

## Avaliação de método de colorimetria para dosagem de glicosaminoglicanos do líquido sinovial de eqüinos para detecção de doença degenerativa articular

Aíta, A.C.<sup>1</sup>;  
 Macoris, D.G.<sup>2</sup>;  
 Rasera, L.<sup>3</sup>;  
 Duarte, C.A.<sup>4</sup>;  
 Massoco, C.O.<sup>3</sup>;  
 Haagen, S.<sup>4</sup>

1- União Pioneira de Integração Social - Faculdades Integradas – DF

2- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal – SP

3- Hospital Veterinário Salles Gomes, Foz e Associados – SP

4- Médico Veterinário Autônomo

O exame radiográfico é comumente utilizado na determinação da doença degenerativa articular (DDA) em eqüinos pois confirma o diagnóstico clínico. Alguns animais apresentam doença articular com lesões na cartilagem articular, visíveis através da artroscopia, mas não detectáveis através da avaliação radiográfica. Na articulação osteoartrítica, ocorre a difusão dos glicosaminoglicanos polissulfatados (GAGs) para dentro do líquido sinovial. O método que utiliza a substância 1,9 dimethylmethylen blue (DMMB) para quantificar os GAGs totais e individuais do líquido sinovial é uma alternativa de diagnóstico para lesões silenciosas da cartilagem onde se mede a absorbância do complexo GAGs-DMMB. O objetivo deste trabalho foi detectar, através do teste do DMMB, as possíveis alterações nos níveis de GAGs totais do líquido sinovial de articulações metacarpofalangeanas de eqüinos em um processo evolutivo inicial de DDA induzida através de instabilidade produzida cirurgicamente, antes do aparecimento de sinais radiográficos. Para criação da instabilidade articular, oito eqüinos adultos foram submetidos a desmotomia do colateral lateral e sesamoideano colateral lateral em uma de suas articulações metacarpofalangeanas (MCF), mantendo a outra como controle. Após um período pós-operatório de dez dias, os animais foram exercitados durante 60 dias, e submetidos a avaliação clínica e de claudicação semanal, e exames radiográfico e de líquido sinovial, incluindo GAGs totais, antes da cirurgia e nos tempos 15, 30, e 60 dias após o início dos exercícios. No final de 60 dias, três animais foram submetidos à artroscopia de ambas articulações MCF. A análise dos GAGs foi feita por método de colorimetria com o uso da substância 1,9 dimethylmethylen blue (DMMB). Uma alíquota de 250mL de cada amostra de líquido sinovial, diluído na proporção 1:5 e digerido com papaína (Papain P3125 -Sigma), foi removida e adicionada a 2,5mL do reagente DMMB (1,9- Dimethylmethylen blue- Serva Feinbiochemica), para a leitura dos GAGs totais num espectrofotômetro (Labquest - Labtest Diagnóstica) à 525 nm. Os sinais clínicos observados foram compatíveis com DDA. Os achados radiográficos incluíram aumento de volume nos tecidos moles durante todo o experimento e áreas de osteólise visibilizadas através de magnificação com lupa a partir dos 30 dias. A avaliação artroscópica das articulações operadas revelou linhas de desgaste, erosões na superfície

**Tabela 1.** Valores médios dos GAGs totais(mg/mL) do líquido sinovial das articulações metacarpofalangeanas controle e operada de eqüino após desmotomia do colateral lateral e sesamoideano colateral lateral aos 15, 30 e 60 dias após o início dos exercícios, 2004.

Membro	GAGs T otais			
	Basal	15	30	60
Controle	168,01 <sup>Aa</sup> (115,6)	170,50 <sup>Aa</sup> (126,043)	145,85 <sup>Aa</sup> (89,83)	191,41 <sup>Aa</sup> (66,00)
Operado	172,13 <sup>Ab</sup> (104,969)	67,65 <sup>Bb</sup> (23,49)	113,38 <sup>Aab</sup> (54,88)	142,05 <sup>Aab</sup> (91,72)

Valores entre parênteses representam o desvio padrão das médias. Médias seguidas de letras maiúsculas iguais, entre grupos, não diferem entre si pelo teste t de Student (p≤0,05). Médias seguidas de letras minúsculas iguais, entre dias, não diferem entre si pelo teste de Duncan (p≤0,05).

da cartilagem e hipertrofia da membrana sinovial. Nas articulações contralaterais observaram-se apenas linhas de desgaste, porém em número e tamanho bem menores que na articulação operada. Os valores dos GAGs totais do líquido sinovial apresentaram grande variação entre os animais e entre os tempos avaliados, com as médias apresentando grande desvio padrão (Tabela 1). A grande variação dos valores obtidos dos GAGs totais do líquido sinovial entre os animais e entre os tempos avaliados, e o alto desvio padrão apresentado pelas médias, impossibilitaram a padronização de valores que pudessem resultar em uma análise bem como a detecção precoce de DDA. Em um trabalho com equinos claudicantes, referenciados para exame ortopédico, houve diferença significativa nos valores de GAGs totais entre animais saudáveis e animais com DDA apresentando alterações radiográficas. Essa diferença apesar de significativa diminuiu em relação à animais com lesões silenciosas observadas apenas sob avaliação artroscópica. Os animais aqui descritos apresentavam o início do desenvolvimento de um processo de DDA, sendo talvez essa precocidade e ausência de lesões mais graves, a explicação para a ausência de diferença significativa entre os dados obtidos, ou ainda, a falta de sensibilidade do método, que tem como vantagem, a rapidez em se obter resultados em relação a outros métodos, sendo útil na aquisição de dados preliminares antes da aplicação de outras técnicas mais laboriosas. A prova do DMMB para análise dos glicosaminoglicanos polissulfatados do líquido sinovial foi ineficiente na detecção precoce de DDA não apresentando padronização de valores, havendo grandes variações entre grupos.

## Alterações ultra-sonográficas da articulação femuro-tíbio-patelar de equinos submetidos a desmotomia patelar medial experimental

Martins, E.A.N.<sup>1</sup>;  
Baccarin, R.Y.A.<sup>1</sup>;  
Silva, L.C.L.C.<sup>1</sup>

1- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo – SP

A literatura especializada reporta a ocorrência de alterações na articulação femuro-patelar de cavalos submetidos a desmotomia patelar medial, após período variável de uma semana a 12 meses do ato cirúrgico. Gibson et al. relatam as alterações ósseas e das estruturas intra-articulares através do exame radiográfico e artroscópico, enquanto Dyson<sup>1</sup> cita alterações no ligamento patelar intermédio após avaliação ultra-sonográfica. O objetivo deste trabalho é descrever através do exame ultra-sonográfico as alterações da articulação femuro-tíbio-patelar de equinos submetidos a desmotomia patelar medial experimental. Foram submetidos a desmotomia patelar medial no membro pélvico direito, seis equinos híbridos, adultos, de ambos os sexos e de diferentes raças. O exame ultra-sonográfico, em ambos os membros, foi realizado no pós-operatório nos dias 7, 14, 21, 28, 43, 58, 88 e 118. As estruturas examinadas foram: ligamentos patelares (porção proximal, média e distal), ligamentos colaterais, meniscos, cápsula articular e cartilagem articular das trócleas femorais. Foram adotados os seguintes critérios para avaliação: mensuração da espessura no sentido longitudinal dos ligamentos patelares e colaterais, e a área no sentido transversal dos ligamentos patelares; grau de ecogenicidade dos ligamentos patelares e colaterais; alinhamento das fibras colágenas; grau de ecogenicidade da cartilagem articular das trócleas femorais e meniscos. Todos animais permaneceram em repouso por 120 dias. Os dados foram avaliados segundo a normalidade pelo teste de Kolmojorov-Smirnov; em seguida utilizou-se modelo de análise de variância para verificar o efeito de grupos de momentos. O contraste entre médias foi feito pela d.m.s. do teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. Utilizou-se o programa SAS (2000) para o processamento dos dados. Os dados referentes à mensuração da espessura dos ligamen-