

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO FIROCOXIB EM
COMPARAÇÃO À FENILBUTAZONA NA SINOVITE
INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM EQUINOS**

Matheus Henrique Magalhães Silva

Médico Veterinário

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO FIROCOXIB EM COMPARAÇÃO À
FENILBUTAZONA NA SINOVITE INDUZIDA POR
LIPOPOLISSACARÍDEO EM EQUINOS

Matheus Henrique Magalhães Silva

Orientador: Prof. Dr. Antonio de Queiroz Neto

Coorientador: Prof. Dr. David Luciano Rosalen

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária)

2013

Silva, Matheus Henrique Magalhães
S586a Avaliação da eficácia do firocoxib em comparação à fenilbutazona
na sinovite induzida por lipopolissacarídeo em equinos / Matheus
Henrique Magalhães Silva. -- Jaboticabal, 2013
xii, 48 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013
Orientador: Antonio de Queiroz Neto
Coorientador: David Luciano Rosalen
Banca examinadora: Deborah Penteado Martins Dias, Luiz Claudio
Nogueira Mendes
Bibliografia

1. Firoxib. 2. Fenilbutazona. 3. Sinovite. 4. Lipopolissacarídeo 5.
Equinos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias.

CDU 619:615.1:636.1

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MATHEUS HENRIQUE MAGALHÃES SILVA, natural de Ribeirão Preto – SP obteve o título de Médico Veterinário pela Universidade Estadual de São Paulo em janeiro de 2010. Graduado em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, campus de Jaboticabal em janeiro de 2010. Atualmente cursando Mestrado em Clínica Médica Veterinária na mesma instituição, onde atua nas áreas de Fisiologia do Exercício, Farmacologia e Medicina Esportiva Equina. Participa de diversos projetos nas áreas de Farmacologia e Fisiologia do Exercício junto ao Laboratório de Fisiologia do Exercício Equino e Farmacologia (*Lafeq*®).

Agradeço aos meus amados pais,
por todo apoio e compreensão
Estando sempre ao meu lado...

Sempre!

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda a glória que deposita em minha vida!

Aos meus queridos pais, que desde o princípio sempre me amaram e me apoiaram em todas minhas decisões. Minhas queridas irmãs Lívia e Letícia pelos ensinamentos e convivência familiar.

A esta maravilhosa casa que me acolheu durante estes 8 anos de minha vida, onde consegui a profissão que tanto almejei e me tornei um ser humano melhor para caminhar com minhas próprias pernas.

Ao meu orientador Professor Doutor Antonio de Queiroz Neto por me tutoriar de bom grado, os ensinamentos que obtive com o senhor levarei por toda vida sou imensamente grato.

Ao meu coorientador Professor Doutor David Luciano Rosalen, pelos esclarecimentos e apoio na execução deste trabalho.

Aos meus companheiros de lida Raquel Albernaz, Renatha Araújo, Walter Feringer e Roberta Basile muito obrigado pelo trabalho em grupo e convivência proveitosa na companhia de vocês.

As estagiárias que sempre estiveram presentes no desenrolar do experimento Emília Davanzo, Paola Buzollo, Tamiris Rezende e Andréa Cavalheiro com inestimável ajuda.

Às minhas queridas colegas de departamento Flora D'Angelis, Helena Brito e Bel Mataqueiro pela mão amiga sempre disposta a ajudar.

Aos meus estimados colegas de república André Antunes, Samuel Souza e Álvaro Paiva pela convivência, ensinamentos e companheirismo que estão marcados por toda vida.

A minha querida Tâmara Borges, por ser meu ponto de equilíbrio e fazer minha vida rica em momentos felizes.

Aos queridos cavalos, animais incríveis e maravilhosos fonte de inspiração para este trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
3. OBJETIVOS.....	12
3.1. Objetivo Geral.....	12
3.2. Objetivos Específicos.....	13
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
4.1. Animais e grupos experimentais.....	13
4.2. Indução da lesão.....	14
4.3. Administração de fármacos.....	14

4.4.Exame físico.....	15
4.5. Avaliação termográfica.....	16
4.6. Avaliação ultrassonográfica.....	29
4.7. Análise de dados.....	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5.1. Avaliação clínica ao longo do processo inflamatório de acordo com os tratamentos propostos.....	21
5.2. Análise ultrassonográfica.....	28
5.3. Avaliação termográfica.....	34
6. CONCLUSÃO.....	39
7. REFERÊNCIAS.....	40

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO FIROCOXIB EM COMPARAÇÃO À FENILBUTAZONA NA SINOVITE INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM EQUINOS

RESUMO - A claudicação é uma condição comum em equinos e a principal causa de perdas econômicas em animais atletas. Sinovites e artrites são frequentemente tratadas pela administração de anti-inflamatórios não esteroidais, os quais inibem a enzima ciclooxigenase (COX-1 e COX-2). A COX-1 é expressa constitutivamente nos tecidos do organismo e atua basicamente em funções fisiológicas, enquanto a COX-2 é uma enzima que embora também constitutiva, é induzida principalmente por ocasião de estímulos inflamatórios. O objetivo deste estudo foi comparar o efeito anti-inflamatório do fármaco, rotineiramente utilizado em enfermidades ortopédicas dos equinos, anti-inflamatório COX não seletivo, fenilbutazona, com o fármaco inibidor mais seletivo da COX-2, firocoxib, na sinovite induzida por lipopolissacarídeo (LPS) em equinos. Três grupos: controle (CONTROL, n=10), Firocoxibe (FIRO, n=10) e Fenilbutazona (FENIL, n=9). Foram infiltrados com 3mL de solução salina contendo 4,5 ng de lipopolissacarídeo de *E. coli* induzindo sinovite na articulação metacarpofalangeana do membro torácico esquerdo dos animais. Seguiu-se: administração das drogas no instante 0 hora e aferições seriadas de: exame físico, avaliação termográfica e análise ultrassonográfica nos tempos 0, 3, 9, 12, 24 e 48 horas. A reação inflamatória foi evidenciada após 3 horas da injeção de LPS, observando-se o quadro de claudicação em todos os grupos experimentais. Após 9 horas: aumento da temperatura retal no grupo FIRO. Alterações ultrassonográficas foram significativas em todos os grupos experimentais; Após 12 horas: aumento da temperatura retal nos grupos CONTROL e FIRO; Após 16 e 20 horas: a eficácia da droga foi superior ao grupo CONTROL mediante a avaliação termográfica; Após 24 horas: a temperatura retal dos animais do grupo FIRO estava mais baixa do que a do grupo CONTROL. Concluiu-se que o fármaco firocoxibe foi eficiente em controlar a inflamação a partir de 16 horas.

Palavras-chave: sinovite, equinos, fenilbutazona, firocoxibe, lipopolissacarídeo

EVALUATING THE EFFECTIVENESS OF FIROCOXIB COMPARED TO PHENYLBUTAZONE TO TREAT LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED SYNOVITIS IN HORSES

ABSTRACT - Lameness is a common condition in horses which causes significant economic losses in animal athletes. Synovitis and arthritis are often treated with non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), which inhibit cyclooxygenase (COX-1 and COX-2). COX-1 is constitutively expressed in tissues of the body and acts primarily on physiological functions, whereas COX-2 is also a constitutive enzyme which is mainly induced upon inflammatory stimuli. This study compares the anti-inflammatory effect of the drug routinely used to treat orthopedic affections in horses, the nonselective COX anti-inflammatory, phenylbutazone, with the more selective inhibitor of COX-2, firocoxib, to treat lipopolysaccharide-induced synovitis (LPS) in horses. A total of 29 horses were divided into three groups: control (CONTROL, n=10), firocoxib (FIRO, n=10) and Phenylbutazone (PHENYL, n=9). The horses were infiltrated with 3 mL of saline containing 4.5 ng of lipopolysaccharide from *E. coli* in order to induce synovitis in the metacarpophalangeal joint of the left forelimb. Subsequently to the drug administration (time 0), the following actions were taken: physical exam, thermographic and ultrasound examination at 0, 3, 9, 12, 24 and 48 hours. The inflammatory reaction was observed 3 hours after LPS injection while horses of all experimental groups presented lameness. Nine hours after the injection, the rectal temperature increased in the horses of the FIRO group. Furthermore, ultrasonographic changes were detected in all experimental groups. After 12 hours, rectal temperature increased in horses of both CONTROL and FIRO groups. After 16 and 20 hours, the temperature measurements showed that drug efficacy was higher compared to the CONTROL group. After 24 hours, rectal temperature of horses in the FIRO group was lower than the CONTROL group. It was concluded that firocoxib was effective in controlling inflammation from 16 hours after treatment had started.

