

Comparação de três métodos de imagem para análise da evolução da osteoartrite induzida pela ruptura do ligamento cranial em coelhos

Comparison of Three Imaging Methods for the Evaluation of Osteoarthritis Induced by Cranial Cruciate Ligament Transection in Rabbits

Giovanna Cristina Brombini¹, Sheila Canevese Rahal¹, Ivan Felismino Charas dos Santos¹, Maria Jaqueline Mamprim¹, Miriam Tsunemi², Jeana Pereira da Silva¹, Danuta Pulz Doiche¹ & Jean Guilherme Fernandes Joaquim¹

ABSTRACT

Background: Osteoarthritis is a degenerative joint disease that affects specially cartilage, meniscus, and tendons. Ligaments, muscles, subchondral bone and synovium. This pathology is a common condition limiting the quality of life of patients. Imaging modalities have also been used for evaluation the progression of the osteoarthritis, or degenerative processes induced by acute injury. In order to use more accessible imaging modalities for experimentation, this study aimed to compare radiographic, computed tomography, and ultrasound findings in the evaluation of osteoarthritis induced by the cranial cruciate ligament transection model in rabbits.

Materials, Methods & Results: Twenty-four male Norfolk rabbits aged approximately 5 months old were used. All rabbits were submitted to cranial cruciate ligament transection of the left stifle and evaluated 45 days after the surgery. The radiographic findings were subchondral bone sclerosis (33.33%); joint space narrowing (66%); presence of osteophytes at medial femoral condyle (4.16%), lateral femoral condyle (4.16%), medial fabela (20.83%), lateral fabela (8.33%) and sesamoid of the popliteal muscle (4.16%). No osteophytes were seen at medial and lateral tibial condyles. The tomographic computed findings were joint space narrowing (62.5%); presence of osteophytes at medial femoral condyle (75%), lateral femoral condyle (54.16%), medial fabela (66.66%), lateral fabela (37.5%), medial tibial condyle (75%), lateral tibial condyle (20.83%) and sesamoid of the popliteal muscle (37.5%). The ultrasound findings were synovial hypertrophy (95.83%); effusion in the suprapatellar recess (75%), distal tibial recess (16.66%) and cranial joint space (75%); changes (hyperechogenic foci and heterogeneity) of the lateral meniscus (50%) and medial meniscus (25%); increased thickness of the medial condyle (54.16%) and lateral condyle (45.83%); irregularity of the medial condyle (66.66%) and lateral condyle (58.33%); alterations of the patellar tendon (12.5%) and extensor ligament (effusion and increased echogenicity) (20.83%).

Discussion: Osteoarthritis is a degenerative joint disease and is common condition which limiting the quality of life of patients. Many studies performed in rabbits have evaluated the development of osteoarthritis through post-mortem macroscopic or microscopic assessments. Imaging modalities have also been used for evaluation the progression of the osteoarthritis, or degenerative processes induced by acute injury. High quality radiographs are accurate in identifying structural changes resulted from osteoarthritis, but computed tomography allows earlier identification in relation to conventional radiography. The three imaging modalities were helpful to identify the osteoarthritis, but the findings were different and compatible with each analysis method. The computed tomographic detected a higher number of osteophytes than plain radiographs. Also, osteophytes did not visualized by radiographic examination, such as medial tibial condyle and lateral tibial condyle, were identified by computed tomography. In turn, the ultrasound examination enabled identification of lesions did not seen on radiographic and computed tomography examinations. Synovial hypertrophy and joint effusion had the highest percentage. In human patients, ultrasound examination has been used to assess hypertrophy and inflammation of the synovium due to osteoarthritis. In conclusion, computerized tomography images provided more information than plain X-ray images and can be complemented by ultrasound examination to identify osteoarthritis induced by cranial cruciate ligament transection in rabbits.

Keywords: computed tomography, joint disease, radiographic, stifle, ultrasound.

Descritores: tomografia computadorizada, doença articular, radiografia, joelho, ultrassom.

DOI: 10.22456/1679-9216.107645

Received: 8 November 2020

Accepted: 27 February 2021

Published: 28 March 2021

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) & ²Instituto de Biociências (IBB), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, SP, Brazil. CORRESPONDENCE: G.C. Brombini [giovannacrisvet@gmail.com]. FMVZ - Unesp. Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa s/n. CEP 18618-681 Botucatu, SP, Brazil.

INTRODUÇÃO

A osteoartrite é uma doença articular degenerativa promovendo lesões principalmente na cartilagem, osso subcondral e sinóvio [14,18,23]. Existem evidências que a osteoartrite seja multifatorial, em que a inflamação tem um papel chave e reflete nos sinais clínicos de tumefação articular, dor e calor [2,4]. A perda da estrutura articular com dano progressivo à cartilagem também está presente na osteoartrite, incluindo esclerose subcondral, formação de osteófitos, hipertrofia óssea marginal, bem como alterações da membrana sinovial, o que consequentemente produz dor, afeta a função e diminui a qualidade de vida [1,18,20,23,28].

Geralmente a osteoartrite é primária, cuja a degeneração articular não tem uma causa aparente, quando secundária é associada principalmente a um evento traumático [1,20,23]. A obesidade, gênero, genética, idade, estresse biomecânico, entre outros, são fatores de risco para o desenvolvimento da osteoartrite [1,18,23, 27].

