



Artigo Original

Viscossuplementação intra-articular de ácidos hialurônicos em modelo experimental de osteoartrite[☆]



Marcello Zaia Oliveira^{*}, Mauro Batista Albano, Guilherme Augusto Stirma, Mario Massatomo Namba, Leandro Vidigal e Luiz Antonio Munhoz da Cunha

Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 8 de março de 2017

Aceito em 6 de abril de 2017

On-line em 6 de julho de 2017

Palavras-chave:

Osteoartrite

Ácido hialurônico

Modelo experimental de osteoartrite

Imuno-histoquímica

R E S U M O

Objetivo: Analisar do ponto de vista imuno-histoquímico os efeitos do ácido hialurônico de diferentes pesos moleculares em modelo experimental em coelhos.

Métodos: Foram alocados de modo aleatório 44 coelhos da raça Califórnia, machos, em três grupos (PR, S e P), e submetidos à ressecção do ligamento cruzado anterior do joelho direito. Decorridas três semanas do procedimento cirúrgico iniciaram-se as três injeções intra-articulares semanais de ácido hialurônico nativo de baixo peso molecular (Polireumin[®]) no grupo PR, ácido hialurônico de cadeia ramificada de alto peso molecular (Synvisc[®]) no grupo S e soro fisiológico 0,9% no grupo P. Todos os animais foram sacrificados após 12 semanas do ato cirúrgico e os platôs tibiais dos joelhos infiltrados foram dissecados. Cortes histológicos da cartilagem das áreas de apoio dos platôs tibiais foram corados com marcadores imuno-histoquímicos para pesquisa da quantidade de metaloproteases (MMPs-3,13) e seus inibidores (TIMPs-1,3). A intensidade de coloração foi quantificada em um aparelho de microscopia Zeiss Imager.Z2 Metasystems e analisada pelo software Metafer4 Msearch.

Resultado: O efeito condroprotetor dos ácidos hialurônicos usados no estudo foi demonstrado quando comparados com o grupo controle, porém feita a comparação entre si não houve diferença estatística significativa quanto à condroproteção.

Conclusão: A injeção de solução salina demonstra sinais de desenvolvimento de OA enquanto que a adição de ácido hialurônico nativo de baixo peso molecular (Polireumin[®]) e ácido hialurônico de cadeia ramificada de alto peso molecular (Synvisc[®]) protegeram a cartilagem articular nesse modelo de OA.

© 2017 Publicado por Elsevier Editora Ltda. em nome de Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

[☆] Trabalho desenvolvido pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Curitiba, PR, Brasil.

^{*} Autor para correspondência.

E-mail: marcellozaia@yahoo.com.br (M.Z. Oliveira).

<https://doi.org/10.1016/j.rbo.2017.04.014>

0102-3616/© 2017 Publicado por Elsevier Editora Ltda. em nome de Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Intra-articular viscosupplementation of hyaluronic acids in an experimental osteoarthritis model

A B S T R A C T

Keywords:

Osteoarthritis
Hyaluronic acid
Experimental model of
osteoarthritis
Immunohistochemistry

Objective: To analyze, from the immunohistochemical perspective, the effects of hyaluronic acid of different molecular weights in an experimental model of osteoarthritis in rabbits.

Methods: Forty-four male California rabbits were randomly assigned to three different groups (PR, S, and P) and submitted to the resection of the anterior cruciate ligament of the right knee. Three weeks after the surgical procedure, three intra-articular weekly injections were carried out with low-molecular-weight native hyaluronic acid (Hyalgan[®]) to PR group, high molecular weight branched chain hyaluronic acid (Synvisc[®]) to group S, and saline solution 0.9% to group P. All animals were sacrificed 12 weeks after the surgical procedure, and the tibial plateaus of the infiltrated knees were then dissected. Histological sections of cartilage from the tibial plateau support areas were stained with immunohistochemical markers in order to investigate the amount of metalloproteases (MMPs 3 and 13) and their inhibitors (TIMPs 1 and 3). The staining intensity was quantified on a Zeiss Imager.Z2 Metasystems microscope and analyzed by Metafer4 Msearch software.

Results: The chondroprotective effect of the hyaluronic acids used in the study was demonstrated when compared to the control group. However, the comparison between them presented no significant statistical difference regarding chondroprotection.

Conclusion: The injection of saline solution demonstrated signs of OA development, while adding native hyaluronic acid of low molecular weight (Hyalgan[®]) and hyaluronic acid of high molecular weight (Synvisc[®]) protected the articular cartilage in this model of OA.

© 2017 Published by Elsevier Editora Ltda. on behalf of Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

Osteoartrose é a afecção articular mais comum no joelho e é uma doença definida por alterações estruturais específicas da articulação, inclusive degradação focal da cartilagem articular, processos inflamatórios no tecido sinovial, alterações bioquímicas no líquido sinovial e remodelamento do osso subcondral com formação de osteófitos nas margens da articulação, é atualmente definida como uma doença inflamatória articular, tem sua denominação atualizada para osteoartrite (OA), considerada assim não mais como uma simples degeneração articular.

A patologia da osteoartrite é uma grande causa de limitação de atividade, restrição física, excesso de uso de serviços de saúde e redução da qualidade de vida, especialmente em pessoas acima dos 45 anos.¹ Estimativas recentes indicam um aumento na prevalência de osteoartrite, 27 milhões de adultos nos Estados Unidos da América com idade superior a 25 anos apresentam sinais clínicos de osteoartrite em mão, joelho ou quadril, um aumento em relação aos 21 milhões em 1995. Na população acima de 45 anos, 19-28% da população tem osteoartrite definida por radiografia, é considerada a artrite crônica mais comum no mundo.²

No Brasil, os custos com a doença são mais difíceis de ser estimados devido à falta de dados estatísticos oficiais, porém como a osteoartrite aumenta sua incidência de modo diretamente proporcional ao envelhecimento da população, os custos nacionais também tendem a aumentar, pois em 2016 o Brasil tinha 207 milhões de habitantes, 22,69% da população

na faixa de indivíduos jovens e 8,17% na de indivíduos idosos. Segundo as projeções do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), teremos 223 milhões de habitantes, 17,59% na faixa etária de jovens e 13,44% na dos idosos no país em 2030. Um aumento relativo de 64% na população idosa no país.³

A osteoartrite é o resultado de vários fatores na disfunção articular e sua falência funcional caracteriza-se por degeneração da cartilagem, inflamação articular e simultânea proliferação de tecido ósseo, cartilaginoso e conectivo.⁴⁻⁶ Dentre várias modalidades de tratamento disponíveis atualmente, a terapia com injeções intra-articulares de ácido hialurônico (AH) tem demonstrado efeito benéfico no controle dos sintomas da OA do joelho (gonartrose).⁷

O AH administrado em forma de injeções intra-articulares pode potencializar os efeitos regenerativos do AH endógeno sobre a cartilagem articular, restituir a viscoelasticidade do líquido sinovial, contribuir para a síntese de AH endógeno e de outros componentes da matriz extracelular pelos sinoviócitos, prevenir a degradação de proteoglicanos e fibras de colágeno da matriz extracelular. O AH também estimula o metabolismo e previne a apoptose dos condrócitos, inibe a degradação condral e as respostas inflamatórias articulares.⁸ Atribui-se a esses efeitos da terapia com AH não só a sua capacidade de amenizar os sintomas relacionados à osteoartrite, mas também a sua interferência na progressão dos processos inflamatórios e degeneração articular.^{9,10}

Para avaliar os efeitos dessas substâncias na osteoartrite, se propôs nesta pesquisa o uso de um modelo experimental de OA já consagrado que se assemelha àquele observado na

espécie humana, a secção do ligamento cruzado anterior (LCA) do joelho de coelhos (soldra) mimetiza as alterações morfológicas e bioquímicas observadas na osteoartrite humana, o que permite a reprodução acurada dos resultados obtidos.^{11,12}

Material e métodos

O Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da Universidade avaliou e aprovou o protocolo de pesquisa usado neste experimento (Registro CEP/SD: 001.004 SI 06-06).

Foram usados 44 coelhos da raça Califórnia, machos, que permaneceram alojados antes e durante os procedimentos no Biotério, em gaiolas retangulares de 40 x 30 cm, com dois animais em cada uma, com alimentação padronizada e livre acesso à água. Foram mantidos em controle de luz (ciclo claro-escuro de 12 horas), com temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade e nível de ruído mantidos estáveis, com o peso médio de cada animal em 3,5 kg. Todos inicialmente foram submetidos à secção do LCA em dois dias de trabalho, por três pesquisadores. O joelho direito foi escolhido como padronização do experimento. O procedimento cirúrgico consistiu de anestesia pré-operatória com 10 mg/kg de cloridrato de cetamin (Dopalen[®]) e 50 mg/kg de cloridrato de xilasina (Anasedan[®]), administrados na mesma seringa, de forma intramuscular (IM), no ventre dos músculos semimembranáceo e semitendíneo do membro posterior direito. Na mesma ocasião foi administrada injeção de 14.400UI de penicilina e 6 mg de estreptomicina (Pentabiótico Veterinário Reforçado[®] - Eurofarma) como antibioticoprofilaxia, e Flunamine[®] (Bayer), na dose de 2,2 mg/kg, por via IM, para analgésica pós-operatória.

Os coelhos permaneceram alojados nas suas respectivas gaiolas após o ato operatório, sem restrição de apoio aos membros operados. Dois animais apresentaram infecção de sítio cirúrgico e foram excluídos da pesquisa.

Decorridas três semanas do procedimento cirúrgico iniciaram-se as respectivas injeções intra-articulares. O volume dos ácidos hialurônicos foi de 0,3 ml, similar ao usado em pequenas articulações de seres humanos.¹³ No presente estudo foram usados o ácido hialurônico de cadeia ramificada de origem aviária (crista de galináceos) de alto peso molecular 6×10^6 Da (Synvisc[®]) e o ácido hialurônico de cadeia simples de origem aviária (crista de galináceos) de baixo peso molecular 5×10^5 Da (Polireumin[®], nome comercial internacional chamado Hyalgan[®]). Ambos os ácidos hialurônicos são usados rotineiramente em infiltrações intra-articulares em humanos.¹⁴ Os grupos foram divididos da seguinte forma:

Grupo P: controle, três infiltrações com intervalo semanal de solução salina isotônica (SF 0,9%).

Grupo PR: três infiltrações com intervalo semanal de ácido hialurônico nativo (Polireumin[®]).

Grupo S: três infiltrações com intervalo semanal de ácido hialurônico ramificado (Synvisc[®]).

Foram sacrificados após 12 semanas do ato cirúrgico todos os animais. Os platôs tibiais mediais foram ressecados assepticamente, imersos em frasco contendo formol a 10%. Os frascos foram etiquetados para identificação dos grupos e enviados ao Serviço de Anatomia Patológica da Universidade.

Foram feitas 10 lâminas histológicas de cada grupo digitalizadas automaticamente em um microscópio Carl Zeiss

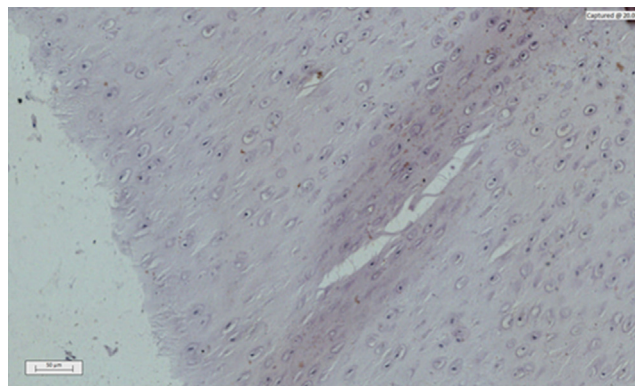


Figura 1 – Fotomicrografia de corte histológico de cartilagem articular imunomarcada de MMP 3 - Sinvisc[®].

Imager.Z2 Metasystems, com o software Metafer MSearch4, com pós-montagem com VSlide. Então, as regiões da cartilagem foram selecionadas com a ferramenta de *snapshot* do software MetaViewer. As fotos foram analisadas no software ImageJ, com a ferramenta de RGB Stack.

Na quantificação de marcação por DAB, foi usado o software imageJ (NIH), com lâminas marcadas ou imunomarcadas e reveladas com DAB. No software foi feita a secção da cartilagem do restante da amostra, depois a deconvolução (*deconvolution*) das cores, para ser separada a cor marrom do corante revelador da imunomarcação. Feita essa etapa foi quantificada a área marcada de cartilagem, obteve-se um valor percentual dessa área.

Os testes estatísticos usados foram o U de Mann-Whitney para observar a normalidade da amostra e testar a heterogeneidade de duas amostras ordinais e o t de Student para observar a significância estatística entre os grupos.

Resultados

As lâminas descalcificadas, coradas e marcadas com imunohistoquímica mostraram a presença de metaloproteases (MMP) 3 e 13 em menor quantidade nos grupos PR e S (fig. 1) quando comparados com o grupo controle P (placebo) (fig. 2). Em relação aos inibidores teciduais de metaloproteases (TIMP)



Figura 2 – Fotomicrografia de corte histológico de cartilagem articular imunomarcada de MMP 3- Placebo.

Tabela 1 – Comparação do grupo P versus S para MMP13

	S MMP13	P MMP13
Média	1,491	2,931
Variância	0,124832222	0,35641
Observações	10	10
Hipótese de diferença de média	0	
gl	15	
Stat t	-6,564182248	
P(T <= t) unicaudal	4,48725E-06	
t crítico unicaudal	1,753050356	
P(T <= t) bicaudal	8,9745E-06	
t crítico bicaudal	2,131449546	
Teste T, duas amostras com variâncias desiguais.		

Tabela 2 – Comparação do grupo P versus PR para MMP13

	P MMP13	PR MMP13
Média	2,931	1,414
Variância	0,35641	0,187671111
Observações	10	10
Hipótese de diferença de média	0	
Gl	16	
Stat t	6,503599012	
P(T <= t) unicaudal	3,6375E-06	
t crítico unicaudal	1,745883676	
P(T <= t) bicaudal	7,275E-06	
t crítico bicaudal	2,119905299	
Teste T, duas amostras com variâncias desiguais.		

1 e 3 houve um aumento nos grupos PR e S em relação ao grupo P; todas essas evidências apresentaram diferenças estatísticas significativas.

Na comparação entre os grupos PR e S na medição da quantidade de MMPs e TIMPs ocorreram aumento das TIMPs e diminuição das MMPs no grupo PR, obteve-se uma leve tendência de maior condroproteção ao grupo PR, porém sem diferença estatística significativa entre os dois grupos.

A avaliação da intensidade de coloração dos cortes histológicos corados e imunomarcados feita pelo aparelho de microscopia Zeiss Imager Z2 Metasystems gerou resultados dispostos em tabelas e gráficos. As tabelas referentes à comparação do grupo P com os grupos S e PR das MMPs (3 e 13) são as [tabelas 1 e 2](#) e as TIMPs (1 e 3) são as [tabelas 3-6](#); e

Tabela 4 – Comparação do grupo P versus PR para TIMP 1

	P TIMP1	PR TIMP1
Média	1,017	3,032
Variância	0,091734444	0,189884444
Observações	10	10
Hipótese de diferença de média	0	
Gl	16	
Stat t	-12,00726678	
P(T <= t) unicaudal	1,01975E-09	
t crítico unicaudal	1,745883676	
P(T <= t) bicaudal	2,0395E-09	
t crítico bicaudal	2,119905299	
Teste T, duas amostras com variâncias desiguais.		

Tabela 5 – Comparação do grupo P versus S para TIMP 3

	S TIMP 3	P TIMP3
Média	4,82	2,15
Variância	3,798888889	2,234444444
Observações	9	9
Hipótese de diferença de média	0	
gl	15	
Stat t	4,039170415	
P(T <= t) unicaudal	0,000535294	
t crítico unicaudal	1,753050356	
P(T <= t) bicaudal	0,001070589	
t crítico bicaudal	2,131449546	
Teste T, duas amostras com variâncias desiguais.		

as [figuras 3-6](#) são representativas da intensidade real da coloração mensurada em cada grupo citado anteriormente: P-Placebo, PR-Polireumin® e S- Synvisc®.

Discussão

O ácido hialurônico (AH), um polissacarídeo do grupo glicosaminoglicanos de alta viscosidade, é usado na prática médica há mais de 50 anos. Essa substância contribui para a homeostase da articulação e tem seu peso molecular de aproximadamente 0,5 - 3 x 10⁹ Da, na articulação normal, e apresenta-se em menor concentração e com peso molecular

Tabela 3 – Comparação do grupo P versus S para TIMP 1

	S TIMP1	P TIMP1
Média	3,227	1,017
Variância	0,376467778	0,091734444
Observações	10	10
Hipótese de diferença de média	0	
Gl	13	
Stat t	10,21352223	
P(T <= t) unicaudal	7,03657E-08	
t crítico unicaudal	1,770933396	
P(T <= t) bicaudal	1,40731E-07	
t crítico bicaudal	2,160368656	
Teste T, duas amostras com variâncias desiguais.		

Tabela 6 – Comparação do grupo P versus PR para TIMP 3

	PR TIMP 3	P TIMP 3
Média	3,901	2,14
Variância	0,860832222	0,631577778
Observações	10	10
Hipótese de diferença de média	0	
Gl	18	
Stat t	4,558429902	
P(T <= t) unicaudal	0,000121767	
t crítico unicaudal	1,734063607	
P(T <= t) bicaudal	0,000243534	
t crítico bicaudal	2,10092204	
Teste T, duas amostras com variâncias desiguais.		

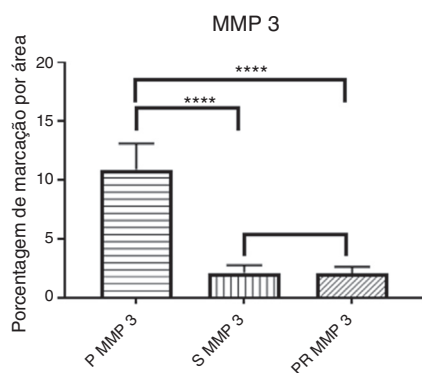


Figura 3 – Intensidade de imunomarcção de MMP3.

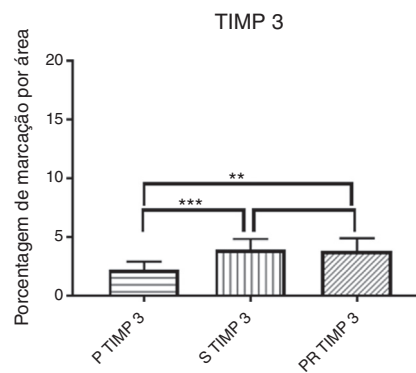


Figura 6 – Intensidade de imunomarcção de TIMP3.

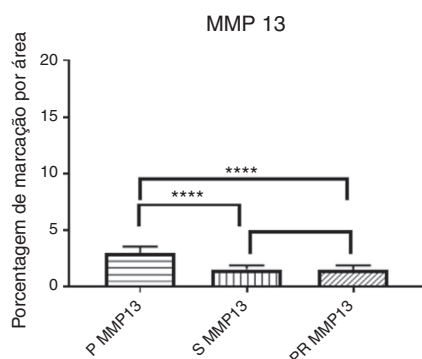


Figura 4 – Intensidade de imunomarcção de MMP13.

diminuído no líquido sinovial nas articulações que apresentavam osteoartrite.¹⁵

O pioneiro no conceito de viscosuplementação foi Balazs nos anos 1960. Ele acreditava que a viscosuplementação ideal teria como critérios específicos: a permeabilidade da substância, não ser imunogênico, ter peso molecular similar ao do líquido sinovial e uma meia vida longa.¹⁶ Infiltrações intra-articulares de diferentes ácidos hialurônicos são usadas como condroprotetores no tratamento da osteoartrite^{8,9,17} e em 1997 a Food and Drug Administration (FDA) aprovou nos EUA o uso do AH em infiltrações intra-articulares no joelho.

O mecanismo de ação do AH é objeto de inúmeros estudos, tem efeitos mecânicos na melhor distribuição de forças,

diminui a pressão pelo peso axial e melhora as funções reológicas do líquido sinovial.¹⁸

Estudos que comparam a eficiência dos ácidos hialurônicos de diferentes pesos moleculares foram publicados nas últimas décadas. Os dados obtidos são discrepantes devido a seus resultados e modos de avaliação, com leve predominância dos resultados positivos nos de maior peso molecular.¹⁹

Na prática clínica o ácido hialurônico de alto peso (Synvisc®) e o de baixo peso molecular (Polireumin®) apresentaram uma menor progressão do estreitamento do espaço articular em pacientes com o desenvolvimento de OA inicial.^{20,21} Observa-se uma preferência ao ácido hialurônico de alto peso molecular para o tratamento da osteoartrite com base em estudos como os feitos por Atamaz et al.²² e Wobig et al.,²³ que usaram pacientes com osteoartrite, compararam os ácidos hialurônicos de pesos moleculares diferentes com o placebo soro fisiológico, infiltrado de modo intra-articular. Neste estudo obtiveram-se resultados melhores com o uso dos ácidos hialurônicos de maior peso molecular; em critérios clínicos e não histológicos. Em metanálise feita por Altman et al.²⁴ esses dados também foram confirmados.

No entanto, segundo Karlsson et al.,²⁵ que estudaram ácidos hialurônicos de diferentes pesos moleculares em infiltrações intra-articulares em humanos com osteoartrite, não ocorreu diferença significativa entre os ácidos hialurônicos de pesos moleculares distintos em critérios clínicos e não histológicos.

Essas controvérsias levaram a este estudo, no qual se comparou o possível efeito condroprotetor de um hialuronato de alto peso molecular com outro de baixo peso. Para isto usou-se um modelo experimental de osteoartrite.

No presente estudo o manejo com os animais e a dissecação cirúrgica dos joelhos dos coelhos foi de fácil execução. A incisão da pele, a capsulotomia medial com visualização do ligamento cruzado anterior e sua transecção foram de modo rápido e prático. Os platôs dos joelhos submetidos a esse procedimento apresentaram sinais de lesão macroscópica evidente; principalmente os do grupo controle P (placebo-SF 0,9%).²⁶ Na sequência desse mesmo estudo foi feita a análise histológica com colorações específicas para proteoglicanos (azul de toluidina e alcian blue), o que demonstra o caráter condroprotetor dos AH, em relação ao placebo, porém sem alteração estatística significativa entre os AH de diferentes pesos moleculares.²⁷ A justificativa para a continuação do

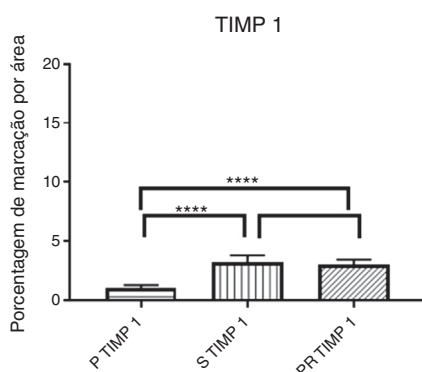


Figura 5 – Intensidade de imunomarcção de TIMP1.

estudo imuno-histoquímico foi aprofundar o conhecimento metabólico da osteoartrite e tentar descobrir suas relações com as principais MMPs e TIMPs e se o peso molecular dos AH difere no fator de condroproteção.

Os proteoglicanos são proteínas extracelulares ligadas a glicosaminoglicanos, têm a função de dar rigidez à matriz celular, resistem à compressão e preenchem espaços, são os principais componentes da cartilagem, atraem moléculas de água para o tecido. As metaloproteases (MMP) são enzimas destruidoras dos proteoglicanos e por consequência da estrutura cartilaginosa. Já as enzimas inibidoras teciduais de metaloproteases (TIMP) fazem um papel de inibição das metaloproteases, têm um papel condroprotetor importante. Devido à importância das MMP e das TIMP na fisiologia da cartilagem e por serem um fator de avaliação na osteoartrite, a dosagem das MMP-3 e MMP-13, TIMP-1 e TIMP-3, as principais envolvidas na osteoartrite, foi mensurada.^{28,29}

Os dados encontrados obtiveram conformidade com a literatura específica do assunto,^{18,29} as MMP-3 e MMP-13, apresentaram valores de coloração aumentados no grupo P (placebo - SF 0,9%) e as TIMP-1 e TIMP-3 valores diminuídos em relação aos demais grupos, demonstraram uma atividade catabólica aumentada, ou seja, uma destruição cartilaginosa em andamento. Nos grupos S (Synvisc®) e PR (Polireumin®) foi encontrada uma diminuição na coloração específica das MMP-3 e MMP-13 e um aumento das enzimas inibidoras das metaloproteases TIMP-1 e TIMP-3, o que sugere uma menor ação catabólica cartilaginosa. Com os dados encontrados a hipótese de os AH terem ação condroprotetor fica evidente.

Os valores numéricos da intensidade de coloração das MMP-3 e MMP-13 do grupo PR são maiores do que os do grupo S e os valores de TIMP-1 e TIMP-3 são menores, demonstram uma tendência de superioridade de condroproteção no grupo PR, porém ao comparar os valores de coloração encontrados nos grupos S e PR, não houve diferença estatística significativa na intensidade de coloração das lâminas imunomarcadas de MMPs e TIMPs dos joelhos infiltrados com ácido hialurônico de alto peso (Synvisc®), com as de "baixo" peso molecular (Polireumin®); portanto, não se pode afirmar superioridade no aspecto condroprotetor de um AH de baixo ou de alto peso molecular em relação ao outro.

A literatura que compara os diferentes pesos moleculares dos hialuronatos nesse modelo experimental é escassa. Shimizu et al.,³⁰ em um estudo feito em coelhos, concluíram que os ácidos hialurônicos de baixo peso molecular foram superiores aos de maior peso molecular. Não se encontrou nesse estudo a dose usada nas infiltrações para melhor comparação com o presente estudo.

Ghosh e Guidolin,³¹ que usaram o modelo experimental de transecção do ligamento cruzado anterior em cães, obtiveram melhores resultados com os ácidos hialurônicos de menor peso molecular. Os mesmos autores em um estudo *in vitro* encontraram melhores resultados com o uso de ácido hialurônico de maior peso molecular, contrariaram seus estudos em animais, pois seriam melhores estimuladores da produção de componentes da matriz celular, o que poderia ser parcialmente explicado devido ao fato de o ácido hialurônico de menor peso molecular penetrar na matriz extracelular mais facilmente, maximizar sua concentração e promover sua

interação com as células alvo da sinóvia. Além disso, há evidências de que a ligação das moléculas do ácido hialurônico com os receptores celulares é dependente do peso molecular.

Em resumo, neste estudo os dados encontrados confirmam os achados de Karlsson et al.,²⁵ que estudaram os efeitos dos hialuronatos de diferentes pesos moleculares em infiltrações intra-articulares em humanos com osteoartrite; o que indica não haver diferenças quanto ao peso molecular dos ácidos hialurônicos em relação à condroproteção.

A pesquisa apresenta limitações, como a não estimulação dos animais à marcha, os animais não estavam livres, restringiu-se a deambulação, a espessura menor da cartilagem do coelho em relação à espessura da cartilagem humana. No estudo de Guidolin, em que os animais analisados andavam, a deambulação com o joelho instável acarretava maior velocidade de progressão da OA.³¹

Na prática clínica o estudo tem como utilidade demonstrar o uso seguro e eficaz dos AH, independentemente do seu peso molecular, quanto a efeitos adversos e seu caráter condroprotetor nas OA leves e moderadas.

Conclusão

A injeção de solução salina demonstra sinais de desenvolvimento de OA enquanto que a adição de ácido hialurônico nativo de baixo peso molecular (Polireumin®) e ácido hialurônico de cadeia ramificada de alto peso molecular (Synvisc®) protegeu a cartilagem articular neste modelo de OA.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Hochberg MC. Osteoarthritis year 2012 in review: clinical. *Osteoarthritis Cartilage*. 2012;20(12):1465-9.
2. Neogi T, Zhang Y. Osteoarthritis prevention. *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23(2):185-91.
3. Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação [acesso em 20/01/2017]. Disponível em: www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/.
4. Lotz M. Osteoarthritis year 2011 in review: biology. *Osteoarthritis Cartilage*. 2012;20(3):192-6.
5. Rezende MU, Campos CG. Viscosuplementação. *Rev Bras Ortop*. 2012;47(2):160-4.
6. Zhang W, Nuki G, Moskowitz RW, Abramson S, Altman RD, Arden NK, et al. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis: part III: Changes in evidence following systematic cumulative update of research published through January 2009. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(4):476-99.
7. Itman RD, Moskowitz R, Hyalgan Study Group. Intraarticular sodium hyaluronate (Hyalgan) in the treatment of patients with osteoarthritis of the knee: a randomized clinical trial. *J Rheumatol*. 1998;25(11):2203-12.
8. Schiavinato A, Finesso M, Cortivo R, Abatangelo G. Comparison of the effects of intra-articular injections of Hyaluronan and its chemically cross-linked derivative (Hylan

- G-F20) in normal rabbit knee joints. *Clin Exp Rheumatol*. 2002;20(4):445-54.
9. Yoshimi T, Kikuchi T, Obara T, Yamaguchi T, Sakakibara Y, Itoh H, et al. Effects of high-molecular-weight sodium hyaluronate on experimental osteoarthrosis induced by the resection of rabbit anterior cruciate ligament. *Clin Orthop Relat Res*. 1994;298:296-304.
 10. Hulmes DJ, Marsden ME, Strachan RK, Harvey RE, McInnes N, Gardner DL. Intra-articular hyaluronate in experimental rabbit osteoarthritis can prevent changes in cartilage proteoglycan content. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004;12(3):232-8.
 11. Moskowitz RW. Experimental models of osteoarthritis. In: Altman RD, Buckwalter JA, Goldberg VM, Hochberg MC, editors. *Osteoarthritis: diagnosis and medical/surgical management*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 1992. p. 213-52.
 12. Sah RL, Yang AS, Chen AC, Hant JJ, Halili RB, Yoshioka M, et al. Physical properties of rabbit articular cartilage after transection of the anterior cruciate ligament. *J Orthop Res*. 1997;15(2):197-203.
 13. Infiltrações no aparelho locomotor: técnicas para realização com e sem o auxílio de imagem. Porto Alegre: Artmed; 2011.
 14. Adams ME, Atkinson MH, Lussier AJ, Schulz JI, Siminovitsh KA, Wade JP, et al. The role of viscosupplementation with hylan G-F 20 (Synvisc) in the treatment of osteoarthritis of the knee: a Canadian multicenter trial comparing hylan G-F 20 alone, hylan G-F 20 with non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and NSAIDs alone. *Osteoarthritis Cartilage*. 1995;3(4):213-25.
 15. Dahl LB, Dahl IM, Engström-Laurent A, Granath K. Concentration and molecular weight of sodium hyaluronate in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and other arthropathies. *Ann Rheum Dis*. 1985;44(12):817-22.
 16. Balazs EA, Denlinger JL. Viscosupplementation: a new concept in the treatment of osteoarthritis. *J Rheumatol Suppl*. 1993;39:3-9.
 17. Wang CT, Lin YT, Chiang BL, Lin YH, Hou SM. High molecular weight hyaluronic acid down-regulates the gene expression of osteoarthritis-associated cytokines and enzymes in fibroblast-like synoviocytes from patients with early osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006;14(12):1237-47.
 18. Sasaki A, Sasaki K, Konttinen YT, Santavirta S, Takahara M, Takei H, et al. Hyaluronate inhibits the interleukin-1beta-induced expression of matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-3 in human synovial cells. *Tohoku J Exp Med*. 2004;204(2):99-107.
 19. Lo GH, LaValley M, McAlindon T, Felson DT. Intra-articular hyaluronic acid in treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis. *JAMA*. 2003;290(23):3115-21.
 20. Jubb RW, Piva S, Beinat L, Dacre J, Gishen P. A one-year, randomised, placebo (saline) controlled clinical trial of 500-730 kDa sodium hyaluronate (Hyalgan) on the radiological change in osteoarthritis of the knee. *Int J Clin Pract*. 2003;57(6):467-74.
 21. Wang Y, Hall S, Hanna F, Wluka AE, Grant G, Marks P, et al. Effects of Hylan G-F 20 supplementation on cartilage preservation detected by magnetic resonance imaging in osteoarthritis of the knee: a two-year single-blind clinical trial. *BMC Musculoskelet Disord*. 2011;12:195.
 22. Atamaz F, Kirazli Y, Akkoc Y. A comparison of two different intra-articular hyaluronan drugs and physical therapy in the management of knee osteoarthritis. *Rheumatol Int*. 2006;26(10):873-8.
 23. Wobig M, Bach G, Beks P, Dickhut A, Runzheimer J, Schwieger G, et al. The role of elastoviscosity in the efficacy of viscosupplementation for osteoarthritis of the knee: a comparison of hylan G-F 20 and a lower-molecular-weight hyaluronan. *Clin Ther*. 1999;21(9):1549-62.
 24. Altman RD, Bedi A, Karlsson J, Sancheti P, Schemitsch E. Product differences in intra-articular hyaluronic acids for osteoarthritis of the knee. *Am J Sports Med*. 2016;44(8):2158-65.
 25. Karlsson J, Sjögren LS, Lohmander LS. Comparison of two hyaluronan drugs and placebo in patients with knee osteoarthritis. A controlled, randomized, double-blind, parallel-design multicentre study. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(11):1240-8.
 26. Albano MB, Vidigal L, de Oliveira MZ, Namba MM, da Silva JL, Pereira Filho FA, et al. Macroscopic analyses of the effects of hyaluronates and corticosteroids on induced osteoarthritis in rabbits' knees. *Rev Bras Ortop*. 2015;45(3):273-8.
 27. Oliveira MZ, Albano MB, Namba MM, Cunha LAM, Gonçalves RRL, Trindade ES, et al. Efeito de ácidos hialurônicos como condroprotetores em modelo experimental de osteoartrose. *Rev Bras Ortop*. 2014;49(1):62-8.
 28. Mero A, Campisi M, Favero M, Barbera C, Secchieri C, Dayer JM, et al. A hyaluronic acid-salmon calcitonin conjugate for the local treatment of osteoarthritis: chondro-protective effect in a rabbit model of early OA. *J Control Release*. 2014;187:30-8.
 29. Takahashi K, Goomer RS, Harwood F, Kubo T, Hirasawa Y, Amiel D. The effects of hyaluronan on matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), interleukin-1beta(IL-1beta), and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) gene expression during the development of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 1999;7(2):182-90.
 30. Shimizu C, Kubo T, Hirasawa Y, Coutts RD, Amiel D. Histomorphometric and biochemical effect of various hyaluronans on early osteoarthritis. *J Rheumatol*. 1998;25(9):1813-9.
 31. Ghosh P, Guidolin D. Potential mechanism of action of intra-articular hyaluronan therapy in osteoarthritis: are the effects molecular weight dependent? *Semin Arthritis Rheum*. 2002;32(1):10-37.