com gás ozônio (G2, n=7), comparando antes (M0) e aos 90 (M3) dias após o início dos tratamentos.

| Cão (número) | Grupo 1 | | Grupo 2 | |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | Membro Pélvico | Membro Pélvico | Membro Pélvico | Membro Pélvico |
| | Direito | Esquerdo | Direito | Esquerdo |
| 1 | 23,89 | 24,49 | 78,69 | 60,92 |
| 2 | 12,09 | -33,09 | 42,46 | 10,98 |
| 3 | 26,78 | -18,01 | 2,55 | -19,33 |
| 4 | -16,89 | 3,33 | 5,09 | -2,18 |
| 5 | 15,47 | -4,69 | 60,51 | 32,86 |
| 6 | -30,91 | 13,33 | 23,59 | 68,53 |
| 7 | 4,08 | -1,68 | 38,86 | 32,46 |

Discussão

O presente estudo avaliou o emprego do ácido hialurônico intra-articular, isolado e associado ao gás ozônio, em cães com osteoartrite secundária à displasia coxofemoral, sendo que a hipótese de melhor evolução clínica dos cães que receberam a combinação de produtos não foi alcançada.

Em ambos os grupos, a massa corpórea média, considerando o desvio padrão, correspondeu ao de cães considerados de médio a grande porte, sendo que o pastor alemão foi a raça mais acometida (36%). Em geral, a displasia coxofemoral apresenta uma maior prevalência em cães de raças médias e grandes, braquiocefálicos, bem como naqueles com alta proporção de comprimento corpóreo e altura (Anderson, 2011; Schachner e Lopez, 2015).

O Escore de Condição Corporal mostrou que 35,71% (n = 5) dos cães foram classificados com excesso de peso. O excesso de peso contribuiu para aumento do estresse articular com consequente degradação da cartilagem (Anderson, 2011). Além disso, existe uma correlação entre obesidade e redução da habilidade para fazer exercício em cães com displasia coxofemoral (Farrell et al., 2007). Por outro lado, durante os momentos de avaliação não foram observadas diferenças estatísticas dos cães dentro de cada grupo, tanto para a massa corpórea como o escore de condição corpórea, mantendo assim a uniformidade da amostra. Deve-se considerar que somente a redução de peso pode promover melhora da claudicação clínica em cães displásicos com sobrepeso (Impellizeri et al., 2000) que, se tivesse ocorrido, poderia interferir na avaliação do atual estudo.

Pela avaliação radiográfica, em ambos os grupos, os cães mostraram escores radiográficos similares entre as articulações direita e esquerda. As alterações radiográficas muitas vezes não correspondem a severidade dos achados clínicos, sendo que aproximadamente 25% dos cães podem também ter lesões da coluna vertebral (Arnbjerg, 1999; Schachner e Lopez, 2015). No atual estudo ao se comparar em cada animal os escores radiográficos e do exame ortopédico antes dos tratamentos foi observado que no Grupo 1 em 22 membros o escore radiográfico foi mais elevado que o do escore ortopédico, ao passo que no Grupo 2 em 10 membros o escore radiográfico foi mais elevado que o do escore ortopédico.

Embora não tenha ocorrido diferenças significativas nos escores de claudicação

entre os grupos, na avaliação entre os momentos em cada grupo, foi possível verificar uma melhora do escore de claudicação com o emprego da viscosuplementação em ambos os grupos. O ácido hialurônico empregado não tem origem aviária. Um dos inconvenientes dos ácidos hialurônico de origem aviária em relação aos produzidos por fermentação bacteriana é a potencial alergênico (Bekerom et al., 2006; Rezende e Campos, 2012), porém no presente estudo não foram observadas complicações decorrentes da aplicação intra-articular em nenhum dos grupos. Vale referir que efeitos adversos como derrame, artralgia e calor têm sido citados em alguns pacientes humanos, após injeção intra-articular de ácido hialurônico no joelho (Bekerom et al., 2006; Rezende e Campos, 2012; Legré-Boyer, 2015).

Os ácidos hialurônicos têm sido diferenciados pelo peso molecular em baixo ($0,5-1 \times 10^6$ Da), intermediário ($1-1,8 \times 10^6$ Da), e alto peso molecular (6×10^6 Da) (Rezende e Campos, 2012). O produto usado no atual estudo apresenta peso molecular de $2,3 \times 10^6$ Da, segundo informação do fabricante. Há controvérsias se na aplicação *in vivo* haveria vantagens em relação aos diferentes pesos moleculares (Rezende e Campos, 2012). Contudo, o produto utilizado teoricamente tem efeito para poucos meses, diferente de produtos com ação mais prolongada. Por outro lado, por se um produto reticulado, não haveria necessidade de repetidas aplicações. Por ser a reticulação uma forma comprovada de prolongar o tempo de permanência intra-articular do ácido hialurônico (Henrotin et al., 2015), uma única dose teoricamente seria suficiente.