O coelho tem sido empregado como modelo experimental para a indução de osteoartrite e sua compreensão, seja pela imobilização articular [3,9,22,24,26,30] ou por técnicas cirúrgicas [5,12,13,21,25,26,29,30,32]. A maioria dos estudos experimentais em coelhos avaliam a progressão da osteoartrite por meio das avaliações macroscópicas ou microscópicas post mortem [12,13,21,25,26,29,32] e por modalidades de diagnóstico por imagem, tais como ultrassom, radiografia, tomografia e ressonância magnética [5,7,8,15,30,31].

O presente estudo tem como objetivo comparar as imagens radiográficas, tomográficas e ultrassonográficas na avaliação da osteoartrite induzida pelo modelo de transecção do ligamento cruzado cranial em coelhos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento experimental

Foram utilizados 24 coelhos da raça Norfolk linhagem Botucatu, machos, massa corpórea entre 3,7 e 4,9 kg ($4,2 \pm 0,30$ kg) e 5 meses de idade, os quais foram alojados em gaiolas individuais e com água e ração específica para a espécie *ad libitum*.

Todos os coelhos foram submetidos à secção do ligamento cruzado cranial do joelho esquerdo, conforme previamente descrito [32]. Após a anestesia com associação de cloridrato de cetamina [Cetamin^{®1} 10% - 50 mg/kg] e cloridrato de xilazina [Anasedan^{®2} - 1 mg/kg - via intramuscular (IM)], realizou-se a ar-

trotomia medial e secção do ligamento cruzado cranial. A cápsula articular foi suturada em padrão contínuo simples, seguido de aproximação de tecido subcutâneo, com emprego de fio poliglactina 3-0³. Para a síntese da pele, foi utilizado o fio de sutura polipropileno 3-0³ em pontos isolados simples. No período pré-operatório imediato e após 12 h de pós-operatório, foi administrado ceftriaxona⁴ [50 mg/kg - via IM]. Os coelhos também receberam cloridrato de tramadol [Tramadol^{®5} - 2 mg/kg, via subcutânea (SC), a cada 8 h por 3 dias].

Crerios de avaliação

Todos os coelhos foram submetidos a exames radiográficos, tomográficos e ultrassonográficos para confirmar a higidez articular, e 45 dias após o procedimento cirúrgico, sob o mesmo protocolo anestésico. (Figuras 1, 2 e 4).

Para a realização dos exames radiográficos do joelho esquerdo, os coelhos foram posicionados em decúbito ventral com os membros estendidos para a projeção caudocranial, baseado no previamente descrito [8], seguido do posicionamento em decúbito lateral para a projeção médio-lateral. Empregou-se aparelho radiográfico digital⁶, com distância de foco-filme de 90 cm, 8 mAs, 46 Kv. Foram estabelecidos escores, com base no estabelecido para coelhos [8], sendo avaliados os compartimentos medial e lateral, como segue: espaço articular (0 = normal, 1 = pouco reduzido, 2 = moderadamente reduzido, 3 = severamente reduzido); osteófitos no cndilo tibial, no cndilo femoral, fabela medial, fabela lateral e sesamóide do poplíteo (0 = ausente, 1 = leve, 2 = moderado, 3 = severo); e esclerose do osso subcondral.

Para o exame de tomografia computadorizada utilizando o tomógrafo⁷, os coelhos foram mantidos em decúbito ventral, estando os membros pélvicos mantidos em extensão. O protocolo utilizado foi de 120 kVp e 100 mA, e tempo de rotação de 1 s. Foram realizados cortes transversais de 1 mm de espessura, iniciando do terço distal do fêmur até a porção proximal da tibia. Com o uso do software Voxar Workstation 6.3⁸, as imagens foram reconstruídas em 3D nos planos dorsal e sagital. Os compartimentos medial e lateral foram analisados, por meio de escores, como segue: osteófitos no cndilo femoral medial, cndilo femoral lateral, cndilo tibial medial, cndilo tibial lateral, fabela medial, fabela lateral e sesamóide do poplíteo (0 = ausente, 1 = leve, 2 = moderado, 3 = severo); espaço articular (0 = normal, 1 = pouco reduzido, 2 = moderadamente reduzido, 3 = severamente reduzido).

Os exames ultrassonográficos dos joelhos foram realizados com os coelhos em decúbito dorsal. Após a tricotomia e aplicação do gel acústico, os exames foram realizados em planos sagital e transversal. Foram analisados os tecidos moles periarticulares, cápsula articular, membrana sinovial, margem articular e superfície do tecido ósseo. Empregou-se aparelho de

ultrassonografia⁶ com transdutor linear multifrequencial na frequência de 10 MHz.

Análise estatística

Os dados foram apresentados por análise descritiva, cuja as frequências dos dados foram distribuídas pelas porcentagens.