Keywords: synovitis, horses, phenylbutazone, firocoxib, lipopolysaccharide

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Linha do tempo indicando os tempos (horas) de avaliação dos parâmetros termográficos, ultrassonográficos e físicos: frequência cardíaca (FC); frequência respiratória (FR); temperatura retal (T°C); perímetro da circunferência articular (P_{cm}), claudicação (Cla) durante o estudo.....15
- Figura 2.** Imagem fotográfica de um equino em posição quadrupedal com os membros torácicos alinhados para aquisição das imagens termográficas em projeção dorsal. No tempo 3 horas.....17
- Figura 3.** Imagem termográfica da posição distal dos membros torácicos adquirida em projeção dorsal. O retângulo branco demarca a área de avaliação de pixels onde aferiu-se a temperatura máxima alcançada na articulação metacarpofalangeana no tempo 3 horas.....19
- Figura 4.** Imagem fotográfica demonstrando a avaliação ultrassonográfica da articulação metacarpofalangeana do membro torácico esquerdo em projeção sagital dorsal utilizada para a análise da distensão da articulação.....20
- Figura 5.** Imagem fotográfica da extremidade distal dos membros torácicos de equino do grupo controle submetido à injeção intra-articular de 4,5 ng de LPS de *E. coli*. Observa-se aumento de volume na face lateral da articulação metacarpofalangeana e bainha tendínea esquerda 9 horas após a injeção (seta)...26
- Figura 6.** Imagem ultrassonográfica da articulação metacarpofalangeana de equino imediatamente antes (basal) e após 9 horas da indução da lesão. A cruz amarela indica os locais de medida da distensão de cápsula. Em **a** (pele), **b** (cápsula articular), **c** (terceiro metacarpiano) e **d** (primeira falange).....29

Figura 7. Imagem ultrassonográfica do ligamento suspensor do boleto após 9 horas da indução inflamatória. Em **a**: vasos, **b**: ligamento suspensor do boleto, **c**: terceiro osso metacarpiano.....34

Figura 8. Representação gráfica da variação da temperatura máxima do membro torácico esquerdo (°C) dos equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados com Firocoxib e Fenilbutazona em relação ao tempo em horas.....37

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Escores de claudicação segundo ROSS & DYSON (2003).....16
- Tabela 2.** Escores de parâmetros qualitativos relativos ao acúmulo de líquido sinovial (unidades arbitrárias) na avaliação ultrassonográfica da articulação metacarpofalangeana de equinos submetidos à indução de sinovite.....21
- Tabela 3.** Valores médios \pm desvio padrão da frequência cardíaca (bpm) ao longo do tempo (horas) de equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....22
- Tabela 4.** Valores das medianas (25%; 75%) da frequência respiratória (mpm) ao longo do tempo (horas) de equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....23
- Tabela 5.** Valores médios \pm desvio padrão da temperatura retal ($^{\circ}$ C) ao longo do tempo (horas) de equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....24
- Tabela 6.** Valores médios \pm desvio padrão do perímetro (cm) da articulação metacarpofalangeana quantificado na altura do ligamento colateral em equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....25
- Tabela 7.** Valores médios \pm desvio padrão do perímetro (cm) da articulação metacarpofalangeana quantificado na extremidade distal do terceiro osso metacarpiano em equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....25

Tabela 8. Valores das medianas (25%; 75%) do grau de claudicação ao trote equinos em submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....27

Tabela 9. Valores médios \pm desvio padrão da distensão da cápsula articular determinada pela distância (mm) entre a cápsula articular e o terceiro osso metacarpiano do membro torácico esquerdo em equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....28

Tabela 10. Valores médios \pm desvio padrão da distensão da cápsula articular determinada pela distância (mm) entre a cápsula articular e o terceiro osso metacarpiano do membro torácico direito em equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....30

Tabela 11. Valores das medianas (25%; 75%) da avaliação qualitativa por ultrassom da quantidade de fluido (unidades arbitrárias) sinovial presente na articulação metacarpofalangeana do membro torácico esquerdo de equinos submetidos a injeção de LPS na articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....31

Tabela 12. Valores das medianas (25%; 75%) da avaliação qualitativa por ultrassom da quantidade de fluido (unidades arbitrárias) sinovial presente na articulação metacarpofalangeana do membro torácico direito de equinos submetidos a injeção de solução salina na articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....31

Tabela 13. Valores das medianas (25%; 75%) da avaliação qualitativa por ultrassom da quantidade de fluido (unidades arbitrárias) do ligamento suspensor do boleto do membro torácico esquerdo de equinos submetidos à indução de sinovite por LPS na articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....33

Tabela 14. Valores das medianas (25%; 75%) da avaliação qualitativa por ultrassom da quantidade de fluido (unidades arbitrárias) do ligamento suspensor do boleto do membro torácico direito de equinos submetidos à punção e injeção de solução salina na articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona.....33

Tabela 15. Valores médios \pm desvio padrão da temperatura máxima do membro torácico esquerdo ($^{\circ}\text{C}$) dos equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados com Firocoxib e Fenilbutazona em relação ao tempo em horas..... 36

1. INTRODUÇÃO

A utilização de equinos para prática esportiva é comum, sendo estes animais vistos como atletas e submetidos a protocolos de treinamento que visam à melhoria de seu desempenho. A atividade física, dependendo da sua intensidade e duração, provoca aumento na carga imposta aos tecidos articulares devido aos esforços repetidos, podendo levar a injúrias mecanicamente induzidas (MCILWRAITH & TROTTER, 1996).

A maior causa de término da carreira esportiva de equinos jovens são as doenças articulares. Portanto, torna-se fundamental o diagnóstico precoce, tratamento adequado e prevenção de processos degenerativos crônicos que levam a perda de função (CARON & GENOVESE, 2003).

Os fármacos rotineiramente utilizados para o controle de processos inflamatórios dolorosos são os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). O efeito destas substâncias está relacionado à inibição da enzima cicloxigenase, que catalisa a transformação do ácido araquidônico em diversos mediadores lipídicos, denominados prostaglandinas e tromboxanos (FITZGERALD & PATRONO, 2001).

Os primeiros anti-inflamatórios não esteroidais desenvolvidos, apesar de terem eficácia comprovada quanto ao efeito que se propõe, têm uso limitado devido a seus efeitos adversos, como gastrites, úlceras gástricas e discrasias sanguíneas (McILWRAITH & TROTTER, 1996).

Duas isoformas da enzima cicloxigenase são caracterizadas, cicloxigenase-1 (COX-1) e cicloxigenase-2 (COX-2). A COX-1 é expressa constitutivamente nos tecidos do organismo e atua basicamente em funções fisiológicas, enquanto a COX-2 é uma enzima que embora participe de alguns processos fisiológicos é induzida principalmente por ocasião de estímulos inflamatórios (TASAKA, 2002). Portanto, é possível reduzir a toxicidade dos anti-inflamatórios não esteroidais utilizando fármacos inibidores seletivos mais específicos da enzima COX-2 (MAY & LEES, 1996).

Em 2007 foi aprovada pelo Comitê de Produtos Médicos de uso Veterinário (CVMP) da União Europeia a utilização do fármaco firocoxib em equinos, indicado para o tratamento da dor e inflamação associada à osteoartrite (HANSON &

MADDISON, 2008). O estudo no qual se comprovou a eficácia clínica do firocoxib foi publicado por Doucet et al. (2008), sendo esta pesquisa conduzida em animais com osteoartrite, ou seja, portadores da forma crônica da enfermidade articular e avaliados apenas pelo exame clínico.

Segundo May (1996) o modelo de indução de lesão articular apresenta vantagens em relação à enfermidade desenvolvida naturalmente, pois além de possibilitar determinação do início da doença, permite acompanhar a evolução e desenvolvimento da enfermidade, determinantes para o sucesso terapêutico.

A resposta inflamatória e analgésica aos fármacos foi amplamente estudada na articulação do carpo de equinos (LINDEGAARD et al., 2010; POZZOBON et al., 2008; MORTON et al., 2005; CAMPEBEL et al., 2004). Contudo, observa-se quadros de sinovite onde a articulação metacarpofalangeana é mais acometida em animais utilizados para a prática esportiva, pois está constantemente submetida a sobrecargas que podem levar a lesão por esforços repetitivos (RICHARDSON, 2003).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Frente a uma agressão tecidual, a resposta inflamatória se inicia por fenômenos vasculares mediados inicialmente pela histamina. O resultado é a vasodilatação local com extravasamento de plasma e proteínas para o local da lesão. Em seguida, inicia-se a produção local de mediadores inflamatórios, dentre eles os derivados do ácido araquidônico, que também promovem aumento da permeabilidade capilar e quimiotaxia, processo químico pelo qual células polimorfonucleadas são atraídas para o foco da lesão. O processo de fagocitose realizado pelas células polimorfonucleadas também produz mediadores químicos como citocinas, quimiocinas prostaglandinas e leucotrienos (BERTONE, 2003).

Em face de uma injúria tecidual, as membranas celulares danificadas liberam um ácido graxo denominado ácido araquidônico formado a partir de fosfolípidos que sofrem a ação das enzimas fosfolipases. Este ácido é precursor de mediadores inflamatórios, os eicosanoides, quando o mesmo sofre ação de enzimas cicloxigenases (COX) e lipoxigenase (LOX), As COXs originam prostanóides, que

correspondem às prostaciclina, prostaglandinas (PG) e tromboxanos, enquanto que das lipoxigenases (LOX) originam-se as lipoxinas e leucotrienos. Ao serem liberados esses mediadores químicos desencadeiam processos que tentam combater o agente agressor com vasodilatação, influxo de leucócitos para a região da injúria e aumento da permeabilidade vascular (LEONE et al., 2007; TASAKA, 2002; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1991).

Os sinais característicos da inflamação são cinco : dor, calor, rubor, tumor e perda de função. Os anti-inflamatórios tem como seu principal objetivo promover uma analgesia eficiente, porém a medida que se desenvolvem estudos sobre a fisiopatologia da inflamação também aumenta o viés de aplicações dos anti-inflamatórios (LUENGO, 2005).

Documentos comprovam que em 1534 antes de Cristo os egípcios possuíam conhecimentos das propriedades antipiréticas, anti-inflamatórias e analgésicas da casca de uma árvore conhecida por salgueiro branco, o *Salix alba*, de onde posteriormente isolaram o composto salicina. Submetida a várias purificações, a salicina deu origem ao ácido acetilsalicílico (AAS), que em 1899 começou a ser utilizado na prática médica por diversos profissionais, sendo considerado o primeiro anti-inflamatório descoberto; em 1934 a Bayer patenteou o ácido acetilsalicílico e o chamou de Aspirina[®] (BRAÑA et al., 2005). Esse anti-inflamatório não esteroide muito conhecido destaca-se muito na época de sua criação e o mecanismo de ação de seu composto, o ácido acetilsalicílico, é responsável pela supressão da síntese de prostaglandinas e foi elucidado por Vane (1971).

