

Modelo de indução de lesão no ligamento suspensório equino com utilização de *punch* para biópsia cutânea

Suspensory ligament lesion model in horses using a skin biopsy punch

Anamaria Santos Soares¹ Geraldo Eleno Silveira Alves¹ Luis Alberto do Lago¹
Odael Spadeto Junior¹ Deliene de Oliveira Moreira¹ Rafael Resende Faleiros^{1*}

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar um novo modelo de lesão no ligamento suspensório (LS). Sob anestesia geral, um *punch* para biópsia cutânea de 0,6cm de diâmetro foi utilizado para criar uma lesão no centro do LS de ambos os membros torácicos e pélvicos, em seis equinos. Todos os animais se recuperam da cirurgia sem nenhuma complicação importante. Realizaram-se avaliações clínicas e ultrassonográficas no período pós-operatório. Durante as primeiras duas semanas, no local da lesão, houve redução no edema de leve para discreto e da dor de discreta para ausente. As lesões foram facilmente observadas ao exame ultrassonográfico 72 horas após a cirurgia como áreas anecoicas homogêneas, representando uma média (\pm erro padrão) de $33,5 \pm 5\%$ da área do LS. Não houve alteração significativa na área de lesão durante as primeiras duas semanas ($P=0,77$). Concluiu-se que o modelo proposto foi eficiente para promover lesões controladas e homogêneas simultaneamente nos quatro LS, sem causar desconforto importante aos equinos. Esses achados, associados à possibilidade de se avaliar previamente o LS por meio de biópsia, demonstram que esse modelo de indução de lesões ligamentosas se apresenta com um método útil, principalmente se aplicado ao estudo de terapias destinadas a melhorar o processo de reparo do LS.

Palavras-chave: ligamento suspensório, desmitite, equino, modelo experimental.

ABSTRACT

The aim was to study a novel model of suspensory ligament (SL) lesion. Under general anesthesia, a punch for skin biopsy (0.6cm of diameter) was used to create a circular lesion in the middle of SL simultaneously in the four members of six horses. All horses recovered without any important complication. Clinical and ultrasonographic evaluations were made during the post operative period. During the first two

weeks, edema changed from mild to discreet, and pain changed from discreet to none around the surgical site. The lesions were easily observed by ultrasonography 48h after surgery as a homogenous anechoic area representing a mean (\pm SEM) $33.5 \pm 5\%$ of the SL area, and did not change size during the first two weeks ($P=0.77$). In conclusion, the proposed model was efficient to promote controlled and homogeneous lesions in the four SL simultaneously without causing important discomfort to the horses. Taking in account these findings together with the possibility of evaluation of the ligament biopsy previously to any treatment, this method may be useful especially in studies testing therapies for tissue repair.

Key words: suspensory ligament, desmitis, horse, experimental model.

INTRODUÇÃO

O estudo das claudicações em equinos é uma das áreas de maior importância para a espécie, pois os problemas do sistema locomotor estão entre os mais comuns nos equinos. Entre as afecções mais frequentes, destaca-se a desmitite do suspensório, uma enfermidade que acomete os membros torácicos e/ou pélvicos dos cavalos atletas. Grandes perdas econômicas ocorrem, pois o animal pode diminuir seu desempenho mesmo antes de os sinais clínicos se tornarem evidentes. Durante o longo período de tratamento, o animal necessita de repouso, ficando afastado de competições e treinamento. Alguns autores consideram que essa seja a maior causa de claudicação e perda da função nos cavalos atletas (HERTHEL, 2001).

¹Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil. Av. Antonio Carlos, 6627, 30123-970, Belo Horizonte, MG, Brasil. E-mail: faleiros@ufmg.br. *Autor para correspondência.