A melhora do escore de claudicação bem como no aumento da porcentagem da classificação de melhoria do escore do exame ortopédico, sem mudança no escore radiográfico, sugere que houve ação positiva da viscosuplementação em relação à dor. Em estudo com cães portadores de displasia coxofemoral foi também observado menores escores de dor e melhora dos sinais clínicos com uma única aplicação de ácido hialurônico (peso molecular de 500,000-730,000 D), comparado a injeção intra-articular de salina em combinação com nutracêutico oral e carprofeno (Carapeba et al., 2016). Também em estudo com cães com artrite em uma articulação (ombro, cotovelo, carpo, joelho e tarso) que foram tratados por hialuronato sódico de alto peso molecular (Hylartil - 4,000,000) aplicado por duas injeções articulares (3 a 18 mg) com intervalo de três semanas, ou 2mg/kg de carprofeno por via oral, duas vezes por dia, por quatro semanas, foi verificado que com seis semanas o grupo com o hialuronato sódico foi significativamente melhor (58% totalmente recuperado e 10% sem melhora) em relação

ao grupo que recebeu anti-inflamatório (Hellström et al., 2003). Além disso, em cães com luxação patelar tratados cirurgicamente que receberam uma injeção de hialuronato de sódio (500,000-730,000 D) intra-articular no momento do procedimento ou duas (no momento do procedimento e 1 semana após) apresentaram melhora dos escores clínicos comparado ao grupo controle, na avaliação 4 semanas após a cirurgia (Nganvongpanit et al., 2013).

Por sua vez, em estudos com ruptura induzida do ligamento cruzado cranial, não foi detectada melhora com o uso do ácido hialurônico intra-articular (Smith Jr et al.; 2001; Smith Jr et al., 2005). Em pacientes humanos há também muitas controvérsias, desde estudos que verificaram melhora após o emprego de ácido hialurônico (Bekerom et al, 2006; Bellamy et al., 2006) até os que não detectaram qualquer benefício (Richette et al., 2009). Entretanto, há que se considerar a variedade do tipo de medicamento utilizado, número de aplicações, técnica de aplicação, forma de avaliação e pela heterogeneidade dos casos de osteoartrose (Ammar et al., 2015; Legré-Boyer, 2015), fatos também presentes nos estudos clínicos (Hellström et al., 2003; Nganvongpan et al., 2013; Carapeba et al., 2016) e experimentais em cães (Smith Jr et al.; 2001; Smith Jr et al., 2005; Sagliyan et al., 2009).

Com respeito ao grupo ácido hialurônico com ozônio, a concentração do ozônio foi de 45 µg/mL. Em pacientes humanos concentrações de 20µg/mL a 30µg/ mL intra-articulares têm mostrado efeito positivo para o ozônio, porém não há dose padrão entre os estudos (Invernizzi et al., 2017; Lopes de Jesus, 2017; Anzolin e Bertol, 2018). Em geral, o ozônio tem sido aplicado sozinho em frequência de 1 a 3 vezes por semana, por 4 a 6 semanas ou mais (Mishra et al. 2011; Invernizzi et al., 2017; Fernandez-Cuadros et al., 2016; Lopes de Jesus, 2017; Anzolin e Bertol, 2018). Como no atual estudo o gás foi incluído junto com o ácido hialurônico optou-se por uma única aplicação.

Embora tenha ocorrido alteração percentual positiva do pico de força vertical (% peso corpóreo), o que indica um aumento em relação ao valor basal (Torres, 2020), em 85,71% dos membros pélvicos no Grupo 2 em comparação com 57,14% no Grupo 1, a ausência de diferença entre os dois grupos para outros parâmetros, sugeriu que uma única aplicação de ozônio pode não ser suficiente para obter melhores resultados. Vale referir um estudo comparativo com pacientes humanos com osteoartrose do joelho em que o grupo que recebeu ácido hialurônico combinado com ozônio apresentou melhor êxito do que as formas isoladas, porém as aplicações intra-articulares foram 1 vez por

semana por cinco semanas consecutivas (Giombini et al., 2016). Desta forma, outros estudos seriam necessários, inclusive com um grupo usando somente o ozônio. Como a rota intra-articular, muitas vezes requer anestesia do cão, uma opção seria a insuflação retal, como utilizado em pacientes humanos com artrite reumatoide (Fernández et al., 2016).