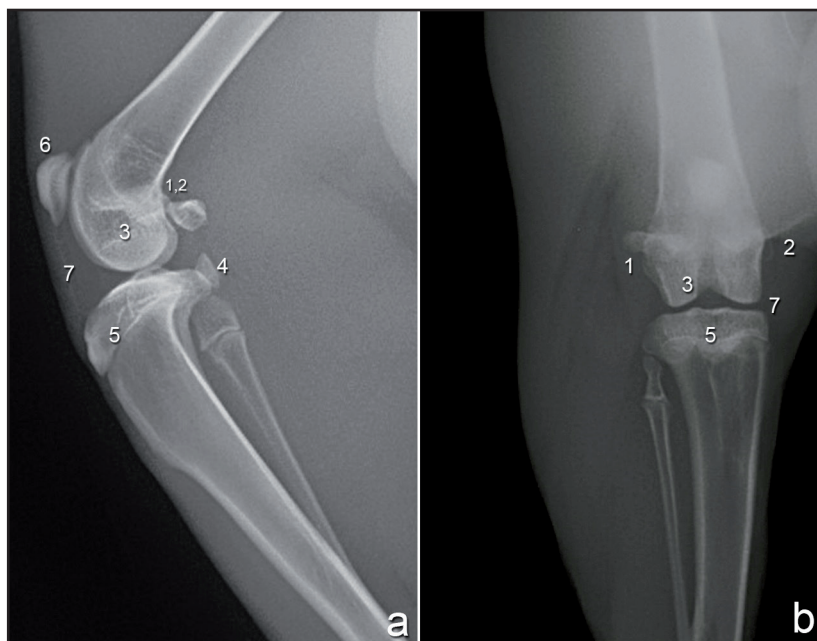


Figura 1. Imagens radiográficas médio-lateral (a) e caudocranial (b) do joelho esquerdo de um coelho com articulação normal. Observa-se: Fabela lateral (1), Fabela medial (2), Côndilo femoral (3), Sesamóide do músculo poplíteo (4), Tíbia (5), Patela (6), Espaço articular (7).

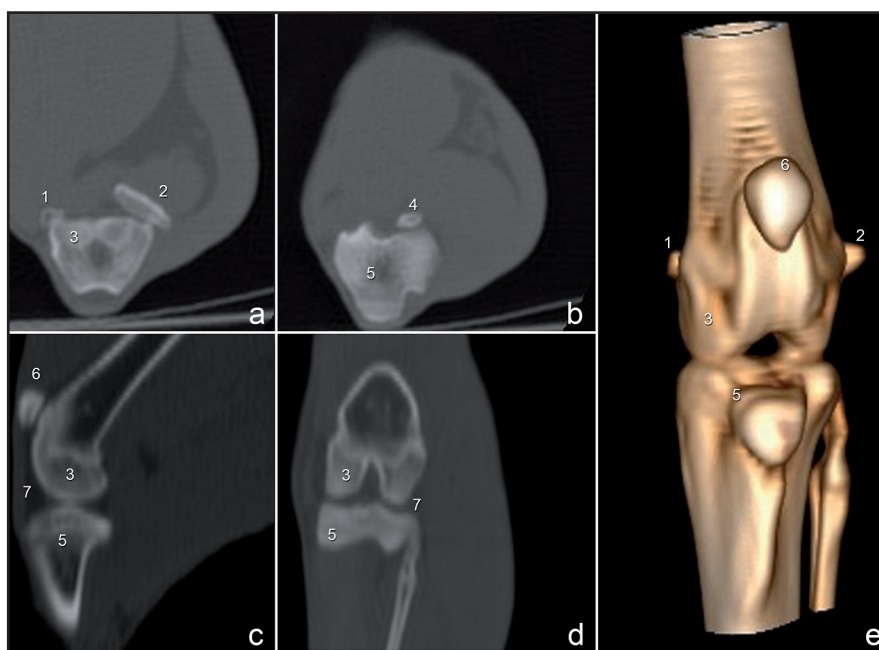


Figura 2. Imagens tomográficas nos planos axial (a,b), sagital (c), dorsal (d) e na reconstrução tridimensional (e) do joelho esquerdo de um coelho com articulação normal. Observa-se: Fabela medial (1), Fabela lateral (2), Côndilo femoral (3), Sesamóide do músculo poplíteo (4), Tíbia (5), Patela (6), Espaço articular (7).

RESULTADOS

Os resultados dos exames radiográficos (Figura 3) foram: esclerose do osso subcondral - 33,33% (8/24); redução do espaço articular - 66% (16/24; n = 13, leve; n = 2, moderada; n = 1, severa); osteófitos no côndilo femoral medial - 4,16% (1/24; n = 1, leve); osteófitos no côndilo femoral lateral - 4,16% (1/24; n = 1, leve); osteófitos na fabela medial - 20,83% (5/24; n = 5, leve); osteófitos na fabela lateral - 8,33% (2/24; n = 2, leve); osteófitos no sesamóide do músculo poplíteo - 4,16% (1/24; n = 1, leve). Não foram visibilizados osteófitos nos côndilos tibial medial e lateral. Adicionalmente, foram identificados: edema periarticular - 20,83% (5/24); efusão sinovial - 33,33% (8/24); subluxação da articulação do joelho com rotação tibial - 4,16% (1/24).

Nas imagens tomográficas foram visibilizadas (Figura 3) redução do espaço articular articulação - 62,5% (15/24); osteófitos no côndilo femoral medial - 75% (18/24; n = 9, leve; n = 6, moderado; n = 3, severo); osteófitos no côndilo femoral lateral - 54,16% (13/24; n = 10, leve; n = 3, moderado); osteófitos na fabela medial - 66,66% (16/24; n = 8, leve; n = 5, moderado; n = 3, severo); osteófitos na fabela lateral - 37,5% (9/24; n = 7, leve; n = 2, moderado); osteófitos no côndilo tibial medial - 75% (18/24; n = 12, leve; n = 4, moderado; n = 2, severo); osteófitos no côndilo tibial lateral - 20,83% (5/24; n = 3, leve; n = 2, moderado); osteófitos no sesamóide do músculo poplíteo - 37,5% (9/24; n = 8, leve; n = 1, moderado). Além disto, foram visibilizados: edema periarticular - 50% (12/24); efusão 16,66% (4/24); atrofia muscular - 54,16% (13/24; n = 6, leve; n = 2, moderado; n = 5, severo); osteófitos na patela - 29,16% (7/24); subluxação da articulação do joelho com rotação tibial - 4,16% (1/24).

Os resultados dos exames ultrassonográficos (Figura 5) incluíram hipertrofia sinovial - 95,83% (23/24); efusão no recesso supratelar - 75% (18/24), efusão no recesso tibial distal - 16,66% (4/24), efusão no espaço articular distal - 75% (18/24); alterações (focos hiperecogênicos e heterogeneidade) do menisco lateral - 50% (12/24) e do menisco medial - 25% (6/24); aumento da espessura do côndilo medial - 54,16% (13/24); aumento da espessura do côndilo lateral - 45,83 (11/24); irregularidade do côndilo me-

dial - 66,66% (16/24) e do côndilo lateral - 58,33% (11/24); alteração do tendão patelar - 12,5% (3/24); alteração no ligamento extensor (efusão e aumento de ecogenicidade) - 20,83% (5/24).

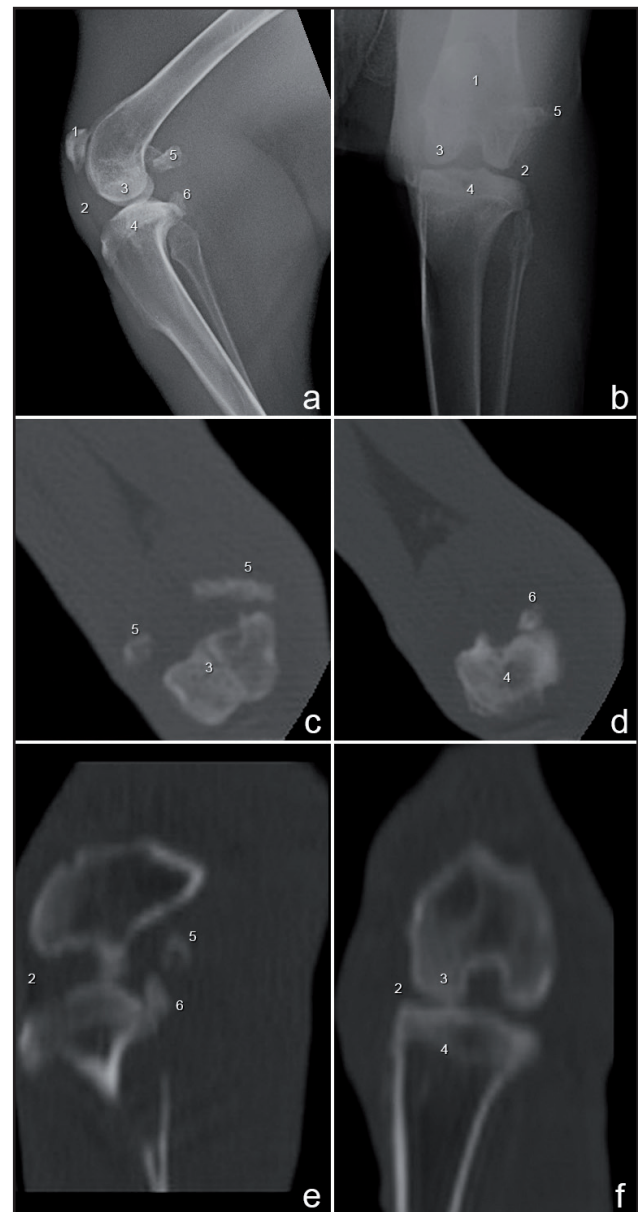


Figura 3. Imagens radiográficas (a,b) e tomográficas nos planos axial (c,d), sagital (e) e dorsal (f) do joelho esquerdo de um coelho com osteoartrite (45 dias após a secção do ligamento cruzado cranial). Observa-se: efusão sinovial, diminuição do espaço articular, esclerose do osso subcondral, discreto osteófito nas fabelas lateral e medial do músculo gastrocnêmio. Patela (1); Espaço articular (2); Côndilos femorais (3); Tibia (4); Fabelas (5) e Sesamóide do músculo poplíteo (6).

DISCUSSÃO

Os exames de imagem possibilitaram a identificação da osteoartrite, porém ocorreu variações entre os tipos de imagens, compatível com a abrangência de possibilidade de análise de cada método de diagnóstico.

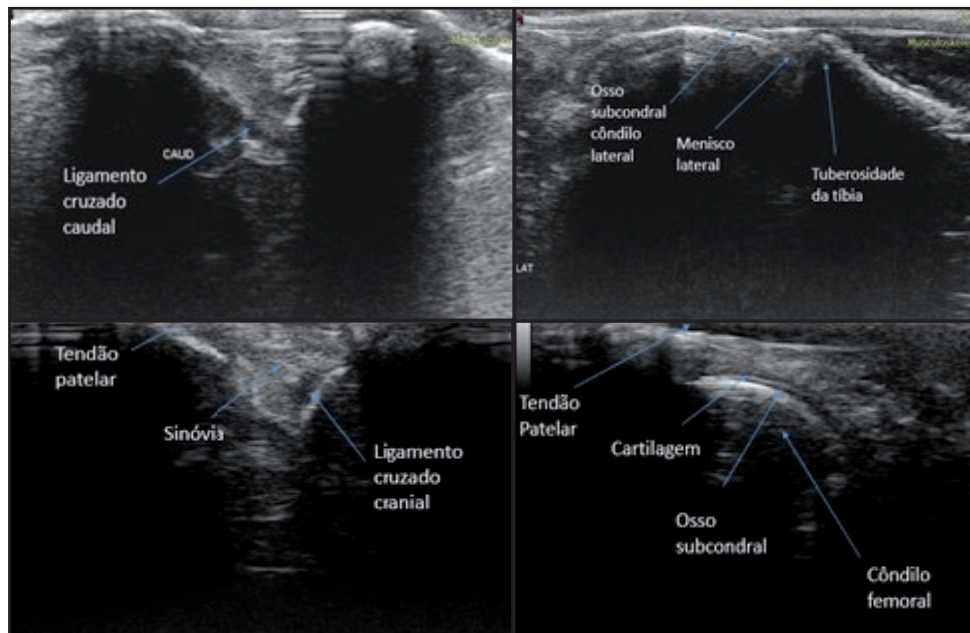


Figura 4. Imagens ultrassonográficas do joelho esquerdo de um coelho com articulação normal. Observa-se: ligamentos cruzados caudal e cranial, tendão patelar, sinóvia, cõndilos femorais, menisco, tuberosidade da tíbia e osso subcondral.

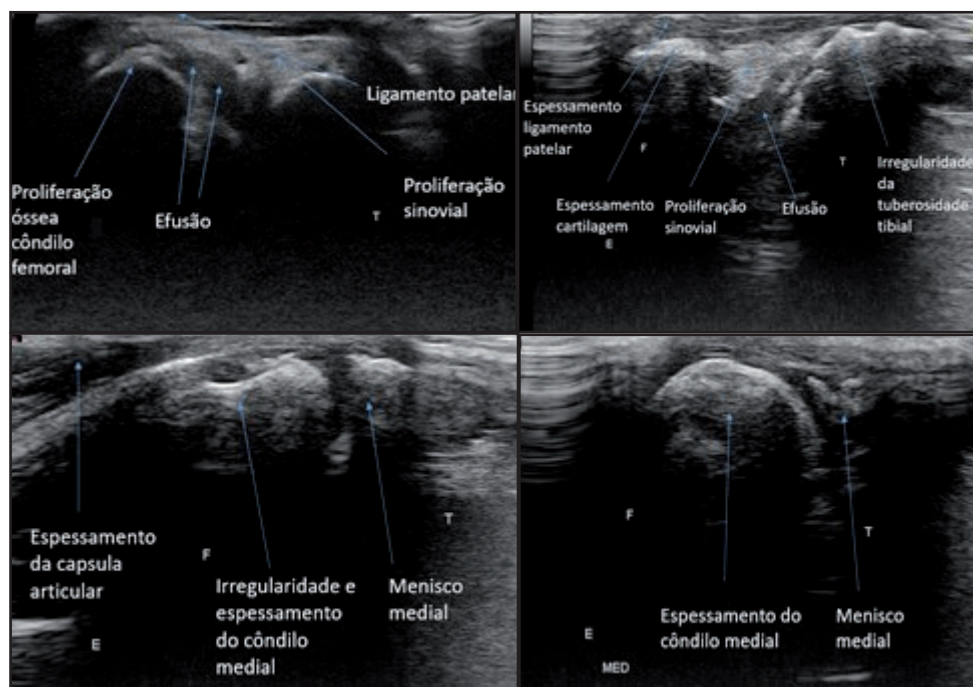


Figura 5. Imagens ultrassonográficas do joelho esquerdo de um coelho com osteoartrite (45 dias após a secção do ligamento cruzado cranial). Observa-se: efunção, hipertrofia sinovial, proliferação óssea em cõndilo femoral, ligamento patelar, irregularidade da tuberosidade tibial, espessamento do ligamento patelar e da cápsula articular, e borda do menisco medial.

No presente estudo adotou-se o padrão de radiografia com o joelho estendido sem suporte de peso, em incidência caudocranial, como previamente descrito para determinar uma escala semi-quantitativa de

evolução da osteoartrite em coelhos [8]. Em pacientes humanos, o exame radiográfico do joelho geralmente é realizado em extensão, enquanto o indivíduo suporta peso, porém radiografias com o joelho em flexão tam-

bém podem ser efetuadas para melhorar a visibilização intra-articular [1]. O posicionamento em flexão total não foi possível no atual estudo em virtude da limitação articular associada à gravidade da osteoartrite, aos 45 dias da secção do ligamento cruzado cranial. Contudo, um estudo sobre a progressão da osteoartrite em coelhos, após a secção do ligamento cruzado cranial, mostrou que a lesão é mais vagarosa entre três e seis semanas, comparada ao período de 9 e 12 semanas [10].