Apesar dos diversos tratamentos utilizados na desmiste do suspensório, o prognóstico dessa afecção ainda é reservado para retorno à atividade atlética. Mesmo com tratamento adequado, o índice de recorrência varia de 20% para os membros torácicos e 65% para os pélvicos (COWLES, 2000). Verifica-se assim um grande interesse da sociedade ligada ao esporte esquestre e da comunidade científica no estudo de novas opções terapêuticas, o que demanda a utilização de um modelo que produza lesões homogêneas e que cause mínimo desconforto aos animais.

Atualmente, no modelo de indução de lesão em tendões e ligamentos, utiliza-se a injeção de colagenase. Nos tendões flexores (YAMADA et al., 2009) e no LS, a colagenase tem sido usada em diversas doses. McCLURE & EVANS (2002) recomendaram injeção local de 4.000UI de colagenase, já CAMINOTO (2003) utilizou 0,6mL de colagenase (2,5mg mL⁻¹) no LS e não obteve sucesso, sendo necessária uma segunda aplicação, na dose de 0,5mL (5mg mL⁻¹), no mesmo local da primeira aplicação.

Verifica-se que ainda não existe consenso com relação à melhor dose a ser utilizada. Talvez em razão da ação enzimática contínua e da grande reação inflamatória promovida, as lesões produzidas por colagenase podem demorar até três semanas para estabilizar, havendo grande variação entre indivíduos e doses (CAMINOTO, 2003; YAMADA et al., 2009). Segundo YAMADA et al. (2009), a dose de 2,5mg de colagenase apresenta resultados mais condizentes com os casos clínicos.

Os objetivos do presente estudo foram propor um novo modelo para induzir lesão no LS equino, por meio da utilização de *punch* para biópsia cutânea, e avaliar, por meio de exames clínicos e ultrassonográficos, seus efeitos sobre os animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se seis equinos sem raça definida (um macho castrado e cinco éguas), com idade entre 4,5 e 16 anos e pesando 375±75kg. Os animais passaram por um período de adaptação de 15 dias, com dieta padronizada, tratamento de verminoses (moxidectina 0,4mg kg⁻¹) e vacinação contra tétano.

Após jejum de alimentos sólidos por 12 horas, os animais foram pré-medicados com acepromazina (0,03mg kg⁻¹, IV), xilazina (0,5mg kg⁻¹, IV) e cetamina (2mg kg⁻¹, IV). Após decúbito lateral, foram intubados com sonda orotraqueal e indução e manutenção anestésicas feitas por aparelho de anestesia inalatória, com vaporizador compensado em

circuito semifechado. Foi utilizado isofluorano volatilizado em 15mL kg⁻¹min⁻¹ de oxigênio de forma que os pacientes permaneceram no segundo plano do terceiro estágio anestésico.

O LS de ambos os membros torácicos e pélvicos foram expostos cirurgicamente por incisão de pele de aproximadamente 3cm na região lateral dos membros, 3cm proximal à bifurcação, em que se originam os ramos medial e lateral que seguem em direção aos sesamoides proximais. No centro do LS, uma lesão circular foi realizada com a utilização de um *punch* para biópsia cutânea de 0,6cm de diâmetro (Figura 1A). A pele foi suturada com pontos simples separados com fio mononáilon 0. Foram utilizadas rifamicina tópica nas feridas cirúrgicas e bandagem com algodão e atadura de crepom. Logo após a cirurgia, os animais receberam sulfadiazina (20mg kg⁻¹, PO) mais trimetoprim^a (5mg kg⁻¹, PO), tratamento que continuou por quatro dias. Também foi administrado fenilbutazona^b (4,4mg kg⁻¹ IV) imediatamente ao final da cirurgia e a cada 24 horas por um total de sete dias.

Foram realizados exames clínicos e ultrassonográficos para avaliar a tolerância dos animais ao método, as alterações clínicas, a extensão da lesão obtida, a região do LS que foi lesionada, a qualidade da imagem ultrassonográfica obtida diante daquela lesão e a possibilidade de padronização das lesões.