Conclusões

Foi possível concluir que o emprego do ácido hialurônico reticulado intra-articular, isolado e associado ao gás ozônio, em cães com osteoartrite secundária à displasia coxofemoral permitiu uma melhora estatística nos escores de claudicação, e uma mudança de porcentagem positiva do pico de força vertical em 71,43% dos membros pélvicos.

Referências

Ammar TY, Pereira TAP, Moisture SLL, Kuhn A, Saggin JI, Lopes Júnior OV. Viscosupplementation for treating knee osteoarthritis: review of the literature. *Rev Bras Ortop* 2015;50(5):489–494.

Anderson A. Treatment of hip dysplasia. *J Small Anim Pract* 2011 52(4):182-189.

Anzolin AP, Bertol CD. Ozone therapy as an integrating therapeutic in osteoarthritis treatment: a systematic review. *Br J P* 2018;1(2):171-175.

Arias-Vázquez PI, Tovilla-Zárate CA, Hernández-Díaz Y, González-Castro TB, Juárez-Rojop IE, López-Narváez ML, Bermudez-Ocaña DY, Barjau-Madrígal HA, Legorreta-Ramírez G. Short-term therapeutic effects of ozone in the management of pain in knee osteoarthritis: a meta-analysis. *PM R* 2019;11(8):879-887.

Arnbjerg J. Recent information about hip dysplasia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1999;29(4):921-934.

Baldwin K, Bartges J, Buffington T, Freeman LM, Grabow M, Legred J, Ostwald D Jr. AAHA nutritional assessment guidelines for dogs and cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 2010;46(4):285-296.

Bekerom MPJ, Mylle G, Rys B, Mulier M. Viscosupplementation in symptomatic severe hip osteoarthritis: A review of the literature and report on 60 patients. *Acta Orthop Belg* 2006;72(5):560-568.

Bellamy N, Campbell J, Robinson V, Gee T, Bourne R, Wells G. Viscosupplementation for the treatment of osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev* 2006 19;(2):CD005321

Carapeba GOL, Cavaleti P, Nicácio GM.; B. Brinholi, R.J.; Giuffrida, R.; Cassu, R.N. Intra-articular hyaluronic acid compared to traditional conservative treatment in dogs with osteoarthritis associated with hip dysplasia. *Evid Based Complement Alternat Med* 2016;1-10.

DeCamp CE, Johnston SA, Déjardin LM, Schaefer SL. *Handbook of small animal orthopedics and fracture repair*. 5th ed. St. Louis: Elsevier, 2016. 868p.

Farrell M, Clements DN, Mellor D, Gemmill T, Clarke SP, Arnott JL, Bennett D, Carmichael S. Retrospective evaluation of the long-term outcome of non-surgical management of 74 dogs with clinical hip dysplasia. *Vet Rec* 2007;160(15):506-511.

Fernandez-Cuadros ME, Perez-Moro OS, Mirón-Canelo JA. Could ozone be used as a feasible future treatment in osteoarthritis of the knee? *Divers Equal Health Care* 2016;13(3):232-239.

Fernández OSL, Viebahn-Haensler R, Cabreja GL, Espinosa IS, Matos YH, Roche LD, Santos BT, Oru GT, Polo Vega JC. Medical ozone increases methotrexate clinical response and improves cellular redox balance in patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Pharmacol* 2016;789:313-318.

Flückiger M. Scoring radiographs for canine Hip Dysplasia - the big three organisations in the world. *Eur J Companion Anim Pract* 2007;17(2):135-140.

Ginja MM, Silvestre AM, Gonzalo-Orden JM, Ferreira AJ. Diagnosis, genetic control and preventive management of canine hip dysplasia: A review. *Vet J* 2010;184(3):269-276.

Giombini A, Menotti F, Di Cesare A, Giovannangeli F, Rizzo M, Moffa S, Martinelli F. Comparison between intrarticular injection of hyaluronic acid, oxygen ozone, and the combination of both in the treatment of knee osteoarthrosis. *J Biol Regul Homeost Agents* 2016;30(2):621-625.

Harper TAM. Conservative management of hip dysplasia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017;47(4):807-821.

Hellström LE, Carlsson C, Boucher JF, Michanek P. Intra-articular injections with high molecular weight sodium hyaluronate as a therapy for canine arthritis. *Vet Rec* 2003;153(3):89-90.

Henrotin Y, Raman R, Richette P, Bard H, Jerosch J, Conrozier T, Chevalier X, Migliore A. Consensus statement on viscosupplementation with hyaluronic acid for the management of osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2015;45(2):140-149.

Impellizeri JA, Tetrack MA, Muir P. Effect of weight reduction on clinical signs of lameness in dogs with hip osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 2000;216:1089–1091.

Invernizzi M, Stagno D, Carda S, Grana E, Picelli A, Smania N, Cisari C, Baricich A. Safety of intra-articular oxygen-ozone therapy compared to intra-articular sodium hyaluronate in knee osteoarthritis: a randomized single blind pilot study. *Int J Phys Med Rehabil* 2017; 5(384):1-6.

Jaegger G, Marcellin-Little DJ, Levine D. Reliability of goniometry in Labrador Retrievers. *Am J Vet Res* 2002;63(7):979-986.

Kirkby KA, Lewis DD. Canine Hip Dysplasia: reviewing the evidence for nonsurgical management. *Vet Surg* 2012;41(1):2-9.

Legré-Boyer V. Viscosupplementation: techniques, indications, results. *Orthop Traumatol Surg Res* 2015;101(1 Suppl):S101-108.

Lopes de Jesus CC, Dos Santos FC, de Jesus LMOB, Monteiro I, Sant'Ana MSSC, Trevisani VFM. Comparison between intra-articular ozone and placebo in the treatment of knee osteoarthritis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled study. *PLoS One* 2017;12(7):e0179185.

Millis DL, Mankin J. Orthopedic and neurologic evaluation. In: Millis DL, Levine D. *Canine rehabilitation and physical therapy*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014;180-200.

Mishra SK, Pramanik R, Das P, Das PP, Palit AK, Roy J, Halder RN. Role of intra-articular ozone in osteo-arthritis of knee for functional and symptomatic improvement. *IJPMR* 2011;22(2):65-69.

Nganvongpanit K, Boonsri B, Sripratak T, Markmee P. Effects of one-time and two-time intra-articular injection of hyaluronic acid sodium salt after joint surgery in dogs. *J Vet Sci* 2013;14(2):215-222.

Rezende UM, Campos GC. Viscosupplementation. *Rev Bras Ortop* 2012;47(2):160-164.
Rezende UM, Hernandez AJ, Camanho GL, Amatuzzi MM. Articular cartilage and osteoarthritis. *Acta Ortop. Bras* 2000;8(2):100-104.

Richette P, Ravaud P, Conrozier T, Euller-Ziegler L, Mazières B, Maugars Y, Mulleman D, Clerson P, Chevalier X. Effect of hyaluronic acid in symptomatic hip osteoarthritis. A multicenter, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2009;60(3):824-830.
Schachner ER, Lopez MJ. Diagnosis, prevention, and management of canine hip dysplasia: a review. *Vet Med (Auckl)* 2015;19(6):181-192.

Sagliyan A, Karabulut E, Unsaldi E, Yaman I. Evaluation of the activity of intraarticular hyaluronic acid in the repair of experimentally induced osteochondral defects of the stifle joint in dogs. *Vet Med-Czech* 2009;54(1): 33–40.

Smith GN Jr, Mickler EA, Myers SL, Brandt KD. Effect of intraarticular hyaluronan injection on synovial fluid hyaluronan in the early stage of canine post-traumatic osteoarthritis. *J Rheumatol* 2001;28(6):1341-1346.

Smith G Jr, Myers SL, Brandt KD, Mickler EA, Albrecht ME. Effect of intraarticular hyaluronan injection on vertical ground reaction force and progression of osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection. *J Rheumatol* 2005;32(2):325-334.

Torres BT. Objective gait analysis. In: Duerr, FM. *Canine lameness*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2020;15-30.

Vezzoni A. Definition and clinical diagnosis of Canine Hip Dysplasia; early diagnosis and treatment options. *Eur J Companion Anim Pract* 2007;17(2):126-132.

ATESTADO

Atesto que o Projeto "Avaliação do ácido hialurônico isolado e associado ao gás ozônio no tratamento da displasia coxofemoral em cães." **Protocolo CEUA 0101/2018**, a ser conduzido por JOSE IVALDO DE SIQUEIRA SILVA JUNIOR, responsável/orientador SHEILA CANEVESE RAHAL, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

| | |
|--|-----------------------------------|
| Finalidade | PESQUISA CIENTÍFICA |
| Vigência do projeto | 14/05/2018 a 20/05/2020 |
| Nome Comum / Espécie / Linhagem | CANINA / CANIS LUPUS FAMILIARIS / |
| Raça | SRD e animais de raça pura |
| Nº de animais machos | 15 |
| Nº de animais fêmeas | 15 |
| Nº de animais sexo indefinido | 0 |
| Peso médio de animais machos | 16-60kg |
| Peso médio de animais fêmeas | 16-60kg |
| Peso médio de animais sexo indefinido | 0 |
| Idade | 1 ano(s) e 1 mes(es) e 1 dia(s). |
| Procedência | ROTINA DO HOSPITAL VETERINÁRIO |

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 10/05/2018



JOSÉ NICOLAU PRÓSPERO PUOLI FILHO
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu