

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**EFEITO CLÍNICO DO USO DE PARECOXIB EM
SINOVITE INDUZIDA EM PÔNEIS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Ricardo Pozzobon

**Santa Maria, RS, Brasil
2006**

EFEITO CLÍNICO DO USO DE PARECOXIB EM SINOVITE INDUZIDA EM PÔNEIS

por

Ricardo Pozzobon

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Clínica Médica, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Karin Erica Brass

**Santa Maria, RS, Brasil
2006**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**EFEITO CLÍNICO DO USO DE PARECOXIB EM SINOVITE
INDUZIDA EM PÔNEIS**

Elaborada por
Ricardo Pozzobon

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

Karin Erica Brass, Dr^a.
(Presidente/Orientador)

Carlos Eduardo Wayne Nogueira, Dr. (UFPEL)

Dominguita Lühers Graça, Dr^a. (UFSM)

Santa Maria, 20 de fevereiro de 2006.

AGRADECIMENTOS

À UFSM, pela oportunidade de continuar estudando e pesquisando.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e dedicação para buscar o melhor de mim.

À minha irmã Raquel, pela ajuda e paciência nos momentos de intenso estudo.

À Rochele, pelo amor, paciência e conforto nas horas difíceis.

Aos orientadores, Karin e Flávio, pela oportunidade, confiança e aprendizado.

Aos meus amigos e colegas, Daniel Rissi, Daniela, Juliano, Daniel Terra, Mariana, Caroline e Aline pela ajuda e companheirismo.

Aos estagiários do Laboratório de Imunogenética e da Clínica de Equinos, em especial Eduardo e Henrique, pela ajuda na coleta dos dados e manejo com os pôneis.

Ao Rafael Figuera, pela grande ajuda e ensinamento prestados para conclusão deste trabalho.

Ao professor José Henrique e ao Juliano, pela ajuda com a análise estatística.

À CAPES, pela bolsa de estudos durante o período do mestrado.

A todos, que de alguma forma contribuíram para a realização de mais esta etapa em minha vida. Muito obrigado.

À Deus, por ter permitido toda essa convivência.

SUMÁRIO

FOLHA DE ROSTO.....	2
FOLHA DE APROVAÇÃO.....	3
AGRADECIMENTOS.....	4
SUMÁRIO.....	5
LISTA DE TABELAS.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 Processo inflamatório.....	12
2.2 Sinovite.....	15
2.3 Antiinflamatórios não esteroidais.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4. RESULTADOS.....	27
5. DISCUSSÃO.....	34
6. CONCLUSÕES.....	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 – Valores médios dos parâmetros clínicos gerais dos grupos controle (1) e tratado com parecoxib (2), antes da indução (T0) até o final do tratamento (T7). Temperatura retal (T), frequência cardíaca (FC) e frequência respiratória (FR)..... 27
- TABELA 2 – Valores médios dos parâmetros clínicos específicos dos grupos controle (1) e tratado com parecoxib (2), antes da indução (T0) até o final do tratamento (T7). Comprimento do passo (CP), circunferência articular (CA), ângulo do membro em repouso (AR), ângulo de flexão máxima (AFM), grau de claudicação (GC) e grau de efusão articular (GE)..... 27

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Medida do comprimento do passo, através da mensuração com fita métrica da distância entre as impressões do casco marcado com tinta.....	22
FIGURA 2 – Medida da circunferência articular com auxílio de fita métrica.....	23
FIGURA 3 – Medida do ângulo da articulação em repouso com auxílio de goniômetro.....	23
FIGURA 4 – Flexão da articulação radio-carpiana, com mensuração do ângulo de flexão máxima com goniômetro.....	24
FIGURA 5 – Coleta do líquido sinovial com a articulação flexionada.....	24
FIGURA 6 – Indução da sinovite através de uma injeção intra-articular de 0,5 ml de adjuvante de Freund, após a primeira coleta do líquido sinovial.....	25
FIGURA 7 – Líquido sinovial (tubo da esquerda) amarelo palha, translúcido, colhido de uma articulação sadia, e o de cor amarelo escuro, turvo (direita), de uma articulação com sinovite induzida.....	28
FIGURA 8 – Número médio total de células nucleadas do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e sadias, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.....	29

FIGURA 9 – Porcentagem média de neutrófilos do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e saudáveis, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.....	30
FIGURA 10 – Porcentagem média de macrófagos do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e saudáveis, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.....	30
FIGURA 11 – Grau médio de eritrofagocitose do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e saudáveis, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.....	31
FIGURA 12 – Porcentagem média de células mesoteliais do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e saudáveis, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.....	32
FIGURA 13 – Concentração média de proteína do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e saudáveis, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.....	32
FIGURA 14 – Médias da viscosidade do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e saudáveis, de pôneis do grupo controle(G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.....	33
FIGURA 15 – Médias da qualidade do precipitado de mucina do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e saudáveis, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.....	33

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

EFEITO CLÍNICO DO USO DE PARECOXIB EM SINOVITE INDUZIDA EM PÔNEIS

AUTOR: Ricardo Pozzobon

ORIENTADOR: Karin Erica Brass

Local e data da defesa: Santa Maria, 20 de fevereiro de 2006.

Sinovite e capsulite agudas são problemas comuns em algumas articulações e podem resultar em um processo degenerativo pela liberação de enzimas e mediadores inflamatórios. O tratamento recomendado nestes casos são os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). Com o objetivo de avaliar o efeito do parecoxib, um AINE seletivo para cicloxigenase 2 injetável, foi usado um modelo experimental de sinovite em pôneis. No exame clínico geral foi determinada a frequência cardíaca (FC) e respiratória (FR) e a temperatura retal (T). No exame clínico específico foram avaliados o comprimento do passo (CP), ângulo do membro em repouso (AR), ângulo de flexão máxima (AFM), circunferência articular (CA), grau de efusão carpal (GE) e grau de claudicação (GC). A análise do líquido sinovial foi realizada através da citologia, concentração de proteína, qualidade do precipitado da mucina e viscosidade. Cinco dias após indução da sinovite com adjuvante completo de Freund, três pôneis foram tratados com 0,55mg/kg/dia de parecoxib (IV) e três receberam solução fisiológica estéril 0,9% (IV) por cinco dias. A avaliação dos parâmetros clínicos gerais e específicos, e das características celulares e bioquímicas do fluido sinovial foi realizada antes da indução de sinovite, imediatamente antes do tratamento e 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após início do tratamento. A sinovite induzida neste experimento foi semelhante a uma sinovite naturalmente ocorrida. A artrocentese repetida, apesar de contribuir para o aumento da proteína no fluido sinovial, não modificou significativamente os outros parâmetros avaliados das articulações sadias. O tratamento com parecoxib não influenciou significativamente os parâmetros do líquido sinovial, pois a quantidade de proteína e de leucócitos totais aumentou, e a qualidade da viscosidade e da precipitação da mucina diminuiu com a indução da sinovite, permanecendo sem alteração até 120 horas após o início do tratamento. A injeção intra-articular com adjuvante completo de Freund, induziu uma sinovite de intensidade moderada a grave. Ocorreram aumentos significativos na T, FC, GC e GE e diminuição do AFM e CP no grupo controle. Já os pôneis tratados com parecoxib apresentaram diminuição do GC, manutenção do AFM, CP, T e FC e atenuação do GE articular. Portanto, embora o parecoxib, na dose utilizada, não tenha apresentado efeito sobre os parâmetros do líquido sinovial das articulações com sinovite, sua ação antipirética, antiinflamatória e analgésica foi documentada.

Palavras-chave: inibidor de cicloxigenase 2, parecoxib, sinovite, eqüinos.

ABSTRACT

MSc Dissertation
Graduate Program in Veterinary Medicine
Universidade Federal de Santa Maria

EFFECT OF PARECOXIB IN INDUCED SYNOVITIS IN HORSES

AUTHOR: Ricardo Pozzobon
ADVISER: Karin Erica Brass
Santa Maria, February 20, 2006.

Acute synovitis and capsulitis are common articular problems and can contribute to the development of a degenerative process due to the release of enzymes and inflammatory mediators. The indicated treatment for synovitis and capsulitis is based on anti-inflammatory drugs. An experimental synovitis model was used in ponies to evaluate the effect of parecoxib, a selective ciclo-oxygenase 2 anti-inflammatory drug. Cardiac (FC) and respiratory frequency (FR) and rectal temperature (T) were determined. The ponies also had their stride length (CP), carpal joint angle at rest (AR), angle of maximum flexion (AFM), joint circumference (CA), carpal effusion degree (GE) and lameness degree (GC) evaluated. The analysis of the synovial fluid included cytology, protein, mucin precipitation quality and viscosity. After synovitis induction with Freund's complete adjuvant, three ponies were treated with 0,55mg/kg/day IV parecoxib, and three received sterile 0,9% saline solution (IV) for five days. Clinical and synovial fluid parameters were evaluated before synovitis induction, immediately before treatment and 12, 24, 48, 96 and 120 hours after the first treatment. Induced synovitis findings were similar to natural occurring ones. Repeated artrocentesis increased protein in the synovial fluid, but did not modify the other evaluated parameters of the healthy joints. Synovial fluid parameters were not affected by parecoxib treatment. Protein amount and total leukocyte count increased and remained high up to 120 hours of the beginning of treatment, and the viscosity and mucin precipitation quality decreased in synovitis induced joints. The intra-articular injection of Freund's complete adjuvant induced a moderate to serious synovitis. Significant increases in T, FC, GC and GE and reduction of AFM and CP occurred in the synovitis control group. Treated ponies showed GC reduction, maintenance of the AFM, CP, T and FC and attenuation of GE. Although the used dosage of parecoxib had no effect on evaluated synovial fluid parameters, analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects were observed.

Key words: parecoxib, synovitis, horses, selective NSAID.

1. INTRODUÇÃO

Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) estão entre os agentes terapêuticos veterinários mais utilizados por serem medicamentos de fácil acesso, custo relativamente baixo e por atuarem como analgésicos, antiinflamatórios e antipiréticos. Estes efeitos estão relacionados com a inibição da araquidono-cicloxygenase (COX) e, portanto, inibição da produção de prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos. No organismo há dois tipos de cicloxygenase que determinam diferentes funções. A cicloxygenase 1 (COX-1) está relacionada com reações fisiológicas, enquanto que a cicloxygenase 2 (COX-2) é expressa principalmente em eventos inflamatórios.

A maioria dos AINEs disponíveis no mercado para uso veterinário podem causar efeitos tóxicos significativos, pois bloqueiam principalmente a COX-1 em detrimento da COX-2. As lesões ocorrem principalmente na mucosa do trato digestivo e renal, mas pode haver interferência na síntese de proteoglicanos na cartilagem articular, principalmente quando os AINEs são usados em tratamentos prolongados ou em altas doses.

Na espécie eqüina os AINEs são indicados no tratamento de processos inflamatórios, dolorosos ou febris, como osteoartrites, sinovites, etc. Os AINEs seletivos da COX-2 surgem como uma alternativa terapêutica, pois tendem a não produzir efeitos colaterais quando comparados com os não seletivos. Eles são uma opção para tratamentos de longa duração, ou em pacientes com disfunção gastrointestinal, renal, hepática, desidratados ou imunodeficientes.

O parecoxib é o único AINE seletivo disponível na forma injetável atualmente no mercado. Existem poucas informações sobre a eficácia farmacológica, dosagem e aplicações clínicas dos AINEs seletivos em animais, especialmente na espécie eqüina.