Os exames clínicos consistiram de mensuração do perímetro dos membros com fita métrica (como forma objetiva de avaliar aumento de volume na região), avaliação da dor, temperatura e presença de edema na região da lesão. Essa avaliação foi realizada de forma subjetiva, mas sempre pelo mesmo observador, que determinava um escore (0 ausente, 1 discreto, 2 leve, 3 moderada e 4 intensa) para cada uma das variáveis, de forma semelhante ao realizado por MAIA et al. (2009). Os exames foram realizados diariamente entre o 2º e o 17º dia de pós-operatório.

O exame ultrassonográfico foi realizado com aparelho portátil^c, com transdutor linear multifrequencial (5 a 10MHz), operando na frequência de 7,5MHz. As avaliações foram realizadas antes e aos três, oito, doze e dezesete dias após indução da lesão. Foram avaliados os planos transversais e longitudinais do LS e da lesão, e as imagens obtidas foram digitalizadas e transferidas para um microcomputador portátil, para posterior avaliação morfológica.

As avaliações morfológicas do LS e sua lesão, em cada uma das imagens capturadas, foram realizadas por um programa computacional de análise de imagens^d. Foram avaliados os seguintes parâmetros nas lesões: diâmetro de Ferret da lesão, área total da lesão, área do ligamento e área percentual da lesão.

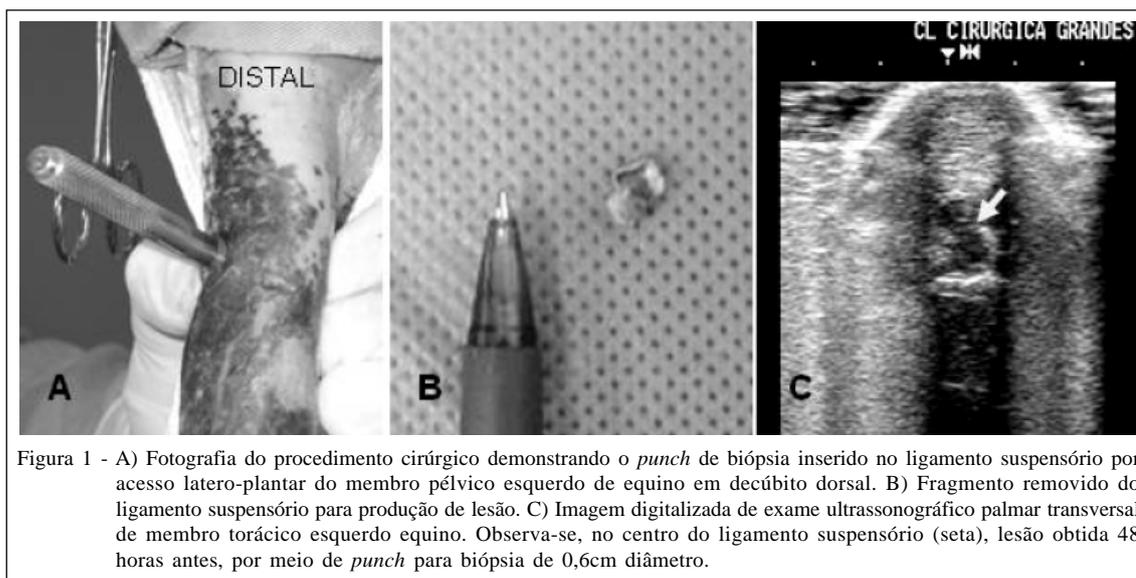


Figura 1 - A) Fotografia do procedimento cirúrgico demonstrando o *punch* de biópsia inserido no ligamento suspensório por acesso latero-plantar do membro pélvico esquerdo de equino em decúbito dorsal. B) Fragmento removido do ligamento suspensório para produção de lesão. C) Imagem digitalizada de exame ultrassonográfico palmar transversal de membro torácico esquerdo equino. Observa-se, no centro do ligamento suspensório (seta), lesão obtida 48 horas antes, por meio de *punch* para biópsia de 0,6cm diâmetro.

Os dados paramétricos foram avaliados por análise de variância em blocos ao acaso a fim de se determinar o efeito do tempo sobre cada variável. Os dados não paramétricos foram avaliados pelo teste de Friedman. Em ambos os casos, para comparação das médias de cada tempo, utilizou-se o teste de Tukey, considerando-se $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, verificou-se que o modelo proposto foi capaz de causar lesões homogêneas, simultaneamente nos quatro membros, sem produzir alterações clínicas que prejudicassem os animais a realizar suas atividades normais. A biópsia de LS já havia sido previamente utilizada para avaliação de lesões induzidas por colagenase (CAMINOTO, 2003): desse modo, a inovação proposta no presente estudo foi utilizar essa técnica para promover lesões controladas e homogêneas, por meio de um *punch* normalmente usado para biópsia cutânea.

O acesso cirúrgico ao LS foi simples de ser realizado, principalmente nos membros torácicos, onde a maior distância entre os metacarpianos II e IV permitiu maior mobilidade dos tendões flexores superficial e profundo durante a manobra para exposição do LS. O *punch* se mostrou de fácil manuseio (Figura 1A). Em todos os membros, recuperou-se uma porção circular de LS que foi desde sua face volar até a cranial (Figura 1B). Em estudo-piloto, realizado antes do experimento, no qual um animal foi submetido à eutanásia 24h após a indução da lesão, observou-se uma lesão circular, uniforme, de aproximadamente 0,5cm

de diâmetro completamente preenchida por coágulo sanguíneo.

Em um membro pélvico direito de um dos equinos do experimento, observou-se, junto ao material ligamentar colhido com o *punch*, um segmento de aproximadamente 0,5cm de vaso com características de artéria. Contudo, não houve hemorragia profusa durante o procedimento, e o animal se recuperou normalmente no pós-cirúrgico.

Não se observaram quaisquer complicações na recuperação anestésica, e os animais deambularam com facilidade em direção às baias. Durante o período pós-cirúrgico, o apetite e a capacidade de locomoção não foram alterados, assim como não foi notado sinal de prostração em nenhum momento. Nenhum dos animais apresentou claudicação evidente ao passo: contudo, no presente estudo, uma avaliação completa e criteriosa de claudicação como empregada por outros autores (CAMINOTO, 2003; MAIA et al., 2009) não foi realizada. A decisão de não avaliar esses animais para claudicação ao trote e em movimento circular foi tomada em função de evitar manipulação excessiva dos animais, uma vez que as cirurgias foram realizadas concomitantemente nos quatro membros.

Apesar de serem observadas variações estatisticamente significativas nos escores das variáveis dor, temperatura e edema, estas não foram suficientes para causar manifestações clínicas relevantes nos animais. A dor e o aumento de temperatura no local da cirurgia foram classificados como discretos (não atingindo o escore 2) e cederam ao longo do período de experimentação (Figura 2), sem causar sequelas e maiores prejuízos aos animais. A

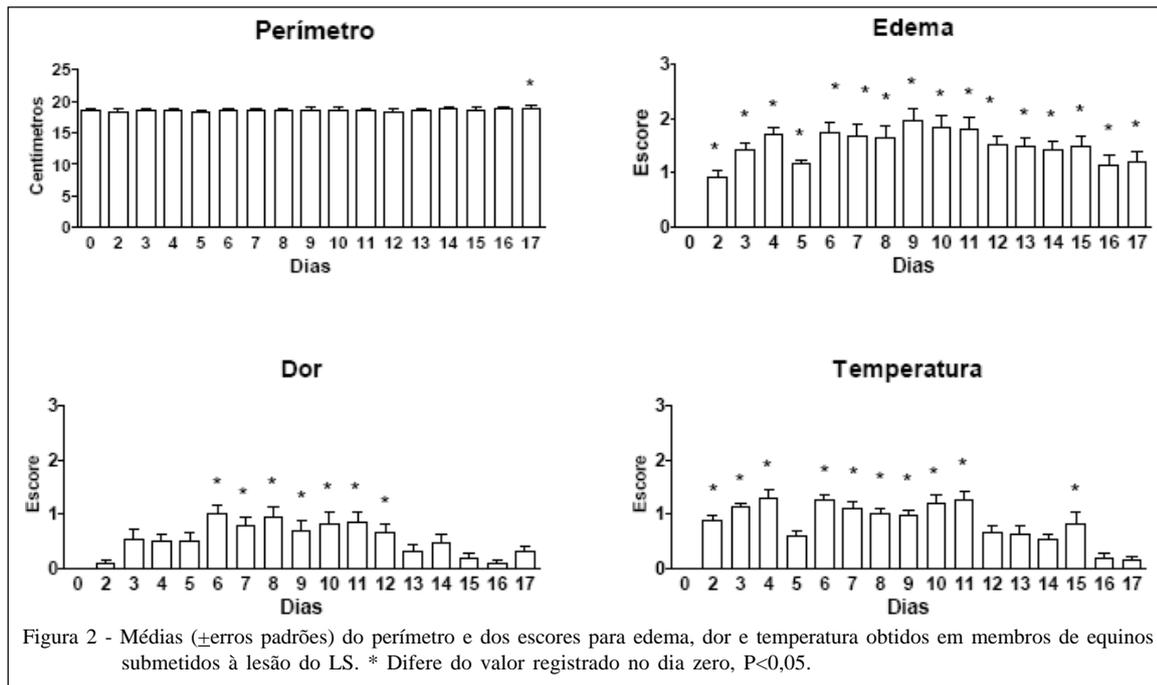


Figura 2 - Médias (\pm erros padrões) do perímetro e dos escores para edema, dor e temperatura obtidos em membros de equinos submetidos à lesão do LS. * Difere do valor registrado no dia zero, $P < 0,05$.

presença de edema foi de discreta a leve, não sendo suficiente para alterar inicialmente o perímetro do membro. Nessa variável, aumento discreto (2,5%) só foi observado ao fim do experimento, possivelmente relacionado ao processo cicatricial, em razão da cirurgia e do aumento da área do LS no local da lesão (Figuras 2 e 3). O edema e o aumento de temperatura observados logo após a indução da lesão eram esperados devido à manipulação cirúrgica.