As PG foram os prostanóides que primeiro foram isolados em tecidos, especificamente em extratos de próstata, por isso foram assim denominados. Esses mediadores estão envolvidos na regulação das atividades biológicas de praticamente todas as células e tecidos, exercendo efeitos sobre diversos tecidos como: rins, estômago, órgãos reprodutores, sistema nervoso, musculatura lisa, processos inflamatórios e de coagulação e controle da pressão sanguínea. O envolvimento das PG em diversos processos patológicos foi um grande estímulo ao desenvolvimento dos AINEs, drogas que estão entre as mais prescritas no mundo (LAMANO-CARVALHO, 2007). Moncada et al. (1973) descobriram que o bloqueio

da síntese de prostaglandinas se dava por inibição da ciclooxigenase. Na segunda metade do século XX diversos AINEs foram desenvolvidos, como a fenilbutazona, os fenamatos (classe à qual pertencem os ácidos mefenâmico e meclofenâmico), a indometacina e o naproxeno (LUENGO, 2005).

No início dos anos 90, descobriu-se uma segunda forma da ciclooxigenase, a COX-2. Essas duas isoformas, designadas COX-1 e COX-2, foram chamadas por algum tempo de constitutiva e induzida, respectivamente. A COX-1 seria expressa constitutivamente nos tecidos do organismo atuando basicamente, em funções fisiológicas, enquanto a COX-2 seria uma enzima induzida principalmente por ocasião de estímulos inflamatórios (TASAKA, 2002). Ou seja, a COX-1 seria responsável por diversas funções fisiológicas benéficas, enquanto a COX-2 se manifestaria somente sob certas condições, como em processos inflamatórios (SÜLEYMAN et al., 2007). Baseados nessa premissa, estudos foram feitos para o desenvolvimento de medicamentos inibidores seletivos de COX-2, esperando-se reduzir a incidência de efeitos indesejados, especialmente os gastrintestinais (LAMANO-CARVALHO, 2007; SÜLEYMAN et al., 2007). Assim sendo, seria possível reduzir a toxicidade dos antiinflamatórios não esteroidais utilizando fármacos inibidores seletivos mais específicos da enzima COX-2 (MAY & LEES, 1996). Os primeiros fármacos de inibição seletiva de COX-2 surgiram na década de 1980 (meloxicam e nimesulide), sendo também chamados de inibidores preferenciais. No entanto, recentemente foi comprovado que não existe uma divisão tão precisa nas atividades das duas isoformas, sendo que a COX-1 também está envolvida nos processos inflamatórios (sobretudo na hiperalgesia) e a COX-2 se expressa constitutivamente em vários tecidos, interferindo na hemostasia, funções renal, reprodutiva e nervosa, proteção da mucosa gástrica (LAMANO-CARVALHO, 2007).

O uso prolongado de alguns AINEs inibidores específicos de COX-2 foi relacionado a alterações na hemostasia, aumentando o risco de trombose e infarto. Diante disso, a partir de 2004 inúmeros fármacos dessa classe foram retirados do mercado, como o rofecoxib (Vioxx[®]) e o valdecoxib (Bextra[®]), e outros tantos permaneceram somente com venda controlada, como o celecoxib (Celebra[®]) (LAMANO-CARVALHO, 2007). Em 2007 foi aprovada pelo Comitê de Produtos

Médicos de uso Veterinário (CVMP) da União Europeia a utilização do fármaco firocoxib em equinos, indicado para o tratamento da dor e inflamação associada à osteoartrite (HANSON & MADDISON, 2008). O estudo no qual a eficácia do firocoxib foi comprovada foi publicado por Doucet et al., (2008), contudo esta pesquisa foi conduzida em animais com osteoartrite, ou seja, portadores da forma crônica da enfermidade articular e avaliados apenas pelo exame clínico. Aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) para uso em cães e equinos, sendo disponível no Brasil somente para a primeira espécie, sob o nome comercial de Previcox[®] (CLARK, 2006).

Devido à inibição das prostaglandinas, todos os AINEs oferecem algum risco de desenvolvimento de lesão renal, porém em diferentes intensidades. Os seletivos para COX-2 são apontados como sendo menos prejudiciais, sobretudo para a mucosa gástrica e rins. Sendo assim, tanto os seletivos como os menos seletivos quando em uso prolongado, devem ser considerados potencialmente nefrotóxicos, sobretudo em períodos de hipoperfusão (CLARK, 2006; STOKES & FORRESTER, 2004; TASAKA, 2002). Süleyman et al. (2007) sugerem a possibilidade da existência de várias outras cicloxigenases, o que poderia explicar o fato de medicamentos tão seletivos apresentarem efeitos adversos.

No presente estudo, induzimos uma sinovite na articulação metacarpofalangeana dos equinos participantes pela injeção de lipopolissacarídeo de *E. coli* utilizando técnica de artrocentese. Nestas articulações estão presentes diversos tecidos moles que correspondem aos músculos, tendões, ligamentos e a cápsula articular.

A estabilidade da articulação é garantida pela sua configuração óssea, pelos sistemas de suporte ligamentar e capsular e pelas unidades musculotendíneas que controlam a articulação (MCILWRAITH, 2002). Os músculos e tendões também absorvem grande parte das forças e impactos sendo que, a sua atuação insuficiente pode levar a alterações degenerativas do osso subcondral e da cartilagem articular. Enquanto nas articulações mais proximais os músculos e tendões são os principais responsáveis pela estabilidade articular, nas articulações das estruturas distais a estabilidade é garantida pelo contorno da superfície articular (FRISBIE, 2006).

Duas estruturas compõem a cápsula articular, a primeira é mais externa, fibrosa e contínua com o periósteo apresenta-se como uma camada constituída por tecido fibroso denso e fornece a estabilidade mecânica à articulação, já a segunda se apresenta como uma membrana sinovial interna, que reveste a cavidade sinovial (MCILWRAITH, 2002). A constituição da cápsula articular é muito semelhante à dos ligamentos (CARON, 2003). Esta membrana sinovial é constituída por um tecido conjuntivo vascular que recobre e delimita toda a articulação, excetuando-se a as regiões cartilaginosas e algumas áreas específicas do osso (CARON, 2003). Esta membrana possui regiões com vilosidades e algumas regiões se apresentam lisas e deslizantes. Essas vilosidades têm uma morfologia diversa, se proliferam em função de traumas sofridos pela articulação e suas localizações são bem específicas. A membrana sinovial é responsável por secretar o fluído que banha a articulação e proporciona a lubrificação necessária para a proteção dos tecidos. Esta membrana é constituída por duas camadas, a íntima e a subíntima (FRISBIE, 2006). As características físicas deste fluído podem sofrer alterações em sua composição devido à processos inflamatórios e patológicos. O sinal clínico mais comum em um quadro de sinovite é a efusão articular, que corresponde à produção excessiva de fluído dentro da articulação. O líquido produzido por sinoviócitos inflamados tem, geralmente, uma viscosidade mais baixa, devido a um distúrbio na produção de ácido hialurônico (AH), responsável pela lubrificação no interior da articulação (MCILWRAITH, 1996).

A camada íntima da membrana sinovial é responsável pela secreção do fluído sinovial, esta camada é constituída por três diferentes tipos de células denominadas células A, B e C. Estas células têm por finalidade fagocitar antígenos e secretar proteínas que aumentam a viscosidade do fluído sinovial, são classificadas de acordo com sua função sendo as células A envolvidas na fagocitose e as células B são as responsáveis pela secreção de proteínas. As células C representam um tipo intermediário entre as células A e B (FRISBIE, 2006). As células B são em maior proporção que as demais e sintetizam uma variedade de macromoléculas importantes, como o colágeno e o AH. A viscosidade do líquido sinovial deve-se à concentração e grau de polimerização do AH, que desempenha uma função primordial para a proteção das estruturas articulares durante o movimento (FRISBIE,

2006; MCILWRAITH, 2002). Uma variedade de mediadores que participam na patogênese da osteoartrite (OA), incluindo citocinas (IL-1), eicosanoides (PGE₂) e proteinases são sintetizados pelos sinoviócitos fato este que explica o papel da membrana sinovial na patogênese da OA (CARON, 2003). A camada abaixo da membrana sinovial possui vascularização e perfusão sanguínea abundante, essencial para nutrição da membrana e produção do líquido sinovial. Esta estrutura facilita a troca entre nutrientes e metabólitos da membrana sinovial e fornece uma fonte nutricional para a cartilagem articular (CARON, 2003).

A articulação sinovial é o conjunto de dois componentes que necessitam de lubrificação, são formados por duas estruturas que correspondem ao deslizamento da cartilagem sobre a cartilagem óssea e outro conjunto composto por tecidos moles que envolve o deslizamento da membrana sinovial sobre si mesma. Tal lubrificação é efetuada por ação da glicoproteína lubrificina, de origem sinovial, e do AH, estas moléculas se ligam à superfície cartilaginosa oposta evitando o contato direto durante o deslizamento das superfícies (CARON, 2003). A lubrificação é fundamental para evitar o desgaste e garantir a resistência da membrana sinovial e da cápsula articular durante o movimento (MCILWRAITH, 2002).

Em competições, a mobilidade articular é muito elevada, o que pode provocar um aumento na taxa de quebra das cadeias estruturais do AH diminuindo, assim, a viscosidade articular. Além desse fator a viscosidade do líquido sinovial pode diminuir com o aumento de volume e efusão articular devido à diluição do AH (BERTONE, 2003).

Como pode ser depreendido pela revisão apresentada, o processo inflamatório pode influenciar de várias maneiras a integridade dos componentes articulares e a constituição do fluído sinovial. Esse fato justifica a constante procura de anti-inflamatórios com melhor eficácia e menos efeitos colaterais com os inibidores preferenciais de COX-2.

