



Novo modelo de indução de tendinite equina – Avaliação clínica e ultrassonográfica

Armando de Mattos Carvalho *¹, Ana Lucia Miluzzi Yamada², Luis Emiliano Cisneros Álvarez³, Luciana Leal Jorge⁴, Mariana Lopes da Conceição⁵, Luiz Henrique Mattos⁶, Carlos Alberto Hussni⁷, Ana Liz Garcia Alves⁸

¹ Médico Veterinário, graduado pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Araçatuba, docente da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Cuiabá (UNIC). Autor para correspondência: armandodvm@gmail.com

² Médica Veterinária, graduada pela UNESP – Botucatu. E-mail: anamyamada@fmvz.unesp.br

³ Médico Veterinário, graduado pela Universidade Nacional Autónoma do México (UNAM). E-mail: ventus80@gmail.com

⁴ Médica Veterinária, graduada pela Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: lj.medvet@gmail.com

⁵ Aluna da graduação de medicina veterinária, UNESP – Botucatu. E-mail: mariana.lconceicao@gmail.com

⁶ Médico Veterinário, graduado pela Universidade Metropolitana de Santos (UNIMES). E-mail: mvluizmattos@gmail.com

⁷ Médico Veterinário, graduado e docente pela UNESP – Botucatu. E-mail: cahussni@fmvz.unesp.br

⁸ Médica Veterinária, graduada pela Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo, docente pela UNESP – Botucatu. E-mail: anaalves@fmvz.unesp.br

Resumo: O objetivo deste estudo foi realizar a avaliação clínica e ultrassonográfica de uma metodologia de indução de tendinite do tendão flexor digital superficial (TFDS) em equinos. Foram utilizados oito equinos adultos, hígidos submetidos a indução de uma lesão realizada com suspensão de colagenase em gel, que foi administrada na região central média do TFDS com o auxílio do aparelho de ultrassom. Os animais foram acompanhados durante 15 dias pós-indução, onde foram realizados exames clínicos e ultrassonográficos. Foi evidenciada claudicação em todos os animais. Na avaliação ultrassonográfica pode ser confirmada a tendinite do TFDS. A técnica adotada para a indução experimental da tendinite em equinos demonstrou ser efetiva e poderá ser utilizada para aperfeiçoar a execução de novos estudos envolvendo o tratamento de tendinites experimentais induzidas.

Palavras-chave: colagenase, gel, lesão, tendão.

New model of equine tendinitis induction – clinical and ultrasound evaluation

Summary: The objective of this study was to evaluate clinically and ultrasonography a tendinitis new induction methodology of superficial digital flexor tendon (SDFT) in horses. Eight adult horses clinically healthy were used. The injury induction was performed with a collagenase suspension in gel, which was administered at the central SDFT medium with the use of ultrasound. The animals were followed for 15 days post-induction, where physical and ultrasound examinations were performed. Lameness was also evidenced in all animals and SFDT lesion could be confirmed by ultrasound analysis. The technique adopted for the experimental induction of tendinitis in horses proved to be effective and may be used to improve the implementation of new studies involving the treatment of experimentally induced tendinitis.

Keywords: collagenase, gel, lesion, tendon.

Autor para correspondência: * armandodvm@gmail.com

Recebido: 23/01/2015; Aceito: 28/03/2015

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20150004>

INTRODUÇÃO

A lesão tendínea ocorre com frequência em cavalos que desenvolvem atividades esportivas diversas, sendo a tendinite do flexor digital superficial (TFDS) dos membros torácicos a enfermidade musculoesquelética mais comum em cavalos de corrida. A dificuldade para indução de lesão tendínea similar à tendinite de ocorrência natural deve-se ao fato de que as lesões tendíneas são frequentemente precedidas por mudanças degenerativas na matriz extracelular, e não o resultado de um único evento de sobrecarga. Esta dificuldade metodológica, muitas vezes dificulta a interpretação das evidências experimentais em relação à eficácia do tratamento (WATTS et al., 2012), o que faz necessário o aperfeiçoamento de técnicas, a fim de se otimizar a execução de experimentos que envolvem o tratamento de tendinites induzidas experimentalmente.

Existem diversos modelos para a indução da lesão tendínea em equinos, incluindo a remoção cirúrgica de um fragmento central do tendão (SCHRAMME et al., 2010), injeção de colagenase (YAMADA et al., 2009) e injeção de gel colagenase (WATTS et al., 2012; CARVALHO et al., 2013).

Embora o modelo da colagenase apresente vantagens como o

desenvolvimento de hipercelularidade, perda da organização da matriz extracelular, aumento da vascularização e ausência de inflamação mediada por células inflamatórias no tendão induzido (DIRKS & WARDEN, 2011), esse modelo também apresenta desvantagens como o fato de as lesões enzimáticas serem extensas e irregulares, continuarem expandindo, envolver a superfície do tendão e, ocasionalmente, fracassarem no seu desenvolvimento (BIRCH et al., 1998).

O objetivo deste estudo foi descrever uma metodologia de indução de tendinite equina com a suspensão da colagenase em gel que resultasse em lesões do TFDS mais organizadas e uniformes, compatíveis com a tendinite de ocorrência natural.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados oito equinos (um macho e sete fêmeas) de raça indefinida, idade entre dois e quatro anos, peso médio de 325 Kg, sem evidências de lesões através de exames de claudicação, palpação dos tendões e avaliação ultrassonográfica. Para o uso dos animais na avaliação experimental foi necessária a aprovação pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, protocolo número 213/2008.

Para a produção do gel foi necessário a obtenção do plasma rico em fibrinogênio (PRF). Para isto, foram coletados 400 ml de sangue periférico da veia jugular de um dos cavalos, utilizando bolsa de coleta de amostra (Comploflex®, FreseniusHemoCare Brasil LTDA, Brasil). Esta foi centrifugada a 4°C, a 1200 RPM por 20 minutos, obtendo células vermelhas no precipitado e no sobrenadante, o plasma. O plasma foi imediatamente congelado a -60° C e mantido durante 24 horas. Posteriormente foi descongelado e mantido a 4° C e centrifugado a 1200 RPM por 20 minutos. Após esta etapa, o sobrenadante obtido foi descartado e a amostra do precipitado remanescente contendo o PRF foi obtida, com concentração de fibrinogênio de 198ng/dl. Tal amostra foi congelada a -20°C para uso subsequente.

A indução das lesões foi realizada na região central do TFDS em um membro torácico selecionado aleatoriamente, usando colagenase (CollagenaseType I, Gibco, USA). As injeções foram realizadas com os cavalos sob sedação com 1,0 mg/kg xilazina (Sedazine, Fort Dodge Saúde Animal, Brasil) e anestesia local com lidocaína 2% (Xylestesin, Cristália, Brasil), perineural, circundando os nervos

mediano e ulnar (10 ml por local). Também foi realizado um botão anestésico na pele com lidocaína 2% (1.0 ml por local) no local de aplicação da colagenase, seguido da anti-sepsia local utilizando água, solução degermante de iodo polivinil pirrolidona, e álcool 70%.

A fim de aperfeiçoar a administração de colagenase, nós angulamos manualmente a agulha do cateter 16G (Catéter Intravenoso, BD Angiocath, Brasil) em 45° e, assim, um defeito colunar das fibras colágenas foi criado ao colocar a agulha modificada longitudinalmente, com auxílio do ultrassom. A agulha foi inserida a partir da superfície palmar do membro através da pele e dos tecidos subcutâneos para o centro do TFDS, iniciando 10 cm distal ao osso acessório do carpo (DOAC) e então avançando distalmente seguindo o eixo longo do centro do TFDS até que a ponta da agulha estivesse em 12 cm DOAC, sendo o gel implantado entre 10-12 cm do DOAC (Figura 1). Para a preparação do gel foi realizado a suspensão da colagenase tipo I (1000 unidades) em 900 µL do PRF previamente obtido, sendo esta solução somente adicionada aos 100 µL de trombina bovina (Thrombin from bovine plasma, Sigma-Aldrich, USA) no momento da indução da lesão.

Logo após o procedimento foram realizadas bandagens nos membros torácicos induzidos e estas foram trocadas diariamente durante os sete primeiros dias. Também foi utilizada fenilbutazona (Equipalazone, Vital farma Ltda, Brasil) na dosagem 4.4 mg/kg i.v. no primeiro dia.

Os cavalos tiveram acompanhamento diário por 15 dias após

a indução da lesão. Exames de sensibilidade local à palpação e calor foram classificados e pontuados como: 0: ausência; 1: leve; 2: moderado; 3: severa. Foi realizada a perimetria na porção média do metacarpiano do TFDS. Exames de claudicação foram realizados diariamente e graduados de 0 a 5, segundo STASHAK (2006).

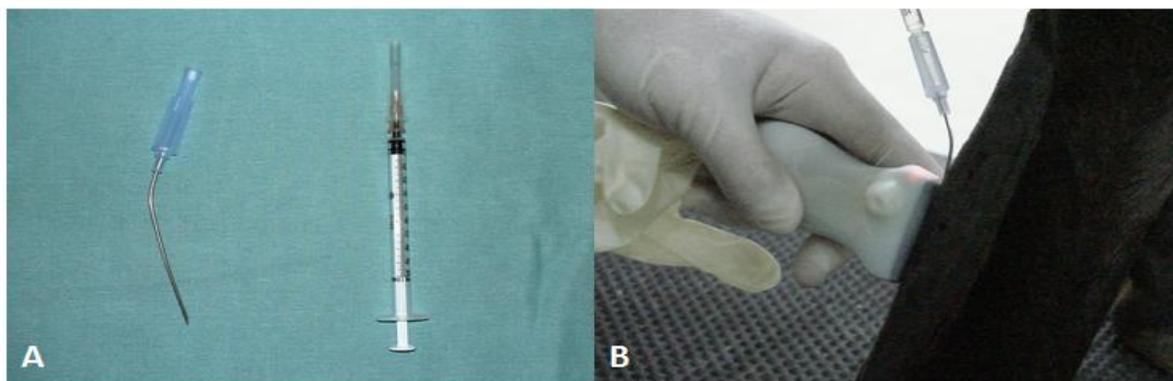


Figura 1. Indução da lesão do tendão flexor digital superficial. A) Cateter 16G manualmente angulado em 45°. B) Implante do gel de collagenase com auxílio do ultrassom.

Análises ultrassonográficas foram realizadas antes, durante e após a administração do gel de collagenase nos dias 0, 7, 10 e 14 utilizando aparelho de ultrassom com transdutor linear com frequência entre 3 a 11 MHz (My Lab 70, Esaote, Italy). Os seguintes parâmetros foram mensurados: área da lesão (AL); área do tendão (AT); porcentagem da área lesada no interior do tendão em corte transversal (%AL/AT); e ecogenicidade (ECO), graduada de 0 a 4 (GENOVESE et al., 1986). Para a análise estatística foi

realizado o teste de Wilcoxon pareado comparando os diferentes escores entre os diversos momentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os membros desenvolveram aumento de volume leve e difuso no local, e aumento de temperatura na região palmar média do metacarpo após a indução da lesão tendínea que se resolveram ao longo dos primeiros cinco dias. Nos dias restantes (6-15 dias), havia sensibilidade leve na palpação, porém os membros afetados ainda apresentavam

um aumento de volume e calor menos evidentes (Tabela 1).

Ao longo das 24h iniciais após a injeção do gel de colagenase, todos os cavalos desenvolveram claudicação variando entre os escores 1-3 (Tabela 1). Houve diferença estatística significativa no escore de claudicação entre os

diferentes momentos. Nenhum cavalo apresentou sinais de desconforto fisiológico ou claudicação com escore maior que três. Estes resultados são compatíveis com os dados relatados após a indução da lesão tendínea utilizando colagenase (YAMADA et al., 2009; WATTS et al., 2012).

Tabela 1. Média da avaliação clínica realizada nos diferentes momentos. Resultados do teste de sensibilidade local a palpação (escore 0-3), aumento de temperatura (escore 0-3), perimetria da região médio do metacarpo (circunferência em cm) e exame de claudicação (escore 0-5).

	Momento (dias)								
	0	1	2	3	4	5	7	10	15
Sensibilidade (0-3)	0	0,5	1	1	2	2	2	2	1
Temperatura (0-3)	0	1	1	1	1	2	2	1,5	1
Perimetria (cm)	17,5	17,8	17,8	17,8	18	18,1	18,4	18,6	18,4
Claudicação (0-5)	0	1	1,5	2	3	3	3	2,5	2,5

A avaliação ultrassonográfica demonstrou a formação de lesões delimitadas e hipoecóicas e mínima reação na região do epitendão. Também houve aumento gradativo estatisticamente significativo da %AL/AT (Tabela 2). A combinação dos dados clínicos e ultrassonográficos demonstram que a metodologia empregada leva ao desenvolvimento de uma lesão focal aguda similar a tendinite de ocorrência natural. Este dado é compatível com o

descrito previamente por ALVES (1998), que após a indução da tendinite utilizando colagenase descreveu a formação de lesão compatível às lesões tendíneas provocadas por excesso de exercício.

A análise da avaliação clínica demonstrou evolução progressiva até o décimo dia do experimento, com posterior melhora de todos os sinais clínicos, exceto da perimetria que continuou aumentando. Já a avaliação

ultrassonográfica mostrou maior severidade das lesões no décimo quinto dia do experimento, o que permite inferir ausência de associação entre a gravidade da lesão obtida pela avaliação ultrassonográfica com a análise clínica.

Este também foi obtido por YAMADA e colaboradores (2009), que demonstrou as vantagens da avaliação tendínea pela ultrassonografia devido à aparente não relação entre sinais clínicos com a gravidade da lesão.

Tabela 2. Mediana da avaliação ultrassonográfica realizada nos diferentes momentos. Resultado da área da lesão (AL), área do tendão (AT), porcentagem da área da lesão pela área do tendão (%AL/AT) e ecogenicidade (ECO) (escore 0-4).

Momento	AL (mm ²)	AT (mm ²)	% AL/AT	ECO (0-4)
7	5,5	76,5	7*	2
10	8,5	80	10,5*	2
15	9,5	81	12*	3

*Indica que houve diferença estatística significativa em nível de 5% (P<0,05) na coluna entre os diferentes momentos.

Acreditamos que as principais vantagens do emprego intra tendíneo da colagenase suspensa em gel seja a facilidade de sua administração sem a necessidade da anestesia geral, a criação de lesões tendíneas consistentes e o menor extravasamento da enzima no epitendão, resultando em menor reação inflamatória no peritendão e consequentemente menor probabilidade de formação de aderências.

As possíveis explicações para a manutenção do produto no local são o fato da colagenase estar suspensa em gel,

e a diminuição da pressão resultante do defeito físico pela inserção da agulha ao longo das fibras tendíneas onde se pretende causar a lesão.

A menor pressão no local possibilita que a colagenase permaneça confinada dentro da lesão criada após a retirada da agulha, ao invés de ser forçada a expandir para todas as direções ao longo do endotendão e percorrer o caminho da agulha, evitando assim a formação de reação inflamatória no epitendão (WATTS et al., 2012).

CONCLUSÕES

A avaliação clínica e ultrassonográfica realizada no presente experimento confirmaram que a metodologia descrita para a indução de tendinite do TFDS utilizando colagenase suspensa em gel resultou em lesão focal similar a de ocorrência natural com menor comprometimento do epitendão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, A.L.G. **Influência da beta-aminopropionitrila associada à atividade física na reparação tendínea de equinos após agressão pela colagenase. Análise ultrassonográfica e morfológica.** Botucatu, 1998. Tese - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- BIRCH, H.L.; BAILEY, A.J.; GOODSHIP, A.E. Macroscopic 'degeneration' of equine superficial digital flexor tendon is accompanied by a change in extracellular matrix composition. **Equine Veterinary Journal**, v.30, p.534-539, 1998.
- CARVALHO, A.M.; BADIAL, P.R.; ÁLVAREZ, L.E.C.; YAMADA, A.L.M.; BORGES, A.S.; DEFFUNE, E.; HUSSNI, C.A.; ALVES, A.L.G. Equine tendonitis therapy using mesenchymal stem cells and platelet concentrates: a randomized controlled trial. **Stem Cell Research & Therapy**, v.4, p.85, 2013.
- DIRKS, R.C.; WARDEN, S.J. Models for the study of tendinopathy. **Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, v.11, p.141-149, 2011.
- GENOVESE, R.L.; RANTANEN, N.W.; HAUSER, M.L.; SIMPSON, B.S. Diagnostic ultrasonography of equine limbs. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.2, p.145-226, 1986.
- SCHRAMME, M.; HUNTER, S.; CAMPBELL, N.; BLIKSLAGER, A.; SMITH, R. A surgical tendonitis model in horses: Technique, clinical, ultrasonographic and histological characterization. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v.4, p.231-239, 2010.
- STASHAK, T.S. Claudicação em Equinos Segundo Adams. 5ª ed. São Paulo: Roca, 2006, 1112p.
- WATTS, A.E.; NIXON, A.J.; YEAGER, A.E.; MOHAMMED, H.O. A collagenase gel/physical defect model for controlled induction of superficial digital flexor tendonitis. **Equine Veterinary Journal**, v.44, p.576-86, 2012.
- YAMADA, A.L.M.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; NICOLETTI, J.L.M.; THOMASSIAN, A.; WATANABE, M.J.; CARNEIRO, R. Comparação de diferentes doses de colagenase em modelo de indução de tendinite para

eqüinos: estudo clínico e ultrasonográfico. **Ciência Rural**, v.39, p.1124-1130, 2009. **Disponível em:** [http://dx.doi.org/10.1590-S0103-84782009005000035](http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009005000035).