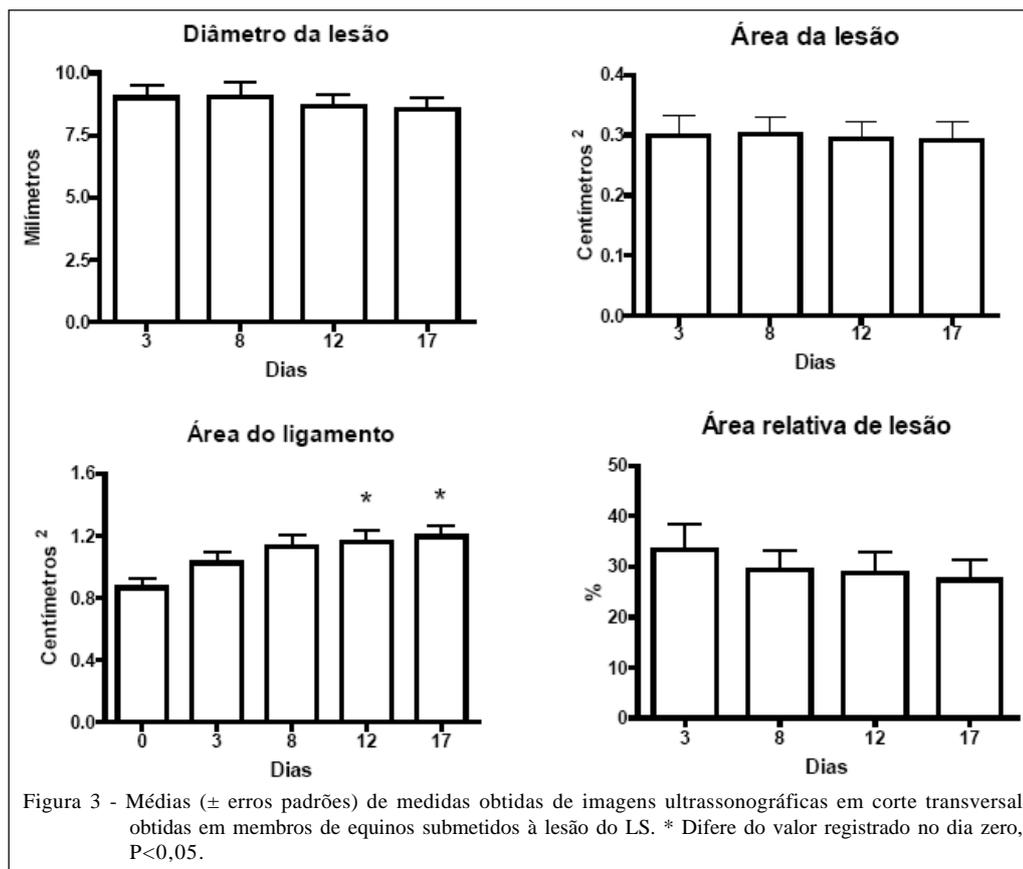
Uma possível explicação para a manifestação de dor entre oito e doze dias após a indução da lesão foi o final do tratamento com fenilbutazona no dia 7, apesar de que a diferença estatística se tornou existente já no dia 6. Não foi encontrada explicação para o aumento da dor antes do final do tratamento com fenilbutazona. De forma interessante, a dor, quando presente, nunca atingiu grau superior a discreto, demonstrando que o modelo proposto não trouxe desconforto importante aos animais.

A fenilbutazona foi escolhida para uso durante o período pós-operatório, pois é o principal agente terapêutico utilizado nas afecções dolorosas e inflamatórias do sistema musculoesquelético do equino, sendo, na maioria das vezes, o primeiro fármaco a ser aplicado por veterinários e mesmo tratadores, frente ao aparecimento de sinais de desmiteme. Considerou-se assim que o tratamento com tal anti-inflamatório seria adequado, podendo ser esse utilizado no futuro como tratamento adicional ou controle nos

estudos de novos produtos terapêuticos. BARREIRA (2005) verificou que o tratamento com meloxicam ($0,6\text{mg kg}^{-1}$, 24/24h, 15 dias) não interferiu nos efeitos benéficos de terapia celular (aspirado de medula óssea), em animais submetidos a lesões induzidas por collagenase no tendão flexor superficial.

Comparando os resultados do presente estudo em relação à presença de dor e edema com resultados obtidos por meio do uso da collagenase em ligamentos e tendões, observou-se que, aparentemente, o modelo proposto associado ao uso de fenilbutazona apresenta menor reação inflamatória. Ao ser aplicada no tendão flexor superficial, a collagenase promoveu dor à palpação de leve a intensa e claudicação de grau 1 a 3 em uma escala de 1 a 4 (FERNANDES et al., 2003; MARXEN et al., 2004; YAMADA et al., 2009). CAMINOTO (2003), ao injetar collagenase no LS, observou aumento de volume por três semanas e de sensibilidade e temperatura por duas semanas após a injeção. McCLURE et al. (2004) observaram edema após a injeção de collagenase no LS, além de dor à palpação por uma semana e claudicação por duas semanas.

As lesões promovidas pela biópsia foram facilmente detectadas ao exame ultrassonográfico em corte transversal, como uma área anecoica no centro do LS (Figura 1C). No terceiro dia após a indução, as lesões apresentaram em média (\pm erro padrão) $0,9 \pm 0,05\text{cm}$ de diâmetro (maior medida) e $0,3 \pm 0,03\text{cm}^2$ de área, representando $33,5 \pm 5\%$ da área do LS (Figura 3). Não houve alterações significativas nas medidas



das lesões no período estudado, mas observou-se aumento significativo na área do LS, que aumentou em média 38% ($P=0,007$).

A eficiência do presente modelo em produzir lesão no centro do LS de forma rápida e estável contrasta com os resultados de estudos utilizando a colagenase para produzir lesão em tendões (REDDING et al., 1999; BARREIRA, 2005) e no LS (McCLURE & EVANS, 2002; CAMINOTO, 2003; McCLURE et al., 2004). Enquanto o modelo de colagenase por vezes demanda repetição na aplicação (CAMINOTO, 2003) e demora até três semanas para produzir lesão de dimensões estáveis (McCLURE & EVANS, 2002), o atual modelo produziu lesões estáveis num único procedimento. Para CLAYTON et al. (2000), o efeito da colagenase depende da quantidade e do tipo de colagenase (potencial enzimático), do volume injetado (difusão próximo-distal e dispersão para o paratendão) e do grau de pureza da solução.

Outra vantagem desse modelo frente à colagenase é a possibilidade de se obter uma amostra prévia do tecido em estudo, possibilitando selecionar indivíduos livres de alterações ligamentares anteriores, permitindo uma base de comparação para os achados

cicatriciais no tecido. Além disso, no presente modelo, mostrou-se ser viável a indução de lesões de forma simultânea nos quatro membros, tornando-se interessante por permitir que diferentes tratamentos sejam usados no mesmo indivíduo, reduzindo a interferência da variação individual na análise estatística dos dados experimentais.

Obviamente há de se considerar que o modelo proposto aparentemente resulta em menor reação inflamatória do que a que ocorre em casos clínicos. Já no modelo de colagenase, a enzima de origem bacteriana destrói as moléculas de colágeno, com conseqüente destruição de células e matriz não colágena (FOLAND et al., 1992). Em tendões equinos, esse modelo gera edema, hemorragia com formação de hematomas, infiltração neutrofílica e linfocitária e deposição de fibrina no local lesionado (ALVES, 1998), o que o torna possivelmente mais próximo de um quadro clínico de tendinite. Também devem ser consideradas as alterações ultrassonográficas. Com o uso da colagenase, acredita-se que área anecoica ocorra em razão da ruptura de fibras, da hemorragia e do edema (BARREIRA, 2005). Já no presente modelo, a área anecoica está associada basicamente à ausência de

fibras ligamentares, cujo espaço se preenche por um coágulo. Assim, por causar lesão homogênea e controlada, a biópsia por *punch* se mostra interessante principalmente para o estudo de terapias destinadas à reparação tecidual.

Em resumo, o protocolo do presente estudo aparenta ser mais efetivo do que o da colagenase em produzir lesões estáveis e homogêneas. Em um único procedimento anestésico, criaram-se, por meio de biópsias, lesões simultâneas nos quatro membros, de fácil visualização e avaliação ao exame ultrassonográfico.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que o modelo experimental, com a utilização do *punch* para biópsia cutânea, se mostrou eficiente em produzir lesões padronizadas nos quatro membros. Acredita-se que esse novo modelo seja uma opção interessante para o estudo de terapias destinadas ao tratamento de lesões no ligamento suspensório de equinos.

AGRADECIMENTOS E APRESENTAÇÃO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de mestrado do primeiro autor, e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

O presente trabalho é parte da Dissertação da primeira autora, Anamaria Santos Soares, realizada para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Aprovado pelo CETEA-UFMG (protocolo número 19/07) e executado de acordo com os princípios Éticos em Experimentação Animal.

FONTES DE AQUISIÇÃO

- a - Tridiazin Pasta, Vansil Indústria Veterinária, Brasil
- b - Fenilvet, Vansil Indústria Veterinária, Brasil.
- c - Honda HS 2000 V, Honda Electronics, Japão.
- d - Image J, National Institute of Health, EUA.

REFERÊNCIAS

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.** 1998. 92f. Tese (Doutorado em Patologia) - Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

BARREIRA, A.P.B. **Implante autólogo de células mesenquimais no tratamento de tendinites induzidas em equinos: avaliação clínica, ultra-sonográfica, histopatológica e imunoistoquímica.** 2005. 86f. Tese

(Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

CAMINOTO, E.T.C. **Efeito das ondas de choque extracorpóreas na desmíte experimentalmente induzida em equinos.** 2003. 97f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

CLAYTON, H.M. et al. Kinematics and ground reaction forces in horses with superficial digital flexor tendonitis. **American Journal of Veterinary Research**, v.61, n.2, p.191-196, 2000. Disponível em: <<http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/ajvr.2000.61.191>>. Acesso em 20 fev. 2010. doi: 10.2460/ajvr.2000.61.191

COWLES, R.R. Proximal suspensory desmitis – a qualitative survey. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 46., 2000, San Antonio. **Proceedings...** Lexington, KY: AAEP, 2000. p.143-144. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2000/143.pdf>>. Acesso em 20 fev. 2010.

FERNANDES, M.A.L. et al. Efeito do ultra-som terapêutico em tendinite experimental de equinos: estudo clínico, ultrassonográfico e histopatológico de dois protocolos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.1, p. 27-34, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000100005>. Acesso em 20 fev. 2010. doi: 10.1590/S0102-09352003000100005.

FOLAND, J.W. et al. Effect of sodium hyaluronate in collagenase induced superficial digital flexor tendonitis in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v.53, n.12, p.2371-2376, 1992.

HERTHEL, D.J. Enhanced suspensory ligament healing in 100 horses by stem cells and other bone marrow components. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 47., 2001, San Antonio. **Proceedings...** Lexington, KY: AAEP, 2001. p.319-321. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2001/91010100319.pdf>>. Acesso em 20 fev. 2010.

MAIA L. et al. Platelet-rich plasma in the treatment of induced tendinopathy in horses: histologic evaluation. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.29, n.8, p.618-626, 2009. Disponível em: <[http://www.j-evs.com/article/S0737-0806\(09\)00543-7/abstract](http://www.j-evs.com/article/S0737-0806(09)00543-7/abstract)>. Acesso em 20 fev. 2010. doi:10.1016/j.jevs.2009.07.001.

MARXEN, S. et al. Intralesional polysulphated glycosaminoglycan as treatment of equine collagenase induced tendinitis: clinical, ultrasonographic and histopathologic evaluation. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.6, p.701-708, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v56n6/a02v56n6.pdf>>. Acesso em 20 fev. 2010. doi: 10.1590/S0102-09352004000600002.

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

Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2002/910102000378.pdf>>. Acesso em 20 fev. 2010.

McCLURE, S.R. et al. The effects of extracorporeal shock-wave therapy on the ultrasonographic and histologic appearance of collagenase-induced equine forelimb suspensory ligament desmitis. **Ultrasound in Medicine & Biology**, v.30, n.4, p.461-467, 2004. Disponível em: <[http://www.umbjournal.org/article/S0301-5629\(04\)00015-8/abstract](http://www.umbjournal.org/article/S0301-5629(04)00015-8/abstract)>. Acesso em 20 fev. 2010. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2003.12.005.

REDDING, W.R. et al. The effects of polysulphated glycosaminoglycan on the healing of collagenase induced tendonitis. **Veterinary Compendium Orthopedic Traumatology**, v.12, p.48-55, 1999.

YAMADA, A.L.M. et al. Comparação de diferentes doses de colagenase em modelo de indução de tendinite para equinos: estudo clínico e ultra-sonográfico. **Ciência Rural**, v.39, n.4, p.1124-1130, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2009nahead/a141cr493.pdf>>. Acesso em 20 fev. 2010. doi: 10.1590/S0103-84782009005000035.