Embora existam semelhanças nas sequências de aminoácidos que compõe as enzimas COX (BUTTAR & WANG, 2000; ROWLINSON et al., 2000), a diferença entre o sítio de ligação do firocoxib na enzima COX-1 e COX-2 se dá por um único

aminoácido diferente na cadeia a leucina, presente na posição 523 da cadeia de proteínas da enzima COX-1, esta molécula é substituída na enzima COX-2 pelo aminoácido valina que apresenta menor peso molecular (BUTTAR & WANG, 2000; ROWLINSON et al., 2000; . VAN RYN et al., 2000). A incorporação da molécula de valina deixa uma fenda na cadeia de proteínas da enzima COX-2 o que proporciona um sítio de ligação mais acessível para a molécula do firocoxib, fato que não ocorre na estrutura da enzima COX-1, resultando assim em uma maior seletividade do fármaco firocoxib pela COX-2 (ROWLINSON et al., 2000).

Recentemente foi publicado estudo (BACK et al., 2009) utilizando placa de força para quantificar a dose oral eficaz em equinos do fármaco firocoxib, onde a dose $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ foi considerada ideal para reduzir a claudicação crônica em animais com osteoartrite ou doença do navicular. Segundo folheto informativo fornecido pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA, 2008) após administração oral em equinos, na dose recomendada de $0,1 \text{ mg}$ por kg de peso vivo, o firocoxib foi rapidamente absorvido e o tempo correspondente à concentração máxima ($T_{\text{máx}}$) foi $3,9 (\pm 4,4)$ horas. O pico de concentração ($C_{\text{máx}}$) foi $0,075 (\pm 0,033) \mu\text{g/ml}$ (equivalente a aproximadamente $0,223 \mu\text{M}$), a área sob a curva (AUC 0-24) foi $0,96 (\pm 0,26) \mu\text{g} \times \text{hr/ml}$ e a biodisponibilidade oral é $79\% (\pm 31)$. A meia-vida de eliminação após uma única dose foi $29,6 (\pm 7,5)$ horas e $50,6$ horas após 14 dias de tratamento. O firocoxib estava aproximadamente 97% ligado às proteínas plasmáticas após administrações orais múltiplas, alcançou seu estado estacionário (*steady-state*) por volta da oitava dose diária.

O firocoxib é, predominantemente, metabolizado por desalquilação e glucuronidação no fígado. A eliminação é feita principalmente através das fezes e urina (essencialmente por via urinária), sendo também observada alguma excreção biliar. As dosagens do firocoxib variam de acordo com as espécies, com a dose recomendada para equinos $0,1 \text{ mg} / \text{kg}$ a cada 24 horas. O firocoxib, como uma pasta oral, foi aprovado pela FDA para o controle da dor e da inflamação associada com a OA em equinos e, como um comprimido oral para uso similar, em cães (EMA, 2008).

Mesmo estando presente no mercado há muito tempo, as propriedades anti-inflamatórias da fenilbutazona ainda fazem desta droga uma ferramenta muito útil na clínica equina, principalmente contra o tumor e dor. A sua utilização, no entanto, abrange um vasto espectro de aplicações, entre os quais incluem processos relacionados com o tecido mole e lesões músculo esqueléticas, principalmente do aparelho locomotor (MAYÓS, 2002).

A fenilbutazona tem grande potencial ulcerogênico gástrico em equinos (MACALLISTER, 1994). Um dos fatores importantes para a eleição desta droga foi sua toxicidade nos tratos gastrointestinal, renal e sistema hepático, mais comumente relacionados com sua administração prolongada. A fenilbutazona ainda tem a capacidade de alterar a função plaquetária e produzir discrasias sanguíneas em equinos doentes ou em condição de hemorragia. Notadamente a toxicidade é mais comum em equinos nos extremos da população sendo: jovens, velhos, desidratados, imunodeficientes ou ainda em equinos com doença cardiovascular, renal ou hepática. (MUIR, 2004)

Por via oral, a biodisponibilidade da fenilbutazona varia entre 55,1-96,7% (KELLER & HASHEM, 1996), já outros autores descrevem até 91% de biodisponibilidade (SOMA et al., 1983, SMITH et al., 1987), enquanto Lees et al. (1985) encontraram valores de 77%. Há uma estreita relação entre o regime alimentar do equino e a biodisponibilidade por administração intramuscular, Landuyt et al. (1993) obtiveram biodisponibilidade de 91,7 % em seu estudo.

Após a administração oral a absorção ocorre no trato gastrointestinal e a concentração plasmática alcança seu pico 2 horas após a ingestão da droga (BARRAGRY, 1973).

Uma vez na corrente sanguínea, tanto a fenilbutazona, quanto seus metabólitos se encontram fortemente ligados às proteínas plasmáticas com uma porcentagem mínima de união que varia entre 96-98 % para a fenilbutazona e 87% para seus metabólitos (GANDAL et al., 1968, GERRING et al., 1981). A fenilbutazona é metabolizada principalmente pelo fígado e excretada através da urina. (GERRING et al., de 1981; MACALLISTER, 1994).

Ao contrário dos inibidores seletivos de COX-2 que, segundo Mastbergen et al. (2005) apresentam propriedade reparadora da matriz cartilaginosa, aumentando a síntese de proteoglicanos e normalizando sua liberação. A fenilbutazona administrada *in vivo*, inibiu a síntese de proteoglicanos em amostras de cartilagem equina, devendo ser usada com critério, principalmente em períodos prolongados (BELUCHE et al., 2001).

Grande parte do efeito deletério das bactérias gram negativas é devido às endotoxinas presentes em suas paredes celulares. O estudo das endotoxinas iniciou-se no final do século XIX, quando Pfeiffer, descobriu que o lisado de *Vibrio cholerae* inativado pelo calor, continha um princípio tóxico capaz de induzir choque e morte em animais de laboratório, denominado de endotoxina (BAYSTON & COHEN, 1990).

Esta substância é constituída de uma porção lipopolissacarídica (LPS) presente na parede celular de bactérias gram negativas, que pode se apresentar de forma livre após a lise bacteriana (BRODGEN & PHILLIPS, 1988). O LPS de *E. coli* apresenta em sua estrutura molecular três regiões bem distintas: uma cadeia lateral específica, um núcleo oligossacarídeo e um lipídeo A (RIETSCHEL et al., 1982). O lipídeo A, que possui capacidade de se ligar à parede (COLATTOS, 1995) é biologicamente ativo e confere propriedades tóxicas a molécula. A região lateral é variável segundo a cepa bacteriana e contém os determinantes antigênicos que definem sorologicamente a molécula de LPS (MacKAY, 1992).

Como a microbiota intestinal de cavalos sadios é constituída, na sua maioria, por bactérias gram negativas, a endotoxina é facilmente encontrada no intestino desses animais. Dados obtidos por Moore et al. (1979) relatam concentrações de até 80µg/ml de endotoxina no fluido cecal de equinos clinicamente normais. Já segundo MacKay (1992) mais de 2,0g podem ser encontrados no mesmo conteúdo, porém pequena quantidade chega à circulação, devido à barreira presente na mucosa intestinal. Fisiologicamente essa pequena quantidade de endotoxina absorvida é prontamente detoxificada no fígado (BURROWS, 1981), sendo eliminada da circulação pelas células do sistema mononuclear fagocitário do fígado

(FREUDENBERG et al., 1985), ou por anticorpos neutralizantes (ZIEGLER et al., 1982).

Quando a quantidade de endotoxina aumenta na circulação e suplanta a capacidade de detoxificação do fígado, pode exercer efeitos deletérios. A severidade dos efeitos está diretamente relacionada com o grau de endotoxemia (MOORE et al., 1981). MacKay (1992) relata que a passagem de apenas 1,0 µg de endotoxina para a circulação é suficiente para causar febre e leucopenia em equinos. Valadão (2005), relata que doses de 0,03 até 0,1µg/Kg, são suficientes para causar hipertensão pulmonar e diminuir o fluxo sanguíneo para os tecidos intestinais, sem contudo, causar hipotensão arterial sistêmica e provocar choque em equinos.

A administração de LPS de *E. coli* tem sido empregada com sucesso na indução de lesão articular em equinos (LINDEGAARD et al., 2010). Segundo Rodgerson et al. (2001) o LPS de *E. coli* é um potente estimulador da enzima COX-2 nos tecidos animais.

Com o propósito de avaliar a resposta inflamatória aguda Salles-Gomes et al. (2003) induziram sinovite pela injeção de LPS de *E. coli* na articulação rádio cárpica de equinos. A sinovite manifestou-se clinicamente pelo aumento da temperatura local e pela efusão sinovial. Observou-se alteração na cor e no grau de opacidade do líquido sinovial enquanto que no exame bioquímico foi possível observar aumento das proteínas totais. Neste estudo a injeção de LPS de *E. coli* na articulação estudada foi considerada adequada para produzir a sinovite cárpica para o alcançar o objetivo proposto, ainda a análise do líquido sinovial forneceu as informações necessárias para o desenvolvimento do estudo.

A termografia também tem sido utilizada como exame complementar no diagnóstico e prognóstico de lesões inflamatórias devido ao fato de refletir alterações na circulação dos tecidos (SNYDER et al., 2001). Com esta ferramenta é possível obter-se ainda parâmetros para comparação entre os estados inflamatórios dos animais ao longo do tempo, permitindo desta forma a avaliação da evolução do quadro inflamatório em resposta ao tratamento com um método de avaliação não invasivo.

Hawkins et al., (1993) analisaram a reação inflamatória na articulação radio cárpica a partir da administração de Lipopolissacarídeo de *E. coli* usando a termografia, exame clínico e exames laboratoriais. A diferença de temperatura superficial da pele encontrada na articulação inflamada em relação à articulação controle, a qual foi injetada com solução salina, foi estatisticamente significativa de 8 a 144 horas da indução da lesão. Os dados encontrados na análise termográfica foram consistentes com os resultados dos exames clínicos e laboratoriais.

Outra técnica bastante utilizada para a avaliação articular é a ultrassonografia onde seu principal benefício é possibilitar de forma segura e não invasiva a identificação de achados como: efusão sinovial ou de outros fluídos, espessamento da cápsula articular, agressões aos ligamentos intra-articulares e peri- articulares, irregularidades das cartilagens subcondrais e fragmentos osteocondrais (DENOIX et al., 1996). Auxiliando no diagnóstico da sinovite induzida pela injeção de LPS na articulação metacarpofalangeana proposta neste estudo.

Também neste estudo analisamos clinicamente, com o auxílio da termografia e ultrassonografia os efeitos causados pela injeção de LPS de *E. coli* na articulação metacarpofalangeana de equinos e a ação dos AINEs firocoxib e fenilbutazona no controle da sinovite induzida por esta toxina.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar mediante exame físico, termográfico e ultrassonográfico o efeito da administração oral dos fármacos firocoxib e fenilbutazona na sinovite induzida por Lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS) na articulação metacarpofalangeana de equinos.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a eficácia do fármaco firocoxib em comparação à fenilbutazona em equinos após a injeção de lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS).
- Avaliar parâmetros clínicos e grau de claudicação ao trote em equinos após a injeção de lipopolissacarídeo de *E. coli*.
- Avaliar por meio de ultrassom a homogeneidade de cápsula, distensão articular e perfil da silhueta óssea da articulação metacarpofalangeana de equinos submetidos à injeção intra-articular de LPS.
- Avaliar por meio de termografia a evolução do quadro após a injeção de LPS por na articulação metacarpofalangeana de equinos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 10 equinos, 7 fêmeas e 3 machos castrado, com idade média de 9 ± 3 anos e peso médio de 399 ± 36 kg. Antes do período experimental os animais foram submetidos a exame físico geral e específico para o sistema locomotor segundo a metodologia de avaliação proposta por Ross e Dyson (2003).

Os equinos foram casqueados, desverminados¹ e vacinados² antes do início das atividades deste estudo. Após esta etapa foram adaptados ao exercício em esteira rolante³.

O protocolo experimental ocorreu em delineamento inteiramente casualizado, sendo os tratamentos e os períodos experimentais, distribuídos de modo organizado e controlado. Os 10 equinos foram submetidos a 3 tratamentos: controle (CONTROL, n=10), firocoxib (FIRO, n=10) e fenilbutazona (FENIL, n=9) respeitando-se o período de segurança mínimo de 26 dias (E.M.A., 2008).

¹Vermífugo Moxi Duo®, Ourofino Agronegócio, Cravinhos, SP, Brasil

²Vacina Antitetânica Hertape®, Hertape Calier, Juatuba, MG, Brasil

³Esteira Galloper 5500®, Sahinco Ltda., Palmital, SP, Brasil

Os animais participaram do experimento dois por vez, semanalmente, totalizando 15 semanas de estudo. A distribuição dos tratamentos respeitou uma ordem sem repetições, sendo a distribuição: CONTROL e FIRO; FENIL e CONTROL; FIRO e FENIL sucessivamente. Com isso obtivemos um período de segurança superior a 26 dias entre os tratamentos do mesmo animal.

4.2. Indução da lesão

Após preparação em laboratório, a concentração final obtida na solução de LPS foi de 1,5 ng.mL⁻¹. Esta solução foi transferida para tubos apropriados acondicionados em estantes para congelamento, e no momento da indução os tubos foram retirados do freezer e a solução contendo LPS descongelada em temperatura ambiente.

Após tricotomia e antissepsia do aspecto palmaro-lateral da articulação metacarpofalangeana com solução degermante à base de clorexidina do membro torácico esquerdo infiltrou-se através de técnica de artrocentese, 3 mL de solução salina contendo 4,5 ng totais de Lipopolissacarídeo de *E. coli* na articulação metacarpofalangeana esquerda de cada animal.

Nas articulações metacarpofalangeanas do membro torácico direito de cada animal seguiu-se o mesmo protocolo de antissepsia e em seguida injetou-se, através de técnica de artrocentese 3 mL de solução salina, utilizada como controle negativo.

4.3. Administração dos fármacos

Iniciou-se o tratamento dos grupos FIRO e FENIL após 1 hora da indução da lesão. Os animais do grupo FENIL receberam fenilbutazona⁴ via oral na dose 4,4 mg.kg⁻¹, repetidas a cada 12 horas no primeiro dia e uma vez ao dia nos 2 dias seguintes. Os animais do grupo FIRO foram tratados com firocoxib⁵, via oral na dose 0,1mg.kg⁻¹, durante 3 dias, a cada 24 horas. Os animais do grupo CONTROL não receberam tratamento.

⁴Equipalazone® pó 1000mg, Marcolab, Duque de Caxias - RJ, Brasil

⁵Previcox® 57mg, Merial Saúde Animal Ltda., Paulínia - SP, Brasil

4.4. Exame físico

As avaliações foram realizadas no tempo 0 e após 3, 6, 9, 12, 24 e 48 horas da indução da lesão. Aferiu-se a frequência cardíaca, respiratória, temperatura retal, motilidade intestinal e avaliada a coloração das mucosas aparentes de todos os animais. A circunferência articular foi quantificada com fita métrica na altura do ligamento colateral lateral e medial assim como na extremidade distal do terceiro osso metacarpiano na condição basal, 3, 6, 9, 12 e 24 horas após a indução da lesão.

Adicionalmente, efetuou-se exames específicos do aparelho locomotor em esteira rolante na condição basal, 3 e 24 horas após a indução do quadro inflamatório para determinação do grau de claudicação segundo Ross e Dyson (2003) (Tabela 1). Em cada tempo de avaliação o animal foi observado trotando na velocidade $3,0 \text{ m.s}^{-1}$ da esteira rolante. A claudicação foi avaliada por um período mínimo de 60 segundos à distância de 2 metros, observada pela frente, trás, lado esquerdo e direito do animal. As avaliações obedeceram a seguinte linha do tempo na figura 1 onde observamos.

T(h)	0	1	2	3	4	5	6	9	12	16	20	24	30	36	48
FC				FC				FC	FC			FC			FC
FR				FR				FR	FR			FR			FR
T°C				T°C				T°C	T°C			T°C			T°C
P _{cm}				P _{cm}				P _{cm}	P _{cm}			P _{cm}			P _{cm}
Cla				Cla								Cla			

	EXAME FÍSICO
	AVALIAÇÃO TERMOGRÁFICA
	AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

Figura 1. Linha do tempo indicando os tempos (horas) de avaliação dos parâmetros termográficos, ultrassonográficos e físicos: frequência cardíaca (FC); frequência respiratória (FR); temperatura retal (T°C); perímetro da circunferência articular (P_{cm}) e avaliação da claudicação (Cla) durante o estudo

Tabela 1. Escores de claudicação segundo ROSS & DYSON (2003)

Graus de claudicação de **0** a **5** são baseadas na observação do cavalo ao trote, em linha reta e em superfície rígida:

0 – Sadio

- 1** - Leve claudicação observada enquanto o cavalo é trotado em uma linha reta. Quando claudica dos membros anteriores, um movimento de cabeça sutil é observado. Quando claudica dos membros posteriores, uma “caminhada” pélvica sutil ocorre. Os movimentos de cabeça e pélvico podem ser inconsistentes, às vezes.
 - 2** - Claudicação é observada. Os movimentos de cabeça e “caminhada” pélvica são consistentes, a amplitude é de vários centímetros.
 - 3** - Evidente “caminhada” pélvica e movimento de cabeça com amplitude de vários centímetros. Se o cavalo tem claudicação do membro posterior unilateral, um movimento de cabeça e pescoço é visto quando o membro anterior diagonal atinge o solo (imitando uma claudicação do membro anterior ipsilateral).
 - 4** - Claudicação severa com movimento de grande amplitude de cabeça e evidente “caminhada” pélvica. No entanto, o cavalo ainda pode ser trotado.
 - 5** - O animal não suporta o peso sobre o membro. Se trotado, o cavalo “carrega” o membro. Os cavalos que não apoiam o membro em estação, ou ao passo não devem ser trotados.
-

4.5. Avaliação termográfica

Foi utilizado termógrafo⁵, ajustado para leituras em uma faixa de -20°C a 120°C, emissividade de 0.98, faixa de leitura 10°C e precisão de 0.1°C. As termografias foram realizadas nos tempos 0,1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36 e 48 após a injeção de LPS, em ambiente fechado, com temperatura controlada e livre de correntes de ar.

⁵Termógrafo Flir i50®, Wilsonville, OR, US.

Os membros foram limpos, secos e tricotomizados em seu aspecto palmaro-lateral da articulação metacarpofalangeana com pelo menos 24 horas de antecedência para evitar quaisquer interferências que alterassem as leituras de temperatura. As leituras foram realizadas após a estabilização de temperatura dos animais por cerca de 30 minutos em ambiente com temperatura controlada por condicionador de ar. Os animais foram alinhados em posição quadrupedal e a câmera foi posicionada a 90 cm de distância e 60 cm de altura do solo (Figura 2).



Figura 2. Imagem fotográfica de um equino em posição quadrupedal com os membros torácicos alinhados para aquisição das imagens termográficas em projeção dorsal. No tempo 3horas.

Os dados de temperatura obtidos na região estudada foram calibrados em função da temperatura do ambiente de forma a padronizá-los e eliminar a interferência nos dados termográficos, utilizando a metodologia de transformação para atmosfera padrão (ICAO 7041), de acordo com as relações (1) e (2) a seguir:

$$\theta = T_{\text{amb}} / T_0 \quad (1)$$

$$T_{\text{iCorr}} = T_i / \theta \quad (2)$$

onde,

T_{amb} : Temperatura ambiente nos dias de tratamento, em Kelvin

T_0 : Temperatura ambiente na condição basal, em Kelvin

T_{iCorr} : Temperatura máxima corrigida no local da lesão, em graus Celsius

T_i : Temperatura máxima lida no local da lesão, em graus Celsius

θ : Fator de correção de temperatura ambiente, adimensional. (BASILE et al., 2010).

Após aquisição dos dados, o grau de inflamação foi avaliado pela medida da temperatura máxima obtida no polígono desenhado ao redor da articulação metacarpofalangeana. Para esta análise considerou-se o espaço compreendido entre o aspecto medial do terceiro osso metacarpiano e a extremidade distal da primeira falange (Figura 3).

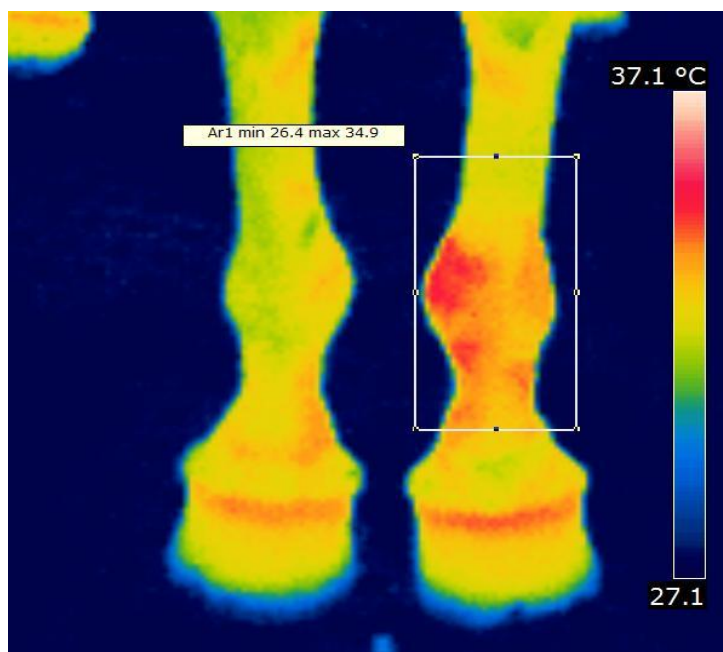


Figura 3. Imagem termográfica da posição distal dos membros torácicos adquirida em projeção dorsal. O retângulo branco demarca a área de avaliação de pixels onde aferiu-se a temperatura máxima alcançada na articulação metacarpofalangeana no tempo 3 horas.

Devido a fatores inerentes ao equipamento de termografia e às técnicas de medição, as incertezas de medida que são função da sensibilidade e exatidão do aparelho, temperatura ambiente e função da distância de aquisição, obtendo-se um valor final de 0,15 °C de incerteza geral de medidas termográficas (BASILE et al., 2010).

4.6. Avaliação ultrassonográfica

Utilizou-se aparelho de ultrassonografia⁶ portátil com transdutor linear de 7,5 MHz com variação até 12,5 MHz. Avaliou-se as articulações metacarpofalangeanas dos membros torácicos direito (controle negativo) e esquerdo em plano sagital e transversal, segundo a técnica descrita por Denoix (1996).

⁶Esaoite MyLab™ 30 Vet Gold. São Paulo. Brasil

As avaliações foram realizadas antes da indução e nos tempos 9, 24 e 48 horas após a injeção do LPS. Para tal avaliação os animais foram contidos em tronco, permaneceram em posição quadrupedal com os membros torácicos alinhados. Após limpeza com álcool e aplicação de gel condutor sobre a região da articulação metacarpofalangeana, avaliou-se a distensão da cápsula articular, dada pelo somatório da distância do vértice do terceiro metacarpiano até a superfície mais externa da cápsula articular obtida em imagem sagital da face dorsal da articulação metacarpofalangeana (Figura 4). O acúmulo de fluido sinovial intra-articular na articulação metacarpofalangeana foi avaliado de forma qualitativa de acordo com os escores descritos na Tabela 2.

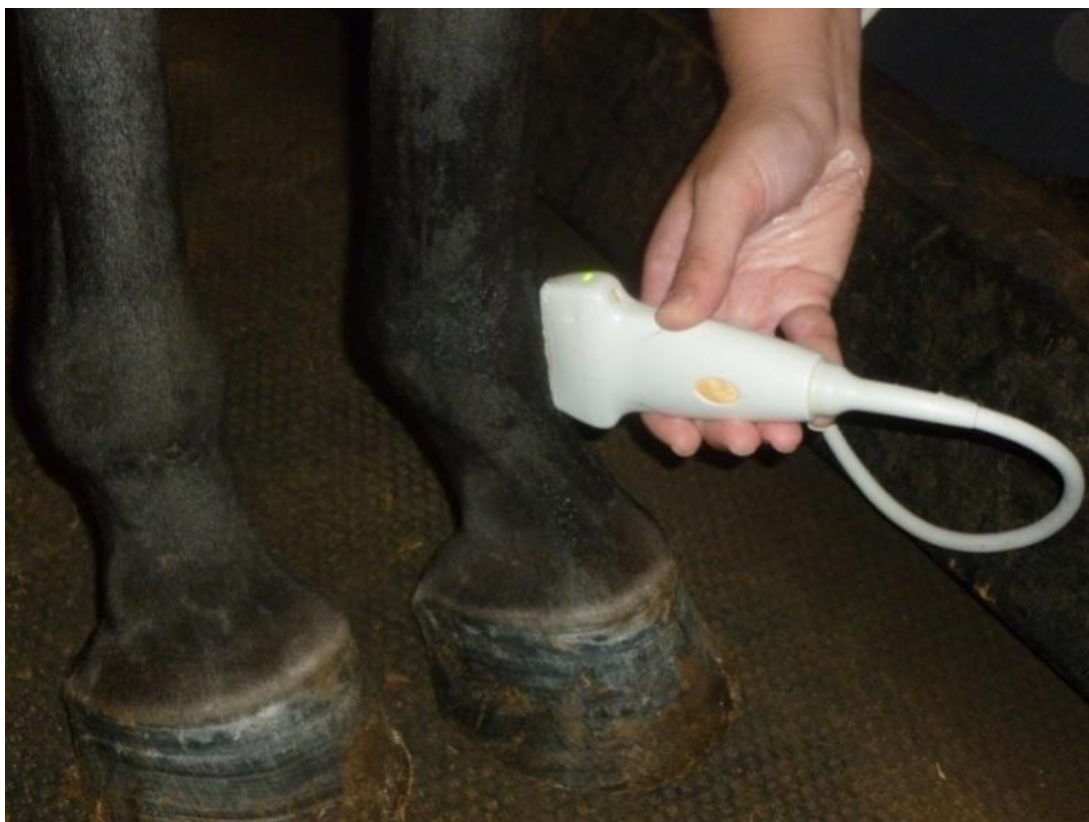


Figura 4. Imagem fotográfica demonstrando a avaliação ultrassonográfica da articulação metacarpofalangeana do membro torácico esquerdo em projeção sagital dorsal utilizada para a análise da distensão da articulação

Tabela 2. Escores de parâmetros qualitativos relativos ao acúmulo de líquido sinovial (unidades arbitrárias) na avaliação ultrassonográfica da articulação metacarpofalangeana de equinos submetidos à indução de sinovite.

Parâmetro	0	1	2	3
Fluido sinovial	Normal	Levemente aumentado	Moderadamente aumentado	Severamente aumentado

4.7. Análise de dados

Os dados foram avaliados pelo Teste de Kolmogorov-Smirnov para confirmação de normalidade de distribuição e pelo Teste de Levene para homogeneidade de variâncias (homocedasticidade) para os dados paramétricos e o teste de Kruskal- Wallis em *Ranks* para as análises não paramétricas. Realizou-se Análise de Variância (Teste F ou ANOVA) utilizando-se o modelo estatístico de Delineamento Inteiramente Casualizado. Em seguida, as hipóteses rejeitadas foram submetidas ao Teste de Tukey. Os testes foram realizados com 5% a 10% de nível de significância. Para análises não paramétricas foi utilizado o teste de Student-Newman-Kewls a 5% de probabilidade

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação clínica ao longo do processo inflamatório e de acordo com os tratamentos propostos

Não foi observada qualquer alteração na coloração da mucosa ocular e oral, assim como na motilidade intestinal durante o decorrer do ensaio em todos os grupos experimentais. O tempo de preenchimento capilar permaneceu em 2 segundos durante todo o período de avaliação. Os resultados obtidos na análise da frequência cardíaca, respiratória e temperatura retal estão apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5.

Não foi possível observar diferenças nas avaliações de frequência cardíaca (tabela 3) e frequência respiratória (tabela 4) entre os tempos, assim como entre os tratamentos propostos. Segundo Taylor et al., (2002) a dor aguda ou severa leva a alterações na função do sistema nervoso autônomo com a liberação de catecolaminas, o que acarreta elevação na frequência cardíaca e respiratória em equinos. De acordo com estes autores, embora o registro destes parâmetros seja relativamente simples, objetivos e minimamente invasivos, podem ser inespecíficos, não sendo raro encontrar cavalos com frequência cardíaca e respiratória constante e ainda sim apresentando outros parâmetros que indiquem desconforto e dor. Os dados de Raekallio et al., (1997) relatam que não houve diferença significativa na frequência cardíaca de equinos após cirurgia artroscópica, tratados ou não com o fármaco fenilbutazona dados estes semelhantes aos do presente estudo. Estudos que utilizaram doses menores de LPS para a indução de sinovite em equinos, também não evidenciaram a ocorrência de alterações na frequência cardíaca ou respiratória no decorrer do tempo de inflamação (HAWKINS et al., 1993; PALMER; BERTONE, 1994; CAMPEBELL et al., 2004; MORTON et al. 2005).