Com o objetivo de avaliar o efeito clínico da administração intravenosa (IV) de parecoxib foi induzida uma sinovite na articulação radio-carpiana em pôneis, avaliando-se parâmetros clínicos dos animais e características bioquímicas e celulares do líquido sinovial.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Processo inflamatório

Estímulos químicos, físicos ou mecânicos são capazes de iniciar um processo inflamatório no organismo e ativar uma série de mediadores químicos que terão sua ação centrada, principalmente, sobre eventos vasculares ou celulares. O processo inflamatório é, genericamente, classificado com base em alguns parâmetros citológicos e sintomáticos que variam progressivamente com o passar do tempo (TASAKA, 2002).

O processo inflamatório agudo se caracteriza pela curta duração e apresentação dos sinais cardeais da inflamação como dor, calor, rubor, tumor e perda da função. Já o processo inflamatório crônico, além de perdurar por um período indeterminado, não apresenta um padrão tão estereotipado, variando de acordo com os tipos de mediadores celulares e humorais envolvidos. Os mediadores químicos levam ao intumescimento tissular, devido ao extravasamento de proteínas plasmáticas, com conseqüente saída de água para o tecido e a penetração de células inflamatórias, que tem como principal objetivo debelar o agente causador da lesão (BOCHSLER & SLAUSON, 2002; TASAKA, 2002).

Vários são os mediadores químicos envolvidos no desenvolvimento do processo inflamatório. Eles podem ser de origem tissular, como aminas vasoativas, fator de ativação plaquetária (PAF), eicosanóides, citocinas, radicais livres superóxidos, óxido nítrico e neuropeptídeos (BOOTHE, 1989; ADAMS, 1992; GUYTON & HALL, 1997; TASAKA, 2002), ou de origem plasmática, como o sistema de coagulação, o sistema complemento e o sistema das cininas (TASAKA, 2002).

Os eicosanóides são os mediadores químicos mais estudados até hoje. Eles são lipídios insaturados, derivados da cisão do ácido araquidônico, a partir de enzimas específicas. Ao contrário da histamina, os eicosanóides não são pré-formados nos tecidos, sendo a sua produção vinculada a uma série de estímulos. Desta forma, uma lesão qualquer que danifique a membrana das diferentes células do organismo será capaz de liberar frações de fosfolipídios, denominados ácido araquidônico, através da ação enzimática da fosfolipase A₂ (PLA₂) que, no estado não ativado, encontra-se na forma esterificada, ligada à membrana celular (BOCHSLER & SLAUSON, 2002).

O ácido araquidônico, quando liberado, não tem ação inflamatória (ANDRADE & OLIVEIRA 1997; GUYTON & HALL, 1997; TASAKA 2002). Entretanto, os produtos de sua degradação, formados através da ação de enzimas denominadas cicloxigenase e lipoxigenase, são mediadores químicos fundamentais no desenvolvimento do processo inflamatório (BOCHSLER & SLAUSON, 2002; TASAKA, 2002). A quebra do ácido araquidônico pelas cicloxigenases origina as prostaglandinas (PGs) e tromboxanas (TXs) (BOOTH, 1992; ANDRADE, 1997; TASAKA, 2002). Por sua vez, as lipoxigenases dão origem aos leucotrienos (LTs). Durante este processo, as diferentes vias enzimáticas podem gerar radicais livres. Desta forma, inicialmente, a hidrólise do ácido araquidônico pelas cicloxigenases origina a prostaglandina G_2 (PGG_2) e a prostaglandina H_2 (PGH_2). Posteriormente, estas PGs são degradadas em prostaglandina D_2 (PGD_2), E_2 (PGE_2), $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$), prostaciclina (PGI_2) e tromboxano A_2 (TXA_2) e B_2 (TXB_2) (BOCHSLER & SLAUSON, 2002).

Outros eicosanóides importantes são os trienos conjugados, derivados da hidrólise do ácido araquidônico pela 5-lipoxigenase. Primeiramente, ocorre a geração dos ácidos hidroxi- e hidroperoxitetraenóicos (HETE e HPETE), e estas substâncias posteriormente dão origem aos LTs (LTA , LTB_4 , LTC_4 e LTD_4) e às lipoxinas. O eicosanóide varia de acordo com o tipo celular onde é produzido, já que em células diferentes há predominância de grupos enzimáticos diversos. A PGH_2 , por exemplo, é convertida em PGI_2 nas células endoteliais ou em TXA_2 nas plaquetas. As lipoxigenases são encontradas nos leucócitos, pulmão, coração, cérebro e baço originando os LTs (BOCHSLER & SLAUSON, 2002; TASAKA, 2002).

Depois da liberação dos mediadores químicos, inicia-se a fase vascular, caracterizada por vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. Estes eventos facilitam a passagem de proteínas plasmáticas para o tecido, carreando, conseqüentemente, uma grande quantidade de água, o que, por sua vez, origina o edema (TASAKA, 2002).

A fase celular ocorre juntamente com a vascular devido às alterações do fluxo sanguíneo (BOOTH, 1992; TASAKA, 2002). No início, acontece uma marginação leucocitária no leito vascular e a passagem destes para o tecido através de diapedese. Este mecanismo é auxiliado através da expressão de moléculas de adesão específicas na superfície de células endoteliais, denominadas moléculas de adesão intercelular (ICAM-1 e ICAM-2), moléculas de adesão de células vasculares-1 (VCAM-1), além das selectinas (GMP-140, ELAM-1 e LAM-1). Estas moléculas, quando expressas,

promovem a aderência dos leucócitos à parede vascular, facilitando a migração para o espaço extravascular. O tipo celular predominante nesta fase poderá ser de células polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos), em um processo inflamatório agudo, ou de células mononucleares (monócitos e linfócitos), quando de um processo inflamatório crônico. Outras células, tais como as endoteliais, macrófagos, mastócitos, além das plaquetas, também podem estar envolvidas. Deste momento em diante, no caso de uma evolução favorável, o processo inflamatório passa para a fase de reparação, por meio da eliminação do agente causal, formação de tecido de granulação e cicatrização. Se o processo não evoluir para a resolução, poderá ocorrer supuração, ou seja, os microorganismos superam as defesas orgânicas, lisando as células leucocitárias e formando o pus, ou então poderá haver cronificação do processo (BOCHSLER & SLAUSON, 2002; TASAKA, 2002).

A dor periférica é iniciada por bradicinina e histamina e amplificada pela ação das PGs, principalmente a PGE_2 e a PGI_2 , através de sua ligação a receptores nociceptivos, ocorrendo diminuição do limiar doloroso e promoção de descargas elétricas através da variação no potencial de repouso dos nociceptores. Esta ação resulta em estímulos dolorosos, devido à estimulação de regiões talâmicas (CARROL, 1999; TASAKA, 2002). A PGI_2 está relacionada com a hiperalgia imediata e de curta duração, enquanto que a PGE_2 está associada à hiperalgia longa, que pode persistir por um período de até 6 horas (TASAKA, 2002). A acetilcolina, serotonina, leucotrieno, substância P, fator de ativação plaquetária e íons potássio, também podem estimular os receptores nociceptivos (TEIXEIRA, 1994).

O processo febril ocorre quando os leucócitos, que estão fagocitando partículas estranhas, liberam pirogênios endógenos. Estas substâncias se distribuem no organismo e promovem a liberação de PGs, principalmente a PGE_2 , que atuam sobre o hipotálamo, aumentando o limiar térmico. O desequilíbrio dos mecanismos que controlam a temperatura corporal faz com que o organismo reaja como se a temperatura externa estivesse baixa, produzindo vasoconstrição periférica, piloereção e tremores (mecanismos geradores de calor). Quando ocorre aumento excessivo da temperatura corporal, o organismo se utiliza de mecanismos que levam à perda de calor, como a sudorese, vasodilatação, etc (TASAKA, 2002).

Quando o processo inflamatório é muito intenso, o órgão afetado poderá ter sua função comprometida. Nestes casos, devem ser utilizadas substâncias que modulem o

processo inflamatório. Os antiinflamatórios são classificados em esteroidais e não-esteroidais (BOVILL, 1997; TASAKA, 2002).

2.2 Sinovite

O processo inflamatório desencadeia uma resposta humoral (vascular) e uma celular. No início da artrite, células sinoviais são estimuladas a produzirem mediadores inflamatórios. Ocorre expressão de proteínas, iniciando a cascata da inflamação e liberação adicional de mediadores inflamatórios. Mediadores importantes incluem as citocinas interleucina-1 e 6, fator de necrose tumoral (TNF), eicosanóides (prostaglandinas e leucotrienos), radicais livres, substância P e óxido nítrico (BERTONE, 2003).

O influxo celular, para o interior da articulação, causa efusão e subsequente reconhecimento clínico da sinovite. O grau da sinovite e dano da cartilagem são diretamente proporcionais à contagem de células nucleadas do fluido sinovial em artrite não-séptica e séptica. Neutrófilos tem capacidade migratória, podendo se mover para dentro do fluido sinovial em três horas após um estímulo quimiotático, como o gerado pelas interleucinas-1 ou endotoxinas (BERTONE, 2003).

Sinovite e capsulite são alterações iniciais comuns na articulação de cavalos atletas e têm sido associadas com traumas repetidos, podendo evoluir para um processo degenerativo pela liberação de enzimas, mediadores inflamatórios e citocinas. Embora a membrana sinovial seja mecanicamente frágil e não tenha papel biomecânico conhecido, sabe-se que a lesão sinovial pode ter conseqüências fisiológicas e patofisiológicas na articulação. Algumas destas lesões afetam a difusão através da membrana sinovial e outras têm um efeito primário no metabolismo dos sinoviócitos. Estes podem liberar enzimas degradativas e citocinas, mecanicamente danosas. Isto pode alterar o ambiente intra-articular e afetar a cartilagem articular (McILWRAITH, 1996). Em eqüinos, a claudicação devido à osteoartrite está entre as principais causas de baixo desempenho e descarte de cavalos atletas (JEFFCOTT et al., 1982). A osteoartrite é uma doença articular caracterizada por sinais variáveis de dor, sinovite, degeneração e erosão da cartilagem articular (McILWRAITH, 2002; TODHUNTER & LUST, 1992). Em eqüinos, as doenças articulares frequentemente são acompanhadas de graus variados de sinovite. Sinais clínicos de inflamação sinovial aguda incluem: efusão sinovial com distensão da cápsula articular, aumento da temperatura local, hipertrofia e hiperplasia da

sinóvia, diminuição na flexão da articulação, e claudicação do membro afetado (McILWRAITH, 2002). Eicosanóides, como PGE₂ e LTB₄, além de participarem na resposta inflamatória juntamente com outros mediadores inflamatórios, estão relacionados com a severidade da sinovite (BERTONE et al., 1993). A PGE₂ na articulação causa vasodilatação, aumento da percepção à dor, depleção de proteoglicanos por degradação e inibição da sua síntese, desmineralização óssea e promoção da secreção do fator ativador de plasminogênio. A PGE₂ é liberada por condrócitos em resposta a estimulação por IL-1 e TNF- α (McILWRAITH, 2002).

A pressão intra-articular elevada devido ao processo inflamatório aumenta ainda mais quando ocorre flexão na articulação lesada, podendo impedir o fluxo sanguíneo através dos capilares sinoviais. Isto diminuiria potencialmente a tensão de oxigênio na articulação, prejudicando ainda mais a perfusão (McILWRAITH, 1996).

A presença de partículas de cartilagem aumenta a produção celular de PGE₂, citocinas e metaloproteinases (colagenase, estromolisina e gelatinase). Células sinoviais de articulações de eqüinos são uma fonte rica em enzimas proteolíticas ativas contra colágeno e proteoglicanos. Lesões da membrana sinovial são importantes devido ao potencial para liberação direta de enzimas lisossomais, particularmente metaloproteinases, PGE₂, radicais livres e citocinas, que indiretamente liberam metaloproteinases de condrócitos e da membrana sinovial. A dor presente na inflamação da membrana sinovial é resultante da estimulação direta de receptores da dor no tecido capsular, bem como, possivelmente, do aumento da pressão interóssea associado com a efusão articular sobre o osso subcondral (McILWRAITH, 1996).

2.3 Antiinflamatórios não esteroidais

Os AINEs possuem várias ações terapêuticas. Estas podem ser de caráter periférico, como efeito antitrombótico e antiendotóxico, ou podem atuar sobre o sistema nervoso central, na forma de antipiréticos e também de analgésicos. Estas ações decorrem, na sua maioria, da ação inibitória sobre as enzimas que degradam o ácido araquidônico: a cicloxigenase e lipoxigenase. A ação antitrombótica está relacionada com inibição da síntese de TXs e a ação antiendotóxica com a diminuição quantitativa de eicosanóides, como a prostaciclina e TXs, substâncias estas responsáveis por algumas das alterações cardiovasculares e metabólicas presentes no choque endotóxico. A produção de eicosanóides pode ser inibida através da inibição da liberação de ácido

araquidônico, do antagonismo entre receptores, da inibição de eventos de transdução que ocorrem após a ocupação dos receptores ou da inibição da atividade da oxigenase dos ácidos graxos (TASAKA, 2002).

Os efeitos analgésico, antipirético e antiinflamatório dos AINEs, estão relacionados com a inibição da araquidono-cicloxigenase (COX) e, portanto, inibição da produção de prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos (TASAKA, 2002; FANTONI & MASTROCINQUE, 2002).

A diferença na potência de inibição entre as várias formulações comerciais dos AINEs nos processos inflamatórios, febris e dolorosos, depende da sua ação sobre os diferentes mediadores químicos inflamatórios, a biodisponibilidade, a biotransformação e a sua eliminação nas diferentes espécies animais. O potencial terapêutico e os efeitos colaterais dos diferentes agentes antiinflamatórios são mediados pelos mesmos processos fisiológicos, ou seja, inibição das enzimas que atuam sobre os produtos derivados da membrana celular. Outro fator importante a ser considerado é que a inibição seletiva da cicloxigenase desvia o catabolismo do ácido araquidônico para a via lipoxigenase, favorecendo a geração de eicosanóides (LTs) levando, desta forma, à continuidade do processo inflamatório através de outros mecanismos (TASAKA, 2002).

Há dois tipos de cicloxigenase, que no organismo determinam diferentes funções: a cicloxigenase 1 (COX-1) e a cicloxigenase 2 (COX-2). A quebra do ácido araquidônico pela COX-1 leva à formação de PGs relacionadas com reações fisiológicas renais, gastrointestinais e vasculares. A COX-2 também é produzida naturalmente no sistema nervoso central, olho e órgãos reprodutivos, mas na sua maioria é induzida (MUIR, 2004), participando da formação de PGs que participam dos eventos inflamatórios (BOCHSLER & SLAUSON, 2002; TASAKA, 2002). A COX-2 é formada a partir de estímulos como presença de endotoxinas e estímulos inflamatórios que liberam as citocinas que, por sua vez, induzem a síntese de COX-2 por células, como macrófagos, resultando na liberação de PGs inflamatórias (CARVALHO, 1998), ou seja, a COX-2 é induzida pela própria reação inflamatória (MATTHEWS, 1996).

Os medicamentos antiinflamatórios disponíveis na terapêutica veterinária bloqueiam tanto a COX-1 como a COX-2. Os principais AINEs atuam através da inibição preferencial da COX-1 em detrimento da COX-2. Este fato faz com que muitos dos efeitos colaterais como as gastrites difusas, erosões gástricas, ulcerações, gastroenterite hemorrágica, insuficiência renal aguda ou crônica, estejam relacionados com o uso destas substâncias. Estes efeitos colaterais são decorrentes da inibição da

síntese de algumas classes de PGs, principalmente a PGE₂ e a PGI₂. Estas PGs tem ação essencialmente vasodilatadora nos rins, além de estarem envolvidas na liberação de renina e na transferência de eletrólitos. A inibição destas resulta na diminuição do fluxo sanguíneo renal e da filtração glomerular. Na mucosa gástrica a ação vasodilatadora fisiológica das PGs, principalmente da PGE₂, estimula o sistema de tamponamento pelo bicarbonato que atenua a ação corrosiva do ácido clorídrico (HCl) presente no suco gástrico. Quando estas PGs são inibidas pelos medicamentos antiinflamatórios, ocorre erosão da mucosa devido à não-neutralização do HCl. Outro possível mecanismo seria o acúmulo dos AINEs dentro das células gástricas, levando à morte celular. Inicialmente, a acidez gástrica facilita a entrada destes fármacos na mucosa, na forma molecular. No interior da célula, a substância retorna à forma ionizada, o que a aprisiona dentro da célula causando a toxicidade direta. (TASAKA, 2002).

Desde 1979 sabe-se que AINEs, quando administrados em excesso, podem causar severa ulceração na mucosa glandular de eqüinos, especialmente na região pilórica (MURRAY, 1996). A administração destes antiinflamatórios pode iniciar ou exacerbar ulceração gastrointestinal (MURRAY, 1996). Em cavalos a fenilbutazona tem um potencial ulcerogênico gástrico maior que o flunixin meglumine, e este maior que o do ketoprofeno (MacALLISTER, 1993). Toxicidade gastrointestinal, renal ou hepática e coagulação demorada, são fatores importantes e mais comumente relacionados com a administração crônica de AINEs em eqüinos. Outro fator importante a considerar é que AINEs alteram a função plaquetária e produzem discrasias sanguíneas em cavalos doentes ou naqueles com hemorragia. A toxicidade é mais comum em cavalos jovens ou velhos, desidratados, imunodeficientes ou ainda em cavalos com doença cardiovascular, renal ou hepática (MUIR, 2004).

In vitro foi observado que AINEs com mais seletividade para COX-1 exibem efeitos adversos diretos na cartilagem articular de humanos com osteoartrite, inibindo a síntese de proteoglicanos. Já os AINEs seletivos para COX-2 além de não produzirem efeito adverso sobre a cartilagem articular, apresentam propriedade reparadora da cartilagem, aumentando a síntese de proteoglicanos e normalizando sua liberação (MASTBERGEN et al., 2005). BELUCHE et al. (2001) relataram que a fenilbutazona administrada *in vivo*, inibiu a síntese de proteoglicanos em amostras de cartilagem eqüina, devendo ser usada com cuidado, principalmente por período prolongado. Entretanto, FREAN et al (2002) não observaram efeito da fenilbutazona sobre a síntese de proteoglicanos.

Os AINEs tradicionais, na espécie canina, aumentam em 3,5% o risco de erosões e hemorragia submucosa gastrointestinal que podem resultar em anemia crônica e morte. Esses fármacos não devem ser prescritos em pacientes idosos ou com problemas múltiplos de saúde com alteração dos mecanismos hemostáticos, já que a probabilidade de sofrer efeitos adversos por AINEs é maior. Quando usados devem ser cuidadosamente monitorados (ALLYN & JOHNSTON, 1998).

Alterações hepáticas foram relatadas após a utilização de AINEs em cães incluindo elevação das enzimas hepáticas com ou sem evidência clínica de disfunção hepática (FOX & CAMPBELL, 2000).

A liberação de PGs juntamente com proteases e outros mediadores inflamatórios (como os radicais livres de oxigênio) resulta em inflamação. A via da COX-2 pode ser interrompida em diversos níveis por antagonistas ou anticorpos contra citocinas e mitógenos inibidores da indução de COX-2, como pelos glicocorticóides, ou inibidores efetivos de COX-2 (VANE & BOTTING, 1995; MATTHEWS, 1996; CARVALHO, 1998). A maior ou menor probabilidade de um AINE provocar efeitos colaterais vai depender da sua capacidade de inibir seletivamente apenas a COX-2 (MATTHEWS, 1996).

O tratamento de sinovite e capsulite, particularmente a forma aguda, é indicado para aliviar os efeitos da inflamação de maneira imediata incluindo dor e redução da função, prevenir o desenvolvimento de fibrose na cápsula articular, pois ocorre diminuição do movimento e da capacidade de absorver choque, e também prevenir ou minimizar o desenvolvimento de osteoartrite (McILWRAITH, 2002). Os AINEs são considerados a melhor opção para o tratamento de doenças articulares não sépticas em animais (CLARK, 1991; CONLON, 1988). É bem documentado que estes medicamentos aliviam os sinais de dor e claudicação associados com a inflamação articular, através da redução de impulsos nociceptivos periféricos para a articulação inflamada e através de analgesia central (CARLSSON et al., 1988).

Inibidores seletivos da COX-2 têm sido descritos como medicamentos que induzem efeitos colaterais menores, pois inibem apenas as PGs inflamatórias, mantendo a síntese das demais prostaglandinas. Estudos clínicos em humanos, têm mostrado índices menores de lesões digestivas em pacientes que utilizaram inibidores seletivos da COX-2, quando comparados aos que usaram AINEs não seletivos (LANGMAN et al., 1999) e redução dos sinais clínicos em pacientes com osteoartrite (EHRICH et al., 1999). A exposição de tecido do cólon eqüino ao flunixin meglumine, causou um

marcado declínio na função e barreira deste tecido, efeito que foi significativamente reduzido em tecido exposto ao etodolac, um AINE seletivo (CAMPBELL, 2002).

O parecoxib é um novo inibidor seletivo da cicloxigenase-2. Ele foi desenvolvido como agente analgésico e antiinflamatório para uso no pós-operatório de pacientes em que fosse necessária a adição de analgésicos parenterais ao tratamento com opiáceos, ou mesmo substituição dos opiáceos, e AINEs convencionais administrados via parenteral (PFIZER, 2003).

Estudos recentes permitiram uma melhor compreensão do envolvimento da COX-2 nos processos dolorosos, resultando na escolha de inibidores específicos da COX-2 entre eles o parecoxib, para uso em ambientes clínicos. Sabe-se que as PGs produzidas pela COX-2, incluindo as que provêm do trauma associado à cirurgia, causam sensibilização de nociceptores, acentuando a sensibilidade à dor (SIMON et al., 1999).

Após a administração, o parecoxib é rapidamente hidrolisado no fígado até se transformar no composto farmacologicamente ativo valdecoxib, um derivado da benzenossulfonamida e ácido propiônico. O parecoxib e o valdecoxib são quimicamente distintos dos inibidores não seletivos das isoenzimas COX (PFIZER, 2003).

Desta forma o parecoxib é um pró-fármaco do valdecoxib. O mecanismo de ação do valdecoxib se dá pela inibição de PGs mediadas pela COX-2 (VANE & BOTTING, 1995). O medicamento mostrou ser altamente específico e um inibidor potente da COX-2 com atividade inibitória fraca sobre a COX-1 (TALLEY et al., 2000), reduzindo, assim, o efeito sobre processos fisiológicos dependentes da COX-1 nos tecidos, particularmente estômago, intestino e plaquetas (PFIZER, 2003).

Bons resultados foram obtidos com o parecoxib no tratamento de dor pós-operatória em cirurgias ortopédicas, odontológicas e ginecológicas, principalmente devido à baixa incidência de efeitos colaterais (DANIELS et al., 2000; BARTON et al., 2002; RASMUSSEN et al., 2002). O valdecoxib via oral era usado no tratamento de artrite reumatóide, osteoartrite e dor de dismenorréia (YUAN et al., 2002).

A metabolização do parecoxib é rápida sendo convertido em valdecoxib e ácido propiônico *in vivo*, com meia vida plasmática de aproximadamente 22 minutos. A eliminação do valdecoxib se dá através de um extensivo metabolismo hepático que envolve várias vias, incluindo as isoenzimas CY3A4 e CYP2C9 e a glicuronidação (aproximadamente 20%) do princípio ativo da sulfonamida, sendo eliminado por meio do metabolismo hepático, com menos de 5% recuperado na urina inalterado (TALLEY

et al., 2000) e 70% da dose é excretada pela urina como metabólitos inativos (PFIZER, 2003).

Foi identificado no plasma humano um metabólito hidroxilado do valdecoxib (via CYP) que age como inibidor da COX-2 (TALLEY et al. 2000). A sua contribuição para o efeito terapêutico, porém, é pouco significativa devido a sua baixa concentração plasmática quando comparado ao valdecoxib (KARIM et al., 2001).

A dose diária recomendada de parecoxib é de 40 mg administrados por via intravenosa ou intramuscular, baseando-se num paciente de 70 kg (PFIZER, 2003). Não há, até o presente momento, indicação de uso para animais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Seis pôneis machos inteiros, clinicamente sadios, com idade entre dois e três anos, pesando, em média, 130 kg foram submetidos a exame clínico geral, específico e radiográfico do carpo para descartar a presença de doença sistêmica e presença de claudicação.

No exame clínico geral foi determinada a frequência cardíaca (FC) e respiratória (FR) e a temperatura retal (T). No exame clínico específico foram avaliados os parâmetros de comprimento do passo (CP), ângulo do membro em repouso (AR), ângulo de flexão máxima (AFM), circunferência articular em cm (CA) (TOUTAIN et al., 1994; WHITE et al., 2003), grau de efusão carpal (GE) (OWENS et al., 1995) e grau de claudicação (GC) (AAEP, 1991). Para a mensuração do comprimento do passo, a região da pinça do casco, do membro a ser avaliado, foi marcada com tinta. Posteriormente os pôneis foram conduzidos caminhando sobre uma superfície plana e a distância (cm) entre as impressões do casco do membro afetado foi medida com auxílio de fita métrica (Figura 1) (TOUTAIN et al., 1994).



Figura 1 – Medida do comprimento do passo, através da mensuração com fita métrica da distância entre as impressões do casco marcado com tinta.

A circunferência da articulação foi mensurada com fita métrica no carpo (Figura 2), usando como ponto de referência anatômico o osso carpo acessório (WHITE et al., 2003).



Figura 2 – Medida da circunferência articular com auxílio de fita métrica

O ângulo da articulação em repouso (Figura 3) e a flexão carpal máxima (até reação de dor) (Figura 4) foram mensurados com um goniômetro (TOUTAIN et al., 1994).



Figura 3 – Medida do ângulo da articulação em repouso com auxílio de um goniômetro.

O grau de efusão carpal foi avaliado subjetivamente e classificado de 1 a 4 conforme OWENS et al. (1995). A andadura dos pôneis foi avaliada ao passo e ao trote sobre superfície plana e dura, e classificada de acordo com um sistema já conhecido (AAEP, 1991).



Figura 4 – Flexão da articulação radio-carpiana, com mensuração do ângulo de flexão máxima com goniômetro.

Após a avaliação clínica, cada pônei foi sedado com xilazina¹ a 10% (0,5 mg/kg) e foi realizada a antisepsia, com iodo povidine seguido de álcool, de ambas as articulações carpais previamente tricotomizadas. De cada articulação radio-carpiana foi colhida uma amostra de líquido sinovial (Figura 5) usando-se uma agulha 20x7 e seringa de 5 ml. Os parâmetros clínicos e as características do líquido sinovial obtidos foram tabulados e usados como referência (T0).



Figura 5 – Coleta do líquido sinovial com a articulação flexionada.

¹ Sedomin, König do Brasil LTDA

Por ocasião da artrocentese foram infiltrados, aleatoriamente, 0,5 ml de adjuvante completo de Freund² (Figura. 6) na articulação radio-carpiana esquerda ou direita de cada pônei para indução da sinovite (WHITE et al., 1996). A articulação contra lateral sadia serviu como controle.



Figura 6 – Indução da sinovite através de uma injeção intra-articular de 0,5 ml de adjuvante de Freund, após a primeira coleta do líquido sinovial.

A aparência, cor e volume do líquido sinovial foram avaliados no momento da artrocentese. A análise do fluido sinovial foi realizada através da contagem de células nucleadas totais, proteína, qualidade do precipitado da mucina e viscosidade. A qualidade da mucina foi determinada segundo VAN PELT (1974) e McILWRAITH & TROTTER (1996) e, conforme a coagulação do precipitado, classificada em mucina de qualidade muito boa (1), razoável (2), baixa (3) e muito baixa (4). A viscosidade relativa foi avaliada através da união e separação do líquido entre os dedos e também classificada de 1 a 4 como descrito acima. A proteína foi avaliada através de refratometria. A contagem das células nucleadas totais foi realizada usando câmara de Neubauer, utilizando água destilada como diluente em vez de usar ácido acético, diluente normalmente utilizado, porque este precipita o ácido hialurônico do líquido sinovial (MAHAFFEY, 1992). Para análise citológica o líquido foi centrifugado e o sedimento utilizado para confecção do esfregaço posteriormente corado pelo método

² Ajuvante completo de Freund, F5881. Sigma – Aldrich.

panótico rápido, para contagem diferencial de células (MAHAFFEY, 1992; McILWRAITH & TROTTER, 1996) e avaliação do grau de eritrofagocitose.

Após cinco dias da indução, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos. Os pôneis do grupo 1 (controle, n=3) receberam durante cinco dias solução salina estéril 0,9% IV na dose de 0,05 ml/kg/dia e os do grupo 2 (n=3) foram tratados com parecoxib³ IV na dose de 0,55 mg/kg/dia, baseando-se na dose utilizada em humanos, pelo mesmo período. A avaliação dos parâmetros clínicos e dos parâmetros do líquido sinovial foi realizada antes da indução da sinovite, imediatamente antes do tratamento e 12 (T2), 24 (T3), 48 (T4), 72 (T5), 96 (T6) e 120 horas (T7) após início do tratamento. O fluido sinovial foi colhido alternadamente entre o aspecto dorsolateral e dorsomedial das articulações radio-carpianas. A análise do líquido sinovial foi realizada sem conhecimento a que grupo de tratamento os animais pertenciam.

Os dados clínicos foram analisados em um esquema fatorial, em parcelas subdivididas no tempo, com dois tratamentos (grupo 1 e 2), e oito tempos de coletas de dados (T0 – T7). Os dados do fluido sinovial também foram analisados em fatorial com dois tratamentos (grupo 1 e 2), duas articulações (sadia e com sinovite induzida) e oito tempos (T0 – T7). Para análise estatística dos dados foi realizada análise de variância das médias (ANOVA), seguido do teste Tukey ao nível de 5% de significância utilizando o pacote estatístico SAS (1996).

³ Bextra IM/IV (parecoxib 40mg). Pfizer.

4. RESULTADOS

Os dados obtidos na avaliação do exame clínico geral podem ser observados na Tabela 1, e os obtidos na avaliação clínica específica estão na Tabela 2.

Tabela 1: Valores médios dos parâmetros clínicos gerais dos grupos controle (1) e tratado com parecoxib (2), antes da indução (T0) até o final do tratamento (T7). Temperatura retal (T), frequência cardíaca (FC) e frequência respiratória (FR).

parâmetros	grupo	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
		1º dia	5º dia	12h	24h	48h	72h	96h	120h
T (°C)	1	38,3	39,1	39,0*	38,9 *	39,6*#	39,1	38,5	38,5
	2	38,06	38,6	38,1	38,0	37,9	38,1	37,7	37,9
FC (bpm)	1	37,3	42,6	46,0	52,0 #	56,0 #	49,0#	44,7	48,0
	2	38,6	47,3	50,6	45,3	48,0	41,0	46,7	42,0
FR (mrpm)	1	21,3	28,0	32,6	28,0	29,3	38,7	29,3	28,7
	2	22,6	21,3	20,0	16,0	20,0	21,7	21,3	21,3

(*) diferença significativa entre grupos; (#) estatisticamente diferente de T0; teste Tukey (P<0.05).

Tabela 2: Valores médios dos parâmetros clínicos específicos dos grupos controle (1) e tratado com parecoxib (2), antes da indução (T0) até o final do tratamento (T7). Comprimento do passo (CP), circunferência articular (CA), ângulo do membro em repouso (AR), ângulo de flexão máxima (AFM), grau de claudicação (GC) e grau de efusão articular (GE).

parâmetros	grupo	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
		1º dia	5º dia	12h	24h	48h	72h	96h	120h
CP (cm)	1	108,3	108,6	102,6	101,5	85,5*#	95,9	94,6	100,0
	2	104,6	90,9	102,8	100,7	99,8	100,4	105,9	103,7
CA (cm)	1	22,8	26,2	26,4	26,7	27,5	28,1	28,2#	28,3#
	2	23,5	24,7	25,1	24,8	24,8	25,0	25,1	24,9
AR (°)	1	172,6	174,0	174,0	175,3	175,3	175,3	174,7	173,3
	2	172,0	168,0	171,7	172,0	172,0	172,7	172,0	172,0
AFM (°)	1	150,0	80,4#	75,0#	61,0#	60,0#	43,3*#	49,7*#	49,0*#
	2	149,3	71,9#	95,6	94,0	93,7	85,3#	96,6	102,0
GC	1	0	2,7#	3,0#	3,0#	3,7*#	4,0*#	4,0*#	4,0*#
	2	0	3,7#	3,0#	2,7#	2,0#	2,0#	2,0#	1,3
GE	1	0	3,7#	3,7#	4,0*#	4,0*#	4,0*#	4,0*#	4,0*#
	2	0	3,7#	3,7#	3,0#	2,7#	2,7#	2,0#	1,3

(*) diferença significativa entre grupos; (#) estatisticamente diferente de T0; teste Tukey (P<0.05).

Houve interação (p<0,05) entre tempo e grupo nos parâmetros de FC, CP, CA, AFM, GC e GE. A FC apresentou aumento significativo em 6 (T3), 7 (T4) e 8 dias (T5) após indução da sinovite em relação à observada antes da indução (T0) no grupo controle. Isto não foi observado no grupo tratado. Não foi observada diferença entre os

grupos na FR. Ocorreu elevação significativa na T no período de T2 a T4 no grupo controle. No grupo controle houve um aumento significativo da claudicação diferindo entre os grupos e os intervalos, e uma diminuição no comprimento do passo em T4 (Tabela 1). O AFM diminuiu significativamente no grupo controle a partir de T1, tendo um aumento significativo no grupo tratado a partir de T5 (Tabela 1). O AFM apresentou correlação negativa com GE ($r = -0,87$; $P = 0,001$), ou seja, quanto maior o GE, menor foi o AFM. O grau de efusão apresentou diferenças significativas entre os grupos, e os intervalos no grupo controle. A circunferência articular apresentou aumento significativo somente em T6 e T7 nos animais do grupo controle. Já no grupo tratado o aumento de volume da articulação se manteve estável durante todo o período de estudo.

Da figura 7 até a 15 podem ser observados os resultados obtidos na avaliação do líquido sinovial. A diferença marcante na aparência do líquido sinovial entre as articulações controle (não induzidas) e com sinovite induzida pode ser observada na figura 7.



Figura 7 – Líquido sinovial (tubo da esquerda) amarelo palha, translúcido, colhido de uma articulação sadia, e o de cor amarelo escuro, turvo, (direita) de uma articulação com sinovite induzida.

Houve interação entre o tempo decorrido e os parâmetros estudados das articulações ($P < 0,005$), no número de leucócitos, proteína, viscosidade e mucina. Para essas variáveis não houve diferença entre os grupos controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), mas houve diferença significativa entre as articulações sadias e com sinovite e entre os períodos de coleta ($p < 0,001$).

Não houve variação no número total de leucócitos entre os membros antes da indução da sinovite (T0). No quinto dia após a indução (T1) foi observado aumento significativo no número de leucócitos nas articulações com sinovite induzida (Figura 8). Independente do grupo, os leucócitos nas articulações com sinovite permaneceram elevados até 12h (T2) após o início do tratamento. Vinte e quatro horas após o início do tratamento, já se observava uma redução no número de leucócitos, e manutenção de níveis estatisticamente semelhantes aos valores encontrados antes da indução.

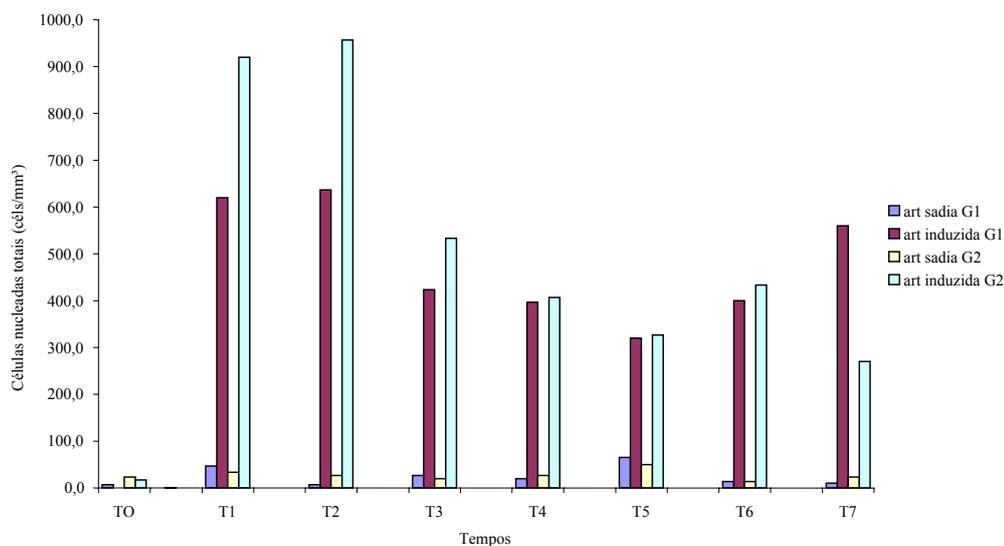


Figura 8 – Número médio total de células nucleadas do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e sadias, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.

Na contagem diferencial de células do líquido sinovial, não houve diferença entre as articulações em T0, e entre os grupos tratado e controle. A porcentagem de neutrófilos (Figura 9) diferiu entre as articulações e entre os tempos de coleta ($p < 0,05$), ocorrendo variação dos valores com o tempo. Cinco dias após a indução da sinovite (T1), foi constatado aumento dos neutrófilos, mantendo-se sem variação até T6, e diminuindo em T7. Nas articulações sadias, os neutrófilos foram aumentando com o decorrer das artrocenteses, e permaneceram em níveis semelhantes aos das articulações com sinovite induzida entre T3 e T5. No final (T6 e T7) esses valores diminuiram.

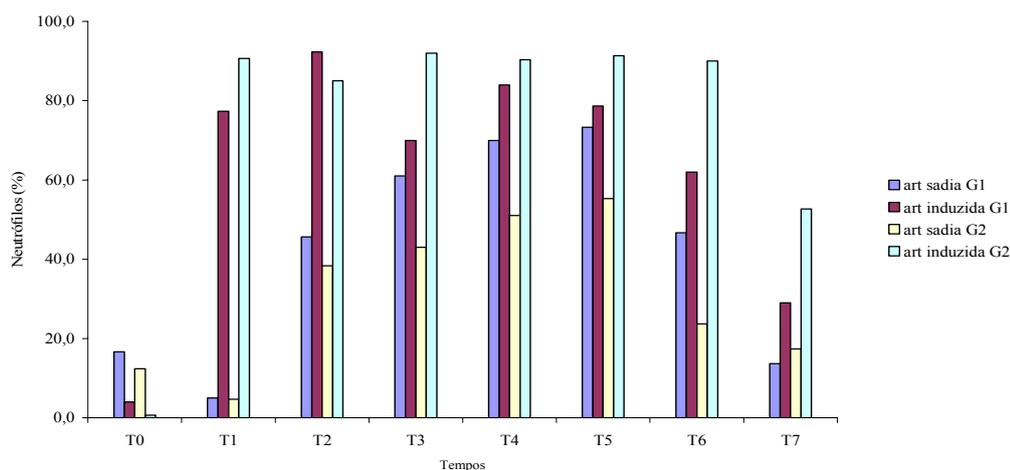


Figura 9 – Porcentagem média de neutrófilos do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e sadias, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.

Como nos neutrófilos, a porcentagem de macrófagos (Figura 10) diferiu entre as articulações sadias e com sinovite e entre os tempos de coleta ($p < 0,05$), ocorrendo variação dos valores com o tempo. No líquido sinovial das articulações sadias a porcentagem de macrófagos se manteve mais elevada ($p < 0,05$) do que no das articulações com sinovite durante todo o experimento, apresentando aumento significativo ($p < 0,05$) em T1 e T7. Nas articulações com sinovite induzida não houve variação na maioria dos períodos de coleta, ocorrendo aumento significativo somente em T7.

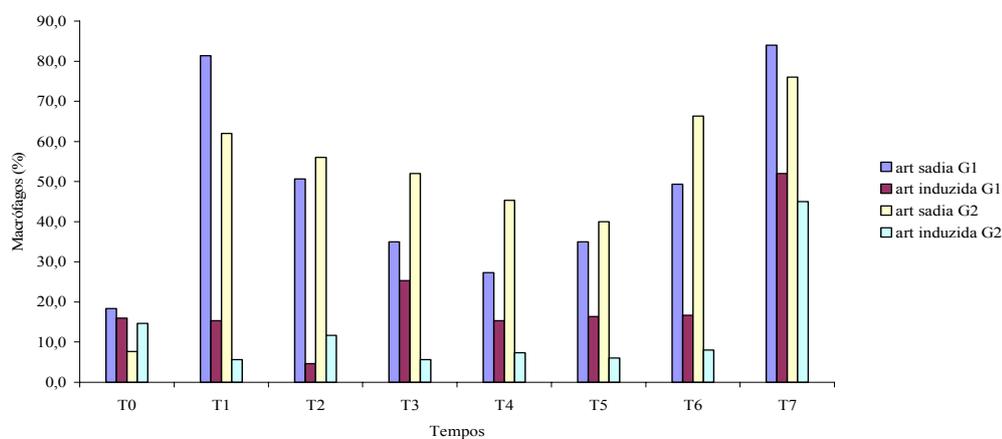


Figura 10 – Porcentagem média de macrófagos do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e sadias, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.

Os linfócitos não diferiram entre articulações com e sem sinovite e entre grupos, durante todo período de experimento. A porcentagem média variou entre 15,9% (T0) e 1,2% (T4) em todas as articulações avaliadas. O mesmo foi observado na porcentagem de eosinófilos, que ficaram entre 2,3% (T0) e 0,08% (T2). O grau de eritrofagocitose (Figura 11) nos esfregaços do líquido sinovial não diferiu entre as articulações e os grupos. Mas, apresentou diferença entre os tempos, tendo um aumento significativo em T2.

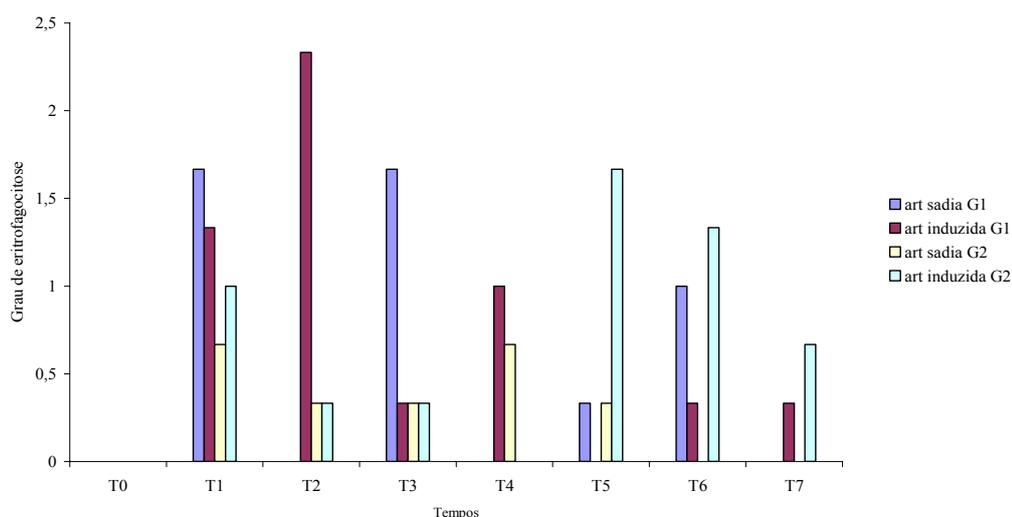


Figura 11 – Grau médio de eritrofagocitose do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e sadias, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.

As células mesoteliais foram observadas a partir de T1 (Figura 12) em todas as articulações, entre elas algumas reativas, exibindo uma borda citoplasmática com projeções, no líquido sinovial das articulações com sinovite induzida. A porcentagem dessas células diferiu ($p < 0,05$) entre as articulações e entre os tempos. O número destas células apresentou um aumento significativo nas articulações sadias apenas em T2.

A quantidade de proteína (Figura 13), grau de viscosidade (Figura 14) e qualidade da precipitação da mucina (Figura 15) não diferiram ($P > 0,05$) entre as articulações em T0. Como na contagem de leucócitos totais, houve um aumento dessas variáveis nas articulações com sinovite induzida em T1, continuando elevadas, sem variação, até 120 horas (T7) após o início do tratamento, independente do grupo. Nas articulações sadias não foi observada diferença ($p < 0,05$) na classificação da viscosidade

e qualidade da mucina até o final do experimento. A proteína aumentou significativamente ($p < 0,05$) em T5 e T6.

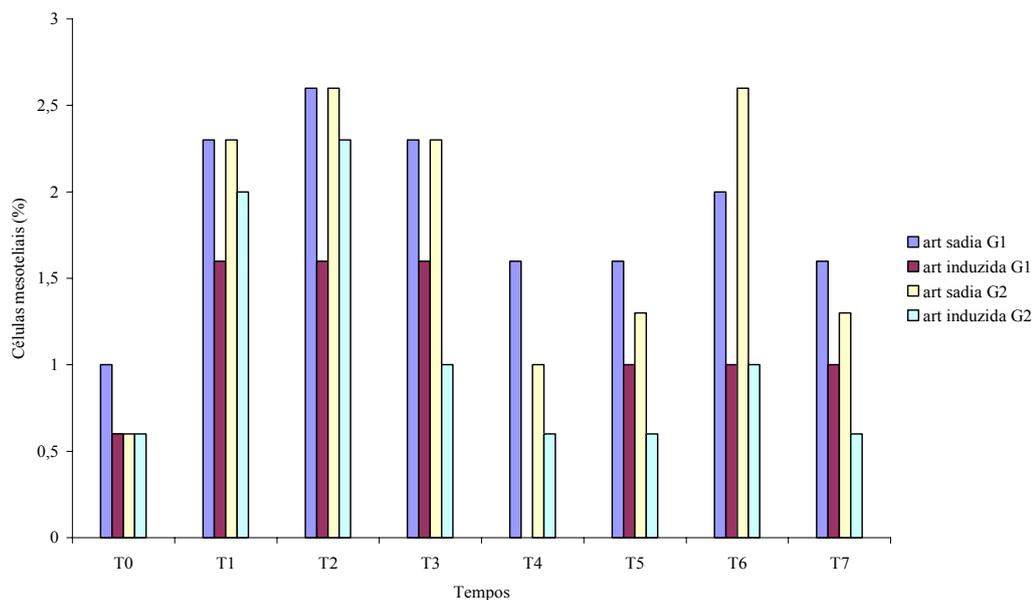


Figura 12 – Porcentagem média de células mesoteliais do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e sadias, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.

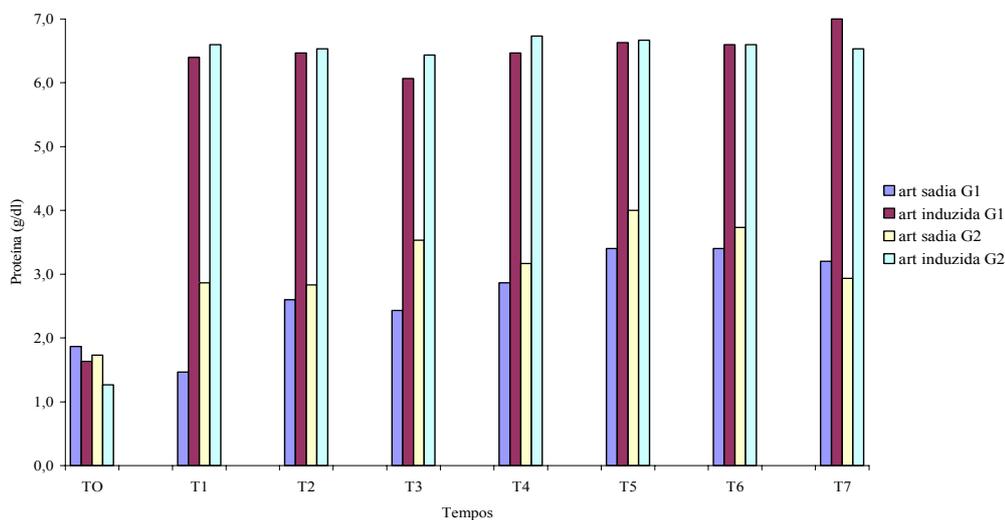


Figura 13 – Concentração média de proteína do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e sadias, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.

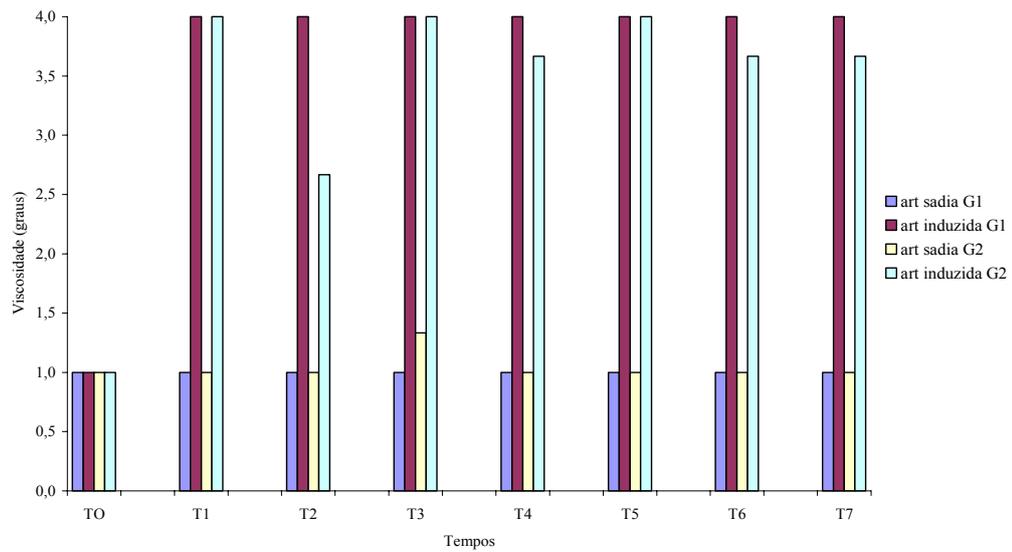


Figura 14 – Médias da viscosidade do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e sadias, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.

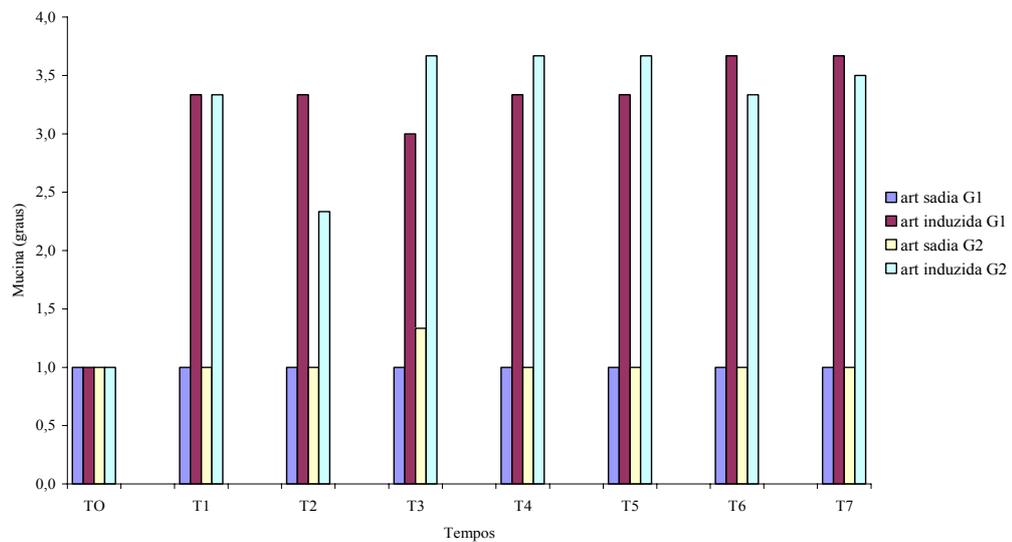


Figura 15 – Médias da qualidade do precipitado da mucina do líquido sinovial das articulações com sinovite induzida e sadias, de pôneis do grupo controle (G1) e tratado com parecoxib (G2), nos diferentes tempos de coleta.

5. DISCUSSÃO

A infiltração intra-articular com adjuvante de Freund nos pôneis, induziu sinovite e causou aumento de volume, dor, calor e diminuição da amplitude de movimento das articulações. No exame clínico geral foram observados aumento da T e FC, e no específico, edema articular com distensão da cápsula, diminuição do CP, do AFM e conseqüente claudicação. Os sinais clínicos específicos observados neste estudo reproduziram aqueles descritos por WHITE et al. (2003), que ao utilizarem o mesmo modelo de indução de sinovite, obtiveram sinais clínicos semelhantes à sinovite aguda ocorrida naturalmente. Este é o principal motivo pelo qual este modelo tem sido usado por mais de 20 anos para avaliar a eficácia de muitos fármacos para o tratamento de doença articular em eqüinos (WHITE et al., 2003).

A intensidade da dor decorrente de processos inflamatórios, entre outros, é estimada clinicamente através da elevação observada na FC, FR e T. A elevação da FC observada 24, 48 e 72 horas após o início do tratamento, em relação à FC antes da indução da sinovite no grupo controle, é atribuída à dor resultante da sinovite nesse período. A ausência de variação entre os grupos na FR foi, provavelmente, resultante do alto coeficiente de variação (CV= 28,3%) encontrado. A estabilidade da T e FC verificada no grupo tratado é atribuída à ação do parecoxib. Os AINEs, dos quais o parecoxib é um representante moderno, caracterizam-se por aliviar os sinais de dor e claudicação associados com a inflamação articular através da redução de impulsos nociceptivos periféricos da articulação inflamada, analgesia central (CARLSSON et al., 1988) e inibição da PGE₂, que acentua a percepção da dor (McILWRAITH, 1996).

A presença de dor no sistema músculo-esquelético é localizada por ocasião da avaliação de claudicação, palpação dos membros e flexão das articulações (McILWRAITH & TROTTER, 1996). Os pôneis tratados com parecoxib mantiveram o CP e apresentaram redução gradativa do GC a partir de T3, chegando ao final do experimento com claudicação clinicamente presente de forma muito discreta, mas estatisticamente semelhante a T0. Já os pôneis do grupo controle, apresentaram aumento significativo da claudicação a partir de T4. MORTON et al. (2005) utilizando etodolac, um AINE também seletivo, observaram redução da claudicação 24 horas após administração em sinovite induzida por lipopolissacarídeo.

O AFM apresentou correlação negativa com o GE, ou seja, quanto maior o GE, menor o AFM. Isto confirma que a efusão articular reduz a flexão da articulação (McILWRAITH & TROTTER, 1996) com conseqüente encurtamento do passo.

A manutenção do CP, redução do GC e aumento do AFM da articulação afetada observada nos pôneis tratados atestam, principalmente, o efeito analgésico do parecoxib, confirmando a rápida e constante ação do fármaco sobre a dor, como o observado por DANIELS et al. (2000); BARTON et al. (2002) e RASMUSSEN et al. (2002) em humanos. Os resultados da avaliação do GC, AFM e CP são semelhantes aos obtidos por WHITE et al. (1996) utilizando glicosaminoglicanos polissulfatados e hialuronato de sódio no tratamento do mesmo modelo de sinovite.

A efusão das articulações com sinovite induzida no grupo controle aumentou à medida que o tempo transcorreu, enquanto que no grupo tratado com parecoxib ela se manteve estável durante todo o período de observação. Este resultado é semelhante aos achados de WHITE et al. (2003). A circunferência articular aumentou significativamente apenas entre 9 e 10 dias (T6 e T7) após a indução da sinovite, nos animais do grupo controle. Já no grupo tratado, o volume da articulação com sinovite se manteve estável durante todo o período de estudo, indicando que o parecoxib atenuou a formação do edema e efusão articular. Não foi observada presença de efusão ou aumento da circunferência articular nas articulações controle neste estudo, ao contrário do observado por CAMPEBELL et al. (2004), ou seja, o trauma devido às artrocenteses repetidas não foi identificado clinicamente na articulação, somente durante a análise do líquido sinovial.

A aparência do líquido sinovial foi avaliada macroscopicamente no momento da punção articular. O líquido sinovial obtido na artrocentese de todas as articulações sadias, no início do experimento (antes da indução de sinovite) e nos controles negativos (articulações não induzidas) apresentou cor amarelo palha, sem turvação e boa viscosidade. Estas características macroscópicas estavam de acordo com os parâmetros fisiológicos (McILWRAITH & TROTTER, 1996). A presença de opacidade e algum material coagulado nas amostras obtidas das articulações cinco dias após a administração do adjuvante completo de Freund, foi considerada indicativo de sinovite e se manteve durante todo o período de avaliação. A turvação do líquido sinovial é causada pela elevação nos níveis de proteína e celularidade do mesmo, conforme McILWRAITH & TROTTER, (1996). As alterações marcantes das características macroscópicas do líquido sinovial observadas neste estudo são comuns em sinovite

aguda (traumática), enquanto que em doença degenerativa crônica e osteocondrite dissecante elas geralmente são mínimas (McILWRAITH & TROTTER, 1996).

A artrocentese repetida não modificou a viscosidade e qualidade da precipitação da mucina nas articulações sadias, no decorrer do experimento. O teste da qualidade do precipitado da mucina e de viscosidade são métodos semiquantitativos para avaliar o grau de polimerização do ácido hialurônico no fluido sinovial (MAHAFFEY, 1992). Quanto mais inflamada a articulação, menor será a coagulação da mucina. Isto ocorre porque há diluição do ácido hialurônico e redução na sua produção, diminuindo a viscosidade do fluido sinovial e a lubrificação dos tecidos articulares. Quando aumenta a inflamação diminui a produção de ácido hialurônico e aumenta sua degradação pelas enzimas lisossomais (BERTONE, 2003). Mucina de qualidade boa ou razoável é associada com artrite traumática ou degenerativa, enquanto que mucina de qualidade baixa ou muito baixa geralmente é resultante de artrite séptica. Entretanto, a correlação não é muito forte porque mucina de baixa qualidade tem sido observada na presença de inflamação moderada (McILWRAITH & TROTTER, 1996). Por este motivo o teste da qualidade da mucina não é rotineiramente utilizado (MAHAFFEY, 1992; McILWRAITH & TROTTER, 1996).

A presença de eritrócitos variou bastante, tanto nas amostras obtidas das articulações sadias quanto nas com sinovite induzida. Apesar de se alternar o local da punção entre o aspecto dorso-medial e dorso-lateral para minimizar o trauma e hemorragia iatrogênicos no espaço articular, observou-se um aumento progressivo no número de eritrócitos. Eritrócitos não são considerados constituintes normais do fluido sinovial. Quando encontrados em pequeno número são atribuídos à contaminação da amostra no momento da artrocentese. A contagem de eritrócitos pode variar muito dependendo da contaminação durante a artrocentese (McILWRAITH & TROTTER, 1996), e do trauma devido a artrocenteses repetidas (TODHUNTER & LUST, 1992). Uma indicação de contaminação é o achado de plaquetas no exame citológico. A fagocitose de eritrócitos por macrófagos em uma amostra recentemente coletada e processada, sugere que os eritrócitos já estavam no fluido no momento da colheita (MAHAFFEY, 1992). No caso de traumatismo recente pode haver hemorragia articular significativa. Outras causas de hemorragia articular incluem alterações na coagulação e neoplasia (FISHER, 2003). Foi observada eritrofagocitose a partir da segunda artrocentese, sendo associada ao trauma, que causou a infiltração de eritrócitos no fluido

sinovial. Por esses motivos a contagem de eritrócitos no fluido sinovial não foi realizada neste estudo.

O aumento de leucócitos de aproximadamente 10 células/mm³ para mais de 200 células/mm³ nas articulações com sinovite induzida, confirma a ocorrência de inflamação. O número de células nucleadas no fluido sinovial de cavalos sadios varia entre 87 e 167 células/mm³. Mudanças qualitativas e quantitativas nos leucócitos podem indicar a magnitude da inflamação da membrana sinovial (McILWRAITH & TROTTER, 1996). Em artrite não infecciosa, a contagem de células nucleadas totais geralmente é inferior a 30.000 células/mm³, como a encontrada neste estudo, mas valores maiores que 100.000 células/mm³ podem ocorrer em artrite auto-imune, induzida por endotoxina, e em artrite reativa (BERTONE, 2003).

No quinto dia após a indução da sinovite (T1) foi observada uma elevação significativa no número de leucócitos no líquido sinovial das articulações induzidas, permanecendo elevados até 12 horas após o início do tratamento (T2), tanto no grupo tratado com parecoxib como no controle. A partir de T3 os leucócitos permaneceram em níveis considerados de caráter inflamatório (MAHAFFEY, 1992; McILWRAITH & TROTTER, 1996), porém sem diferença estatística dos valores encontrados antes da indução da sinovite. É possível que isto seja decorrente do elevado coeficiente de variação (CV=84,68%) e do pequeno número de animais, que também pode ter contribuído para a ausência de diferença significativa entre o grupo controle e tratado. O efeito dos AINEs sobre o número de leucócitos no exsudato inflamatório é contraditório e não tem sido relacionado com a inibição da ciclooxigenase (HIGGINS et al., 1984). Em geral, são necessárias doses bem mais elevadas para inibir a formação de edema e migração de leucócitos do que a necessária para inibir a geração de PGE₂. Assim, doses suficientes para desencadear estes efeitos são consideradas doses “verdadeiramente” antiinflamatórias. A inibição da síntese de PGE₂ é considerada mais como sendo uma medida do potencial analgésico do fármaco do que de sua atividade antiinflamatória. AINEs que requerem doses muito diferentes para efeitos diversos tendem a ser analgésicos em baixas doses. Já para se obter o efeito antiinflamatório são necessárias doses muito altas (MAY, 1996). Desta forma, para que se obtenha um efeito antiinflamatório mais significativo (inibição da migração de leucócitos), é provável que seja necessário aumentar a dose de parecoxib usada neste estudo.

A dosagem de medicamentos geralmente é expressa com base no peso corporal, de forma que basta multiplicar a dose pelo peso do cavalo. Isto funciona

razoavelmente em cavalos de porte médio (tamanho e peso médios), mas não em animais muito grandes (cavalos de tração) ou muito pequenos (pôneis) porque o processo de eliminação não aumenta linearmente com o peso corporal. A dose está aparentemente mais correlacionada com a área de superfície corporal do que com o peso. A relação entre a superfície corporal e o peso é grande em animais pequenos quando comparada à de animais de tamanho médio, e é menor em animais grandes. Portanto, a taxa de eliminação em animais menores geralmente é subestimada, enquanto que em animais maiores é superestimada (SAMS, 1991). O efeito da dose de parecoxib usada nos pôneis pode ter sido influenciado por este fator, apesar da dosagem utilizada ter apresentado um efeito clínico significativo. Para, melhor avaliar o efeito do parecoxib no modelo em questão, seria útil medir a concentração do fármaco no líquido sinovial além de conhecer a farmacocinética do parecoxib em sinovite eqüina.

Apesar da dose de parecoxib utilizada neste estudo, não ter apresentado efeito sobre os parâmetros citológicos e bioquímicos do líquido sinovial das articulações inflamadas, o efeito analgésico e inibitório sobre o edema e efusão torna este fármaco uma excelente opção para o tratamento de doenças em eqüinos. Principalmente para aqueles animais que necessitam de tratamento de longa duração, ou em animais jovens, velhos, imunodeficientes, desidratados, ou até nos que já possuem disfunção gastrointestinal ou renal.

Antes da indução da sinovite, em T0, o número médio de neutrófilos das articulações foi 8,4%. Tanto neutrófilos como células mononucleares são observadas no líquido sinovial sadio, mas a percentagem de neutrófilos geralmente é inferior a 10% (McILWRAITH & TROTTER, 1996). Os neutrófilos são, geralmente, as células predominantes no fluido sinovial de cavalos com doença inflamatória (MAHAFFEY, 1992). Neste trabalho, a porcentagem de neutrófilos das articulações com sinovite (G1 e G2), se mantiveram acima de 80% até 9 dias após a indução da sinovite (T6), caindo para menos de 60% no dia seguinte (T7). Os neutrófilos causam dano aos tecidos, pois eles liberam enzimas destrutivas e alteram o meio do fluido sinovial (McILWRAITH & TROTTER, 1996). Nas articulações sadias, em determinados períodos (entre T3 e T5), a porcentagem de neutrófilos aumentou significativamente. Este aumento pode ter sido devido à hemorragia articular causada pelo trauma das artrocenteses repetidas, pois na hemartrose ocorre exsudação neutrofílica (MAHAFFEY, 1992).

As células mononucleares encontradas no líquido sinovial são linfócitos, macrófagos e células sinoviais (MAHAFFEY, 1992). Neste trabalho, a porcentagem de

macrófagos do líquido sinovial das articulações sadias se manteve em média acima de 50%, e em alguns momentos (T1 e T7) ultrapassou 80%, pois estas células predominam no líquido sinovial sadio (MAHAFFEY, 1992). Nas articulações com sinovite induzida (G1 e G2), o número de macrófagos se manteve baixo, aumentando somente em T7 (48,5%). Os linfócitos não apresentaram nenhuma diferença, permanecendo entre 15,9 e 1,2%, níveis estes, considerados fisiológicos (MAHAFFEY, 1992). A proporção de macrófagos e linfócitos raramente fornece informação diagnóstica útil, e sinovite linfocítica é rara em eqüinos (MAHAFFEY, 1992). As células mesotélias diferiram entre articulações e entre tempos. O maior aumento foi observado nas articulações sadias em T2 (2,6%), permanecendo estáveis durante todo o experimento. Células intactas de revestimento sinovial são ocasionalmente aspiradas (MAHAFFEY, 1992). Estas células tornam-se facilmente reativas quando há aumento de fluido em cavidades corporais ou inflamação (SHELLY, 2003), e foram observadas no exame citológico do líquido sinovial das articulações induzidas.

Neste estudo, os eosinófilos se mantiveram em média entre 2,3% e 0,08%, não variando durante todo o experimento. A porcentagem de eosinófilos é, geralmente, inferior a 1% do total de células nucleadas (MAHAFFEY, 1992). A sinovite eosinofílica é rara, podendo ocorrer como uma reação alérgica a um produto injetado na articulação, ou devido à migração de parasitas, ou pode ser verdadeiramente idiopática (BERTONE, 2003).

As proteínas totais aumentaram de aproximadamente 2 g/dl para até 7 g/dl com a inflamação induzida neste experimento, atingindo níveis semelhantes aos encontrados por WHITE et al. (1996) usando o mesmo modelo de sinovite. O aumento da permeabilidade capilar que ocorre durante o processo inflamatório da articulação e as artrocenteses repetidas permite que proteínas com peso molecular elevado, principalmente globulinas, penetrem no espaço articular, resultando em uma concentração de proteína próxima à do plasma (VAN PELT, 1974). A quantidade relativa de albumina do líquido sinovial inflamado diminui, a $\alpha 2$ e γ globulinas aumentam, e o fibrinogênio aparece (McILWRAITH & TROTTER, 1996). O fluido sinovial é considerado alterado quando a proteína total estiver acima de 2,5 g/dl. Já, proteína acima de 4 g/dl, como a observada nas articulações com sinovite induzida, indica inflamação severa (McILWRAITH & TROTTER, 1996). O aumento de proteína no fluido sinovial observado nos pôneis deste estudo, além de ser causado pela inflamação induzida pelo adjuvante, também pode ser atribuído, em parte, à resposta

inflamatória desencadeada pelas artrocenteses repetidas (CAMPEBELL et al., 2004). Pois, um aumento discreto, porém estatisticamente significativo, da proteína devido às artrocenteses repetidas foi observado no líquido sinovial das articulações sadias.

6. CONCLUSÕES

- A injeção intra-articular com adjuvante de Freund, induziu uma sinovite de intensidade moderada a grave.
- O parecoxib, na dose de 0,55 mg/kg, diminuiu o grau de claudicação, atenuou a diminuição do comprimento do passo e da flexão articular, e inibiu o aumento da frequência cardíaca, da temperatura, e da efusão articular nos animais tratados, indicando efeito antiinflamatório, antipirético e principalmente analgésico no modelo de sinovite utilizado.
- A dose de parecoxib utilizada neste estudo não apresentou efeito sobre os parâmetros do líquido sinovial das articulações inflamadas, no modelo de sinovite utilizado.
- Para uma melhor avaliação da dose do fármaco utilizada para o tratamento de sinovite neste estudo, e até para se chegar a uma dose mais específica, seria útil realizar a farmacocinética do parecoxib na espécie em questão.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAEP. **Guide for veterinary service and judging of equestrian events**. American Association of Equine Practitioners, 1991, 149p.

ADAMS, H. R. Prostaglandinas. In: BOOTH, N. H. & Mc DONALD, L. E. **Farmacologia e terapêutica veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. Cap. 23. p. 363-381.

ALLYN, M., JOHNSTON, S. The gastroduodenal effects of buffered aspirin, carprofen, and etorlac in the dog. **ANNUAL ACVIM VETERINARY MEDICAL FORUM**, 16., 1998, San Diego. **Proceedings...** San Diego: ACVIM, 1998, p.731.

ANDRADE, S. F.; OLIVEIRA, C. M. N. L. Antiinflamatórios. In: ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. São Paulo: Roca, 1997. Cap. 8, p. 95-104.

BARTON, S. F. et al. Efficacy and safety of intravenous parecoxib sodium in relieving acute postoperative pain following gynaecologic laparotomy surgery. **Anesthesiology**, v. 97, p. 306-314, 2002.

BELUCHE, L. A. et al. Effects of oral administration of phenylbutazone to horses on in vitro articular cartilage metabolism. **American Journal Veterinary Research**, v. 62, p. 1916-1921, 2001.

BERTONE, A. L. Non-infectious arthritis. In: ROSS, M. W.; DYSON, S. J. **Diagnosis and management of lameness in the horse**. St. Louis: Saunders, 2003. Cap. 67. p. 606-610.

BERTONE, A. L. et al. Synovial fluid inflammatory mediators as markers of equine synovitis. **Veterinary Surgical**, v. 22, p. 372-373, 1993.

BOCHSLER, P. N.; SLAUSON, D. O. Inflammation and repair of tissue. In: SLAUSON, D. O; COOPER, B. J. **Mechanisms of disease**. St. Louis: Mosby, 2002. Cap. 4, p. 140-245.

BOOTH, N. H. Analgésicos não narcóticos. In: BOOTH, N. H. **Farmacologia e terapêutica veterinária**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. Cap. 1. p. 262-279.

BOOTHE, D. M. The pathogenesis and pharmacologic control of inflammation. **Veterinary Medicine**. v. 84, n. 7, 1989, p. 856-866.

BOVILL, J. G. Mechanisms of action of opioids and non-steroidal anti-inflammatory drugs. **European Journal Anesthesiology**, v. 15, n. 14, 1997, p. 9-15.

CAMPBELL, N. B., JONES, S.L., BLIKSLAGER, A. T. The effects of cyclo-oxygenase inhibitors on bile-injured and normal equine colon. **Equine Veterinarian**, v. 34, p. 493-498, 2002.

CAMPEBELL, R. C., et al. Effects of lidocaine on lipopolysaccharide-induced synovitis in horses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootenica**, v. 56, n. 3, p. 281-291, 2004.

CARLSSON, K. H. et al. Depression by morphine and the non-opioid analgesic agents, metamizol (dipyrone), lysine acetylsalicylate, and paracetamol, of activity in rat thalamus neurons evoked by electrical stimulation of nociceptive afferents. **Pain**, v. 32, p. 313-326, 1988.

CARROL, G. L. Analgesic and pain. **Small Animal Practice**, v. 29, 1999, p. 701-717.

CARVALHO, W. A., LEMÔNICA, L. Mecanismos celulares e moleculares da dor inflamatória. Modulação periférica e avanços terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 48, 1998, p. 137-158.

CLARK, D. M. The biochemistry of the degenerative joint disease and its treatment. **Compendium Continue Education Practicing Veterinarian**, v. 13, p. 275-284, 1991.

CONLON, P. D., Nonsteroidal drugs used in the treatment of inflammation. **Veterinary Clinic North American Small Animal Practice**, v. 18, p. 1115-1131, 1988.

DANIELS, S. E. et al. Pharmacokinetic and efficacy evaluation of intravenous parecoxib in a postsurgical dental pain model. **Clinical Pharmacology Therapy**, v. 67, p. 1-8, 2000.

EHRICH, E. W. et al. Effect of specific COX-2 inhibition in osteoarthritis of the knee: a 6 week double blind, placebo controlled pilot study of rofecoxib. **Journal Rheumatology**, v. 26, p. 2438-2447, 1999.

FANTONI, D. T., MASTROCINQUE, S. Fisiologia e controle da dor. In: FANTONI, D. T., CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2002, p. 321-336.

FISHER D. J. Sistema musculoesquelético. In: RASKIN, R. E. & MEYER, D. J. **Atlas de citologia de cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2003, p. 265-274.

FOX, S. M., CAMPBELL, S. Atualização: dois anos (1997-1998) de experiência clínica com rimadyl®. **Pfizer Saúde Animal-Boletim Técnico**, v. 1, 200, p. 4-6, 2000.

FREAN, S. P. et al. Effects of anti-arthritic drugs on proteoglycan synthesis by equine cartilage. **Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics**, v. 25, p. 289-298, 2002.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Resistência do organismo à infecção: leucócitos, granulócitos, o sistema monócito-macrófago e inflamação. In: _____ **Tratado de fisiologia médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997, Cap. 33, p. 397-404.

HIGGINS A. J. et al. Influence of phenylbutazone on eicosanoid levels in equine acute inflammatory exudates. **Cornell Veterinary**, v. 74, p. 198-207, 1984.

JEFFCOTT, L. B. et al. Assessment of wastage in thoroughbred racing from conception to 4 years of age. **Equine Veterinary Journal**, v. 14, p. 185-196, 1982.

KARIM, A. et al. A Pharmacokinetic study of intramuscular (IM) parecoxib sodium in normal subjects. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 4, p. 1111-1119, 2001.

LANGMAN, M. J. et al. Adverse upper gastrointestinal effects of rofecoxib compared with NSAIDs. **The Journal of the American Medical Association**, v. 282, p. 1929-1933, 1999.

MacALLISTER, C. G. et al. Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine, and ketoprofen in horses. **The Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 202, p. 71-77, 1993.

MAHAFFEY, E. A. Synovial fluid. In: COWELL, R. L.; TYLER, D. R. **Cytology and hematology of the horse**. California; American Veterinary Publications, 1992. Cap.10, p. 153-161.

MASTBERGEN, C. S. et al. **Differential direct effects of cyclo-oxygenase-1/2 inhibition on proteoglycan turnover of human osteoarthritic cartilage: an *in vitro* study**. Capturado em 28 nov. 2005. Online. Disponível na Internet <http://arthritis-research.com/content/8/1/R2>.

MATTHEWS, K. A. Nonsteroidal anti-inflammatory analgesics to manage acute pain in dogs and cats. **Compendium Continue Education Practicing Veterinarian**, v. 18, n. 10, p. 1117-1123, 1996.

MAY, S. A. Animal models and other experimental systems in the investigation of equine arthritis. In: McILWRAITH, C. W; TROTTER, G. W. **Joint disease in the horse**. Philadelphia: Saunders, 1996. Cap.26, p. 421-440.

McILWRAITH, C. W. Diseases of joints, tendons, ligaments, and related structures. In: STASHAK, T. S. **Adams' lameness in horses**. Philadelphia: Baltimore, 2002. Cap. 7, p. 469-644.

McILWRAITH, C. W. General pathobiology of the joint and response to injury. In: McILWRAITH, C. W; TROTTER, G. W. **Joint disease in the horse**. Philadelphia: Saunders, 1996. Cap.3, p. 40-70.

McILWRAITH, C. W.; TROTTER, G. W. Clinical features and diagnosis of equine joint disease. In: McILWRAITH, C. W; TROTTER, G. W. **Joint disease in the horse**. Philadelphia: Saunders, 1996. Cap.8, p. 120-144.

MORTON, A.J. et al. Preferential and non-selective cyclooxygenase inhibitors reduce inflammation during lipopolysaccharide-induced synovitis. **Research in Veterinary Science**, p. 189-192, 2005.

MUIR, W. Recognizing and treating pain in horses. In: Reed, S. et al. **Equine internal medicine**. St. Louis: Saunders, 2004. Cap. 22, p. 1529-1541.

MURRAY, M. J. et al. Factors associated with gastric lesions in thoroughbred race horses. **Equine Veterinary Journal**. v. 28, p. 368-374, 1996.

OWENS, J. G. et al. Pharmacokinetics of ketoprofen in healthy horses and horses with acute synovitis. **Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics**, v.18, p. 187-195, 1995.

PFIZER. Monografia Bextra IV/IM. **Laboratórios Pfizer Ltda**, São Paulo, 2003, 58 p.

RASMUSSEN, G. L. et al. Intravenous parecoxib sodium for acute pain after orthopedic knee surgery. **American Journal Orthopedic**, v. 31, p. 336-343, 2002.

SAMS, R. A. Principles of drug disposition and drug interaction in horses. In: MUIR, W. W. & HUBBELL, J. A. E. **Monitoring and emergency therapy**. St. Louis: Mosly, 1991. Cap. 9. p. 180-198.

SAS Statistical Analysis System User's Guide. 4. ed. Cary: SAS Institute, 1996, 842p.

SHELLY, S. M. Fluidos de cavidades corporais. In: RASKIN, R. E. & MEYER, D. J. **Atlas de citologia de cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2003, p. 157-172.

SIMON, L. S. et al. Anti-inflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. **The Journal of the American Medical Association**, v. 282, p. 1921-1928, 1999.

TALLEY, J. J. et al. 4-[5-methyl-3-phenylisoxazol-4-yl]-benzenesulfonamide, valdecoxib: a potent and selective inhibitor of COX-2. **Journal Medical Chemistry**, v. 43, p. 775-777, 2000.

TASAKA, A. C. Antiinflamatórios não esteroidais. In: SPINOSA, H. S., GÓRNIK, S. L., BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**, 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, Cap. 21, p. 225-250.

TEIXEIRA, M. J. Fisiologia da dor. In: _____ **Dor: conceitos gerais**. São Paulo, Limay, 1994, p. 8-32.

TODHUNTER, R. J.; LUST, G. Synovial joint anatomy, biology, and pathobiology. In: AUER J., **Equine surgery**. Philadelphia: WB Saunders, 1992, p. 844-866.

TOUTAIN, P. L. et al. Plasma concentrations and therapeutic efficacy of phenylbutazone and flunixin meglumine in the horse: pharmacokinetic/ pharmacodynamic modelling. **Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics**, v. 17, p. 459-469, 1994.

VAN PELT, R. W. Interpretation of synovial fluid findings in the horse. **The Journal of the American Veterinary Medical Association**, p. 91-95, 1974.

VANE, J. R., BOTTING, R. M. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. **Inflammation Research**, p. 1-10, 1995.

WHITE, G. W. et al. Efficacy of systemically administered antiarthritic drugs in an induced equine carpal model. **AAEP Proceedings**, v. 42, p.135-138, 1996.

WHITE, G. W. et al. Efficacy of intramuscular chondroitin sulfate and compounded acetyl-d-glucosamine in a positive controlled study of equine carpal. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 23, p. 295-300, 2003.

YUAN, J. J. et al. Disposition of a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, valdecoxib, in human. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 30, p. 1013-1021, 2002.