No exame radiográfico foram avaliados, tanto no compartimento medial como lateral, o espaço articular, a presença de osteófitos e a esclerose do osso subcondral, como já previamente descrito em coelhos para análise apenas do compartimento medial [8]. Foi citado que a carga no joelho de coelhos ocorre principalmente no compartimento lateral [11], o que ressalta a importância da análise deste compartimento. O fato se confirmou no presente estudo visto que foram visibilizadas osteófitos nos côndilos femorais medial e lateral, bem como nas fabelas medial e lateral.

As alterações radiográficas que foram quantificadas no atual estudo apresentaram algumas similaridades com os achados radiográficos que auxiliam na identificação da osteoartrite em pacientes humanos, tais como estreitamento do espaço articular, efusões sinoviais, presença de osteófitos, esclerose subcondral e cistos, achatamento da superfície [1,20,27]. Contudo, uma das limitações dos exames radiográficos simples para pacientes humanos refere-se à incapacidade em identificar o dano condral precoce [1]. A esclerose do osso subcondral foi verificada no presente estudo em 33,33% dos coelhos. Vale citar que em estudo sistemático relativo ao modelo de indução da osteoartrite por secção do ligamento cruzado cranial foi observado que em coelhos há alteração simultânea do osso subcondral e cartilagem [11].

Alguns estudos em pacientes humanos têm relatado correlação fraca entre a dor e os encontros radiográficos, desde que aqueles com alterações radiográficas avançadas não têm mostrado sintomas de dor, ao passo que alguns com dor não demonstraram sinais radiográficos de osteoartrite [27]. Em coelhos, esta premissa precisaria ser avaliada em futuros estudos.

Os osteófitos foram visibilizados nos côndilos femoral medial (4,16%) e lateral (4,16%). A formação de osteófitos está associada com a proliferação de células periosteais na margem articular, as quais se diferenciam em condrócitos que sofrem hipertrofia e, na sequência, um processo de ossificação endocondral [17].

Vale referir que em estudo radiográfico em coelhos, a menor concordância entre os avaliadores foi associada a presença de osteófitos no côndilo femoral medial [8].

Ao se correlacionar os achados radiográficos com os tomográficos observa-se a identificação de um maior número de osteófitos e em localizações não identificadas pelo exame radiográfico, tais como no côndilo tibial medial e côndilo tibial lateral. Da mesma forma, em estudo com osteoartrite promovida pela secção do ligamento cruzado cranial em coelhos, a tomografia computadorizada apresentou a maior sensibilidade (90%) e especificidade (91%) para detectar osteófitos [6]. Além disto, em estudo com osteoartrite, induzida por meio de imobilização do joelho em extensão em coelhos jovens, foi observado que o exame radiográfico e a tomografia foram mais sensíveis que a ressonância magnética ao se comparar com os achados macroscópicos, o que foi atribuído a baixa potência do equipamento (0,5 Tesla), tendo sido detectado osteófitos, lesões osteocondrais, aumento e diminuição do espaço articular [30]. Vale citar que os achados tomográficos e radiográficos podem variar de acordo com o modelo experimental de indução da osteoartrite, idade do coelho e tempo de evolução da lesão. Além disso, exames com microtomografia permitem outros tipos de análise [5,16] comparada a tomografia computadorizada comum.

A redução do espaço articular foi detectada tanto nos exames radiográficos como tomográficos, em número quase similar. Segundo estudo radiográfico em coelhos, com cinco meses de secção do ligamento cruzado cranial, a avaliação do espaço articular medial promoveu a maior confiabilidade e reprodutibilidade [8].

Por sua vez, o exame ultrassonográfico permitiu identificar lesões em estruturas não observadas pelos exames radiográficos e tomográficos. A hipertrofia sinovial (95,83%) e as efusões, tanto no recesso suprapatelar (75%) como no espaço articular cranial (75%), foram os achados em maior porcentagem. Em pacientes humanos o exame ultrassonográfico tem sido usado para avaliar o sinóvio tanto para hipertrofia como para a inflamação decorrente da osteoartrite [1]. Além disto, tem sido citado que a técnica de ultrassom doppler permite avaliação indireta da progressão da sinovite com a avaliação da vascularização [27]. Contudo, esta não foi aplicada no atual estudo.

Foram também identificadas pelo exame ultrassonográfico lesões tanto no menisco lateral (50%) como no medial (25%), caracterizadas por focos hipe-

recogênicos e heterogeneidade, porém sem sinais de ruptura. Estes resultados diferiram de um estudo com secção do cruzado cranial em coelhos, no qual macroscopicamente e histologicamente o menisco medial foi mais afetado que o menisco lateral [19]. Um estudo ultrassonográfico que avaliou o joelho de coelhos cinco meses após a secção do cruzado cranial, considerou este método de imagem 92% sensitivo e 87,5% específico comparado a avaliação macroscópica [7].

As outras lesões visibilizadas no exame ultrassonográfico, tais como alterações do tendão patelar (12,5%) e ligamento extensor (20,8%), ilustraram a extensão das lesões decorrentes da osteoartrite.

CONCLUSÃO

A tomografia computadorizada fornece mais informações sobre alterações articulares que o exame radiográfico na osteoartrite induzida pela secção do ligamento cruzado cranial em coelhos, podendo ser complementada pelo exame ultrassonográfico.

MANUFACTURERS

¹Syntec do Brasil. Barueri, SP, Brazil.

²Ceva Saúde Animal Ltda. Paulínia, SP, Brazil.

³Shalon Sutura. São Luís de Montes Belos, GO, Brazil.

⁴Eurofarma Laboratórios Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

⁵Laboratório Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda. Londrina, PR, Brazil.

⁶GE Healthcare. Little Chalfont, UK.

⁷Shimadzu Corporation. Kyoto, Japan.

⁸Software Voxar Workstation. Houston, TX, USA.

Acknowledgements. We thanks to CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel) to provide PhD Scholarship.

Ethical approval. This study was approved by the Ethics Committee for the Use of Animals of School of Veterinary Medicine and Animal Science, Unesp Botucatu (n°. 0011/2017).

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content of the paper.

REFERENCES

- 1 **Abramoff B. & Caldera F.E. 2020.** Osteoarthritis: Pathology, Diagnosis, and Treatment Options. *The Medical clinics of North America*. 104: 293-311. doi: 10.1016/j.mcna.2019.10.007
- 2 **Ahmad N., Ansari M.Y. & Haqqi T.M. 2020.** Role of iNOS in osteoarthritis: Pathological and therapeutic aspects. *Journal of Cellular Physiology*. 235: 6366-6376. doi: 10.1002/jcp.29607
- 3 **Albano M.B., Vidigal L., Oliveira M.Z., Namba M.M., Silva J.L., Pereira Filho F.A., Barbosa M.A. & Silva E.M. 2015.** Macroscopic analyses of the effects of hyaluronates and corticosteroids on induced osteoarthritis in rabbits' knees. *Revista Brasileira de Ortopedia*. 45: 273-278. doi: 10.1016/S2255-4971(15)30368-2
- 4 **Ayhan E., Kesmezacar H. & Akgun I. 2014.** Intraarticular injections (corticosteroid, hyaluronic acid, platelet rich plasma) for the knee osteoarthritis. *World Journal of Orthopedics*. 5: 351-361.
- 5 **Batiste D.L., Kirkley A., Laverty S., Thain L.M., Spouge A.R., Gati J.S., Foster P.J. & Holdsworth D.W. 2004.** High-resolution MRI and micro-CT in an *ex vivo* rabbit anterior cruciate ligament transection model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 12: 614-626. doi: 10.5312/wjo.v5.i3.351
- 6 **Bouchgua M., Alexander K., d'Anjou M.A., Girard C.A., Carmel E.N., Beauchamp G., Richard H. & Laverty S. 2009.** Use of routine clinical multimodality imaging in a rabbit model of osteoarthritis--part I. *Osteoarthritis and cartilage*. 17: 188-196. doi: 10.1016/j.joca.2008.06.017
- 7 **Boulocher C., Duclos M.E., Arnault F., Roualdes O., Fau D., Hartmann D.J., Roger T., Vignon E. & Viguier E. 2008.** Knee joint ultrasonography of the ACLT rabbit experimental model of osteoarthritis: relevance and effectiveness in detecting meniscal lesions. *Osteoarthritis and Cartilage*. 16: 470-479. doi: 10.1016/j.joca.2007.07.012
- 8 **Boulocher C.B., Viguier E.R., Cararo R., Fau D.J., Arnault F., Collard F., Maitre P.A., Roualdes O., Duclos M.E., Vignon E.P. & Roger T.W. 2010.** Radiographic assessment of the femorotibial joint of the CCLT rabbit experimental model of osteoarthritis. *BMC Medical Imaging* 10: 1-10. doi: 10.1186/1471-2342-10-3
- 9 **Butler M., Colombo C., Hickman L., O'Byrne E., Steele R., Steinetz B., Quintavalla J. & Yokoyama N. 1983.** A new model of osteoarthritis in rabbits. III. Evaluation of anti-osteoarthritic effects of selected drugs administered intraarticularly. *Arthritis and Rheumatism*. 26: 1380-1386. doi: 10.1002/art.1780261111
- 10 **Campos W.N.S., Souza M.A., Ruiz T., Peres T.P., Néspoli P.B., Marques A.T.C., Colodel E.M. & Souza R.L. 2013.** Experimental osteoarthritis in rabbits: lesion progression. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33: 279-285

- 11 Casper-Taylor M.E., Barr A.J., Williams S., Wilcox R.K. & Conaghan P.G. 2020. Initiating factors for the onset of OA: A systematic review of animal bone and cartilage pathology in OA. *Journal of Orthopaedic Research*. 38: 1810-1818. doi: 10.1590/S0100-736X2013000300001
- 12 Chang D.G., Iverson E.P., Schinagl R.M., Sonoda M., Amiel D., Coutts R.D. & Sah R.L. 1997. Quantitation and localization of cartilage degeneration following the induction of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis and Cartilage*. 5: 357-372. doi: 10.1016/s1063-4584(97)80039-8
- 13 Colombo C., Butler M., O'Byrne E., Hickman L., Swartzendruber D., Selwyn M. & Steinetz B. 1983. A new model of osteoarthritis in rabbits. I. Development of knee joint pathology following lateral meniscectomy and section of the fibular collateral and sesamoid ligaments. *Arthritis and Rheumatism*. 26: 875-886. doi: 10.1002/art.1780260709
- 14 Cucchiari M., Girolamo L., Filardo G., Oliveira J.M., Orth P., Pape D. & Reboul P. 2016. Basic science of osteoarthritis. *Journal of Experimental Orthopaedics*. 3: 1-18. doi: 10.1186/s40634-016-0060-6
- 15 Dawson J., Gustard, S. & Beckmann N. 1999. High-resolution three-dimensional magnetic resonance imaging for the investigation of knee joint damage during the time course of antigen-induced arthritis in rabbits. *Arthritis and Rheumatism*. 42: 119-128. doi: 10.1002/1529-0131(199901)
- 16 Florea C., Malo M.K., Rautiainen J., Mäkelä J.T., Fick J.M., Nieminen M.T., Jurvelin J.S., Davidescu A. & Korhonen R.K. 2015. Alterations in subchondral bone plate, trabecular bone and articular cartilage properties of rabbit femoral condyles at 4 weeks after anterior cruciate ligament transection. *Osteoarthritis and Cartilage*. 23: 414-422. doi:10.1016/j.joca.2014.11.023
- 17 Goldring M.B. & Goldring S.R. 2010. Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1192: 230-237. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05240.x
- 18 Gupta R.C., Lall R., Srivastava A. & Sinha A. 2019. Hyaluronic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Trajectory. *Frontiers in Veterinary Science*. 6: 1-24. doi: 10.3389/fvets.2019.00192
- 19 Graverand M.P.H., Vignon E., Otterness I.G. & Hart D.A. 2001. Early changes in lapine menisci during osteoarthritis development: Part I: cellular and matrix alterations. *Osteoarthritis and Cartilage*. 9: 56-64. doi: 10.1053/joca.2000.0350
- 20 Hsu H. & Siwec R.M. 2020. Knee Osteoarthritis. In: StatPearls. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507884>
- 21 Hulth A., Lindberg L. & Telhag H. 1970. Experimental osteoarthritis in rabbits. Preliminary report. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 41: 522-530
- 22 Kaderli S., Viguier E., Watrelot-Virieux D., Roger T., Gurny R., Scapozza L., Möller M., Boulocher C. & Jordan O. 2015. Efficacy study of two novel hyaluronic acid-based formulations for viscosupplementation therapy in an early osteoarthrotic rabbit model. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 96: 388-395. doi: 10.1016/j.ejpb.2015.09.005
- 23 Manoto S.L., Maepa M.J. & Motaung S.K. 2018. Medical ozone therapy as a potential treatment modality for regeneration of damaged articular cartilage in osteoarthritis. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 25: 672-679. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.02.002
- 24 Mihara M., Higo S., Uchiyama Y., Tanabe K. & Saito K. 2007. Different effects of high molecular weight sodium hyaluronate and NSAID on the progression of the cartilage degeneration in rabbit OA model. *Osteoarthritis and Cartilage*. 15: 543-549. doi: 10.1016/j.joca.2006.11.001
- 25 Moskowitz R.W., Davis W., Sammarco J., Martens M., Baker J., Mayor M., Burstein A.H. & Frankel V.H. 1973. Experimentally induced degenerative joint lesions following partial meniscectomy in the rabbit. *Arthritis and Rheumatism*. 16: 397-405.
- 26 Paukkonen K., Jurvelin J. & Helminen H.J. 1986. Effects of immobilization on the articular cartilage in young rabbits. A quantitative light microscopic stereological study. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 206: 270-280. PMID: 3708985.
- 27 Rahmati M., Mobasheri A. & Mozafari M. 2016. Inflammatory mediators in osteoarthritis: A critical review of the state-of-the-art, current prospects, and future challenges. *Bone*. 85: 81-90. doi: 10.1016/j.bone.2016.01.019
- 28 Seyam O., Smith N.L., Reid I., Gandhi J., Jiang W. & Khan S.A. 2018. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders. *Medical Gas Research*. 8: 103-110. doi: 10.4103/2045-9912.241075
- 29 Shapiro F. & Glimcher M.J. 1980. Induction of osteoarthrosis in the rabbit knee joint. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 147: 287-295. PMID: 6154558.

- 30 **Torelli S.R., Rahal S.C., Volpi R.S., Yamashita S., Mamprim M.J. & Crocci A.J. 2004.** Radiography, computed tomography and magnetic resonance imaging at 0.5 Tesla of mechanically induced osteoarthritis in rabbit knees. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 37: 493-501. doi: 10.1590/S0100-879X2004000400006
- 31 **Wachsmuth L., Keiffer R., Juretschke H.P., Raiss R.X., Kimmig N. & Lindhorst E. 2003.** *In vivo* contrast-enhanced micro MR-imaging of experimental osteoarthritis in the rabbit knee joint at 7.1T1. *Osteoarthritis and Cartilage*. 11: 891-902. doi: 10.1016/j.joca.2003.08.008
- 32 **Yoshioka M., Coutts R.D., Amiel D. & Hacker S.A. 1996.** Characterization of a model of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis and Cartilage*. 4: 87-98. doi: 10.1016/s1063-4584(05)80318-8