Tabela 3. Valores médios \pm desvio padrão da frequência cardíaca (bpm) ao longo do tempo (horas) de equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)					
	T0	T3	T9	T12	T24	T48
Controle	42,60 ^{Aa} $\pm 4,01$	40,00 ^{Aa} $\pm 5,33$	40,00 ^{Aa} $\pm 4,62$	40,00 ^{Aa} $\pm 4,99$	38,40 ^{Aa} $\pm 3,86$	38,40 ^{Aa} $\pm 7,11$
Firocoxib	40,80 ^{Aa} $\pm 6,20$	46,00 ^{Aa} $\pm 12,40$	42,40 ^{Aa} $\pm 6,31$	42,00 ^{Aa} $\pm 9,66$	38,00 ^{Aa} $\pm 4,32$	38,67 ^{Aa} $\pm 5,66$
Fenilbutazona	41,78 ^{Aa} $\pm 4,52$	40,89 ^{Aa} $\pm 5,21$	42,22 ^{Aa} $\pm 3,53$	40,44 ^{Aa} $\pm 7,06$	39,11 ^{Aa} $\pm 4,37$	41,33 ^{Aa} $\pm 6,00$

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Em relação à frequência respiratória (tabela 4) também não observamos diferenças estatísticas entre os tempos de avaliação e entre os tratamentos.

Tabela 4. Valores das medianas (25%; 75%) da frequência respiratória (mpm) ao longo do tempo (horas) de equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)					
	T0	T3	T9	T12	T24	T48
Controle	16,00 ^{Aa} (12,00; 17,00)	18,00 ^{Aa} (15,00; 30,00)	16,00 ^{Aa} (15,00; 21,00)	16,00 ^{Aa} (12,00; 17,00)	16,00 ^{Aa} (15,00; 17,00)	16,00 ^{Aa} (15,00; 18,00)
Firocoxib	18,00 ^{Aa} (15,00; 21,00)	22,00 ^{Aa} (19,00; 28,00)	20,00 ^{Aa} (16,00; 21,00)	20,00 ^{Aa} (16,00; 20,00)	16,00 ^{Aa} (12,00; 21,00)	16,00 ^{Aa} (12,00; 20,00)
Fenilbutazona	20,00 ^{Aa} (18,00; 26,00)	16,00 ^{Aa} (16,00; 22,00)	16,00 ^{Aa} (12,00; 18,00)	16,00 ^{Aa} (12,00; 20,00)	16,00 ^{Aa} (12,00; 18,00)	16,00 ^{Aa} (12,00; 22,00)

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Kewls a 5% de probabilidade

Em relação à temperatura retal (tabela 5) foi possível observar alteração após 12 horas após a indução da lesão no grupo controle e no grupo FIRO após 9, 12, 24 e 48 horas da indução. A comparação entre grupos mostrou que 24 horas após a injeção de LPS houve diferença na comparação com o grupo sem tratamento e os grupos tratados. O grupo tratado com Fenilbutazona não apresentou alteração na temperatura retal no decorrer no tempo de avaliação clínica. Nos equinos a temperatura retal pode variar dentro dos padrões de normalidade, entre 37,2°C a 38,2°C (CUNNINGHAM, 1999), neste estudo, apesar das diferenças, todos os animais mantiveram-se dentro desta faixa de normalidade para a espécie e temperaturas médias da região.

Tabela 5. Valores médios \pm desvio padrão da temperatura retal ($^{\circ}\text{C}$) ao longo do tempo (horas) de equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)					
	0	3	9	12	24	48
Controle	37,24 ^{Aa} $\pm 0,27$	37,23 ^{Aa} $\pm 0,18$	37,51 ^{Aa} $\pm 0,23$	37,59 ^{Ab} $\pm 0,27$	37,30 ^{Aa} $\pm 0,31$	37,33 ^{Aa} $\pm 0,49$
Firocoxib	37,10 ^{Aa} $\pm 0,30$	37,17 ^{Aa} $\pm 0,24$	37,45 ^{Ab} $\pm 0,25$	37,55 ^{Ab} $\pm 0,21$	37,09 ^{Bc} $\pm 0,25$	37,11 ^{Ac} $\pm 0,32$
Fenilbutazona	37,33 ^{Aa} $\pm 0,26$	37,36 ^{Aa} $\pm 0,40$	37,44 ^{Aa} $\pm 0,30$	37,50 ^{Aa} $\pm 0,32$	37,41 ^{Aa} $\pm 0,28$	37,17 ^{Aa} $\pm 0,29$

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

As aferições métricas realizadas na articulação metacarpofalangeana estão apresentados nas tabelas 6 e 7. Como se observa, não houve alteração das medidas entre os tempos avaliados como também entre os tratamentos propostos neste estudo. Contudo, mesmo não havendo diferença, foi possível observar presença de efusão articular na bainha sinovial tendínea em todos os animais submetidos à indução da lesão (Figura 5). A bainha tendínea sinovial digital (BTSD) dos equinos é uma estrutura sinovial linear (MALARK et al., 1991), que se estende por 14 a 20cm de comprimento (DIK et al., 1995) sobre a face palmar dos quatro membros locomotores, iniciando-se no terço distal do terceiro metacarpiano/metatarsiano (MALARK et al., 1991), a aproximadamente quatro a sete centímetros proximal aos sesamóides proximais (DENOIX, 1994) e terminando na metade da falange média (SISSON, 1986; DENOIX, 1994; KÖNIG & LIEBICH, 2002), permitindo alguma variação individual destes limites anatômicos (MALARK et al., 1991) onde ocorrem recessos que comunicam com a articulação metacarpofalangeana gerando uma efusão acima da região onde ocorreram as aferições métricas. Desta forma concluímos que a quantificação da efusão articular de membros pela avaliação de seu perímetro com fita métrica da maneira como foi feita, não seja um método confiável para a análise da tumefação causada pela

inflamação local visto que não se encontra na articulação metacarpofalangeana propriamente dita.

Tabela 6. Valores médios \pm desvio padrão do perímetro (cm) da articulação metacarpofalangeana quantificado na altura do ligamento colateral em equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)					
	T0	T3	T6	T9	T12	T24
Controle	20,00 ^{Aa} $\pm 1,44$	20,30 ^{Aa} $\pm 1,44$	20,50 ^{Aa} $\pm 1,48$	20,60 ^{Aa} $\pm 1,52$	20,50 ^{Aa} $\pm 1,59$	20,60 ^{Aa} $\pm 1,49$
Firocoxib	19,50 ^{Aa} $\pm 1,10$	19,80 ^{Aa} $\pm 1,40$	20,10 ^{Aa} $\pm 1,50$	20,50 ^{Aa} $\pm 1,30$	20,80 ^{Aa} $\pm 1,70$	20,80 ^{Aa} $\pm 1,80$
Fenilbutazona	19,57 ^{Aa} $\pm 1,23$	20,03 ^{Aa} $\pm 1,39$	20,45 ^{Aa} $\pm 1,21$	20,20 ^{Aa} $\pm 0,97$	25,83 ^{Aa} $\pm 1,04$	20,40 ^{Aa} $\pm 1,03$

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 7. Valores médios \pm desvio padrão do perímetro (cm) da articulação metacarpofalangeana quantificado na extremidade distal do terceiro osso metacarpiano em equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)					
	T0	T3	T6	T9	T12	T24
Controle	25,40 ^{Aa} $\pm 1,16$	25,70 ^{Aa} $\pm 1,14$	25,80 ^{Aa} $\pm 1,24$	25,80 ^{Aa} $\pm 1,37$	25,80 ^{Aa} $\pm 1,18$	25,80 ^{Aa} $\pm 1,25$
Firocoxib	25,20 ^{Aa} $\pm 1,40$	25,70 ^{Aa} $\pm 1,40$	25,80 ^{Aa} $\pm 1,50$	25,80 ^{Aa} $\pm 1,40$	26,20 ^{Aa} $\pm 1,80$	26,20 ^{Aa} $\pm 1,70$
Fenilbutazona	25,13 ^{Aa} $\pm 1,25$	25,43 ^{Aa} $\pm 1,35$	25,61 ^{Aa} $\pm 1,09$	25,72 ^{Aa} $\pm 1,21$	25,83 ^{Aa} $\pm 1,23$	25,89 ^{Aa} $\pm 1,13$

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

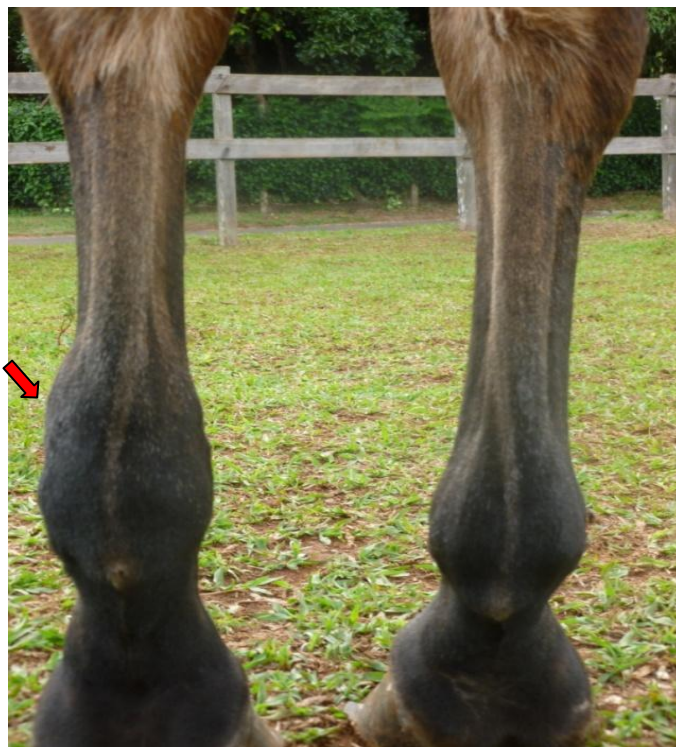


Figura 5. Imagem fotográfica da extremidade distal dos membros torácicos de equino do grupo controle submetido à injeção intra-articular de 4,5 ng de LPS de *E. coli*. Observa-se aumento de volume na face lateral da articulação metacarpofalangeana e bainha tendínea esquerda 9 horas após a injeção. (seta).

Com relação à avaliação de claudicação, de acordo com Ross e Dyson (2003) o trote é o melhor andamento para a análise da claudicação em membros torácicos, onde o animal eleva o pescoço ou cabeça enquanto o membro lesionado encontra-se no solo, e abaixa a cabeça enquanto o membro sadio está em contato com o solo. Ainda, segundo este mesmo autor, em animais claudicantes é possível observar encurtamento das fases craniais e caudais da passada. Para esta análise de claudicação foi utilizada uma escala de 5 escores desenvolvida por Ross e Dyson (2003) descritos na tabela 1.

Tabela 8. Valores das medianas (25%; 75%) dos escores de claudicação ao trote em equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)		
	T0	T3	T24
Controle	0,00 ^{Aa} (0,00 ; 0,00)	2,00 ^{Ab} (0,75 ; 3,25)	0,00 ^{Aa} (0,00 ; 0,00)
Firocoxib	0,00 ^{Aa} (0,00 ; 0,00)	3,50 ^{Ab} (0,00 ; 4,00)	0,00 ^{Aa} (0,00 ; 0,25)
Fenilbutazona	0,00 ^{Aa} (0,00 ; 0,00)	1,00 ^{Ab} (1,00 ; 3,50)	0,00 ^{Aa} (0,00 ; 0,00)

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Kewls a 5% de probabilidade

Conforme observado na Tabela 8, todos animais, tratados ou não, apresentaram grau de claudicação entre 2 e 4 após 3 horas da indução da lesão, ou seja, neste instante houve a maior manifestação clínica de dor pelos animais. Estes achados estão de acordo com Salles-Gomes et al., (2003). O estudo avaliou a administração de 1,0 ng de LPS de *E. coli* diluída em 1,0 mL de solução salina na articulação do carpo de equinos.

Os animais deste estudo receberam os fármacos 1 hora após a indução da lesão. O medicamento Firocoxib leva de $3,9 \pm 4,4$ horas para atingir sua concentração máxima (EMA, 2008), portanto, no instante de avaliação deste estudo (T3) talvez ainda não havia concentração plasmática suficiente do fármaco para reduzir a inflamação e a dor local (claudicação). Por outro lado, o fármaco fenilbutazona é absorvido em 2 horas (INSEL, 1990), mesmo com o tempo hábil para biodisponibilidade da droga, não foi capaz de mitigar a claudicação. Relatos ainda ilustram que com doses menores de LPS os sinais de claudicação e dor diminuem entre 36 e 48 horas após a administração do LPS e são completamente resolvidos em 48 horas (PALMER E BERTONE, 1994; CAMPEBELL et al., 2004), em nosso experimento todos animais, dos três grupos, apresentaram claudicação no tempo 3 horas, e a remissão do quadro de claudicação foi observada já as 24 horas após a injeção de LPS.

5.2. Análise ultrassonográfica

Os resultados obtidos na avaliação ultrassonográfica incluindo a distensão da cápsula articular e a quantidade de líquido sinovial dos membros torácicos esquerdo e direito no instante anterior à injeção de LPS e 9, 24 e 48 horas após a injeção do LPS estão descritos na Tabela 9 e 10.

Tabela 9. Valores médios \pm desvio padrão da distensão da cápsula articular determinada pela distância (mm) entre a cápsula articular e o terceiro osso metacarpiano do membro torácico esquerdo em equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)			
	T0	T9	T24	T48
Controle	7,88 ^{Aa} $\pm 1,05$	9,87 ^{Ab} $\pm 1,87$	9,03 ^{Aa} $\pm 1,95$	8,36 ^{Aa} $\pm 1,49$
Firocoxib	7,94 ^{Aa} $\pm 1,30$	10,48 ^{Ab} $\pm 2,98$	9,26 ^{Aa} $\pm 2,81$	8,38 ^{Aa} $\pm 1,60$
Fenilbutazona	7,87 ^{Aa} $\pm 1,33$	9,89 ^{Ab} $\pm 2,16$	8,47 ^{Aa} $\pm 1,68$	7,90 ^{Ac} $\pm 1,23$

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Conforme observado na Tabela 9, houve distensão da cápsula articular 9 horas após a indução nos grupos controle, firocoxib e fenilbutazona, não havendo diferença entre os tratamentos propostos. Segundo Denoix (2003) a articulação metacarpofalangeana de um equino saudável possui pequena quantidade de líquido sinovial no recesso proximal palmar, visibilizado ultrassonograficamente como anecóico. Sinais clínicos de inflamação sinovial aguda incluem: efusão sinovial com distensão da cápsula articular, aumento de temperatura local, hipertrofia e hiperplasia da sinóvia, diminuição na flexão da articulação, e claudicação do membro afetado (McILWRAITH, 2002). Os dados deste estudo estão de acordo com previamente relatado pelo autor, na figura 6 é possível observar a imagem

ultrassonográfica da articulação estudada imediatamente antes da indução (basal) e após 9 horas da injeção de LPS de *E. coli*.

A tabela 11 mostra que em 9 horas após a indução da lesão todos os animais apresentaram aumento do líquido intra articular, no entanto, na avaliação seguinte, dada em 24 horas após a indução da lesão, somente os animais que receberam fenilbutazona voltaram aos valores de normalidade. Neste mesmo tempo de 24 horas os animais do grupos CONTROL e FIRO não diferiram na quantidade de fluido encontrada. Ainda na tabela 11 é possível avaliar também que em 48 horas todos os animais voltaram à condição que se encontravam antes da injeção de LPS.

Mediante os dados expostos observamos que a ação do firocoxib não foi eficiente em conter o aumento de líquido inflamatório no interior da cápsula articular e sua distensão. Porém, no tempo 48 horas os animais tratados com fenilbutazona apresentaram valores de distensão capsular menores que os demais grupos e dentro dos valores anteriores à injeção de LPS. O que também pode ser explicado pela remissão do quadro de sinovite no prazo de 48 horas de acordo com citação anterior.

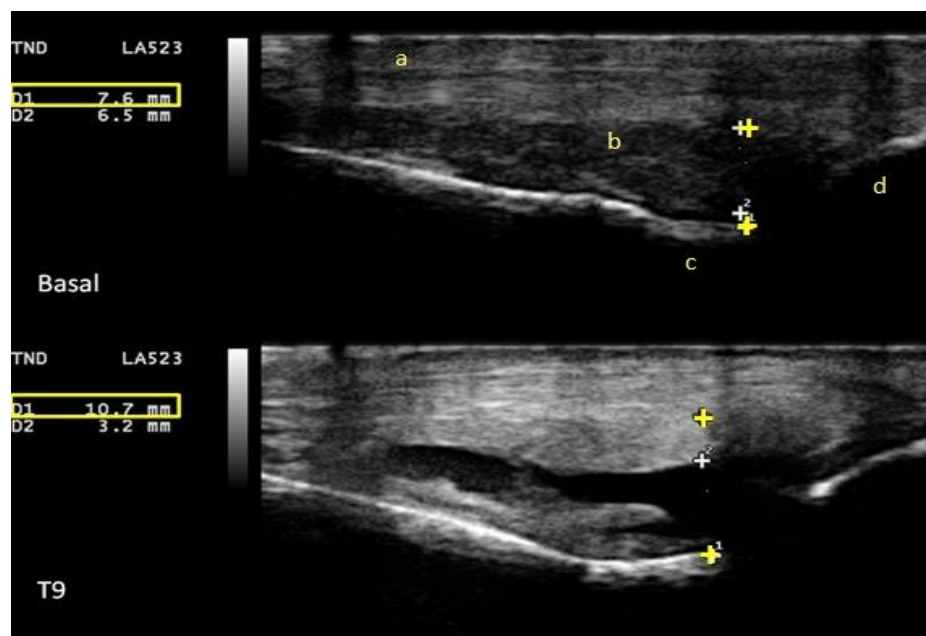


Figura 6. Imagem ultrassonográfica da articulação metacarpofalangeana de equino imediatamente antes (basal) e após 9 horas da indução da lesão. A cruz amarela indica os locais de medida da distensão de cápsula. Em **a** (pele), **b** (cápsula articular), **c** (terceiro metacarpiano) e **d** (primeira falange).

Na Tabela 10 é possível verificar que não houve alteração na distensão da cápsula articular do membro anterior direito, conforme esperado.

Tabela 10. Valores médios \pm desvio padrão da distensão da cápsula articular determinada pela distância (mm) entre a cápsula articular e o terceiro osso metacarpiano do membro torácico direito em equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)			
	T0	T9	T24	T48
Controle	7,63 ^{Aa} ±1,13	7,32 ^{Aa} ±1,02	7,66 ^{Aa} ±0,92	7,64 ^{Aa} ±1,21
Firocoxib	7,69 ^{Aa} ±1,05	7,44 ^{Aa} ±1,25	7,35 ^{Aa} ±1,20	7,31 ^{Aa} ±1,36
Fenilbutazona	7,57 ^{Aa} ±1,11	7,42 ^{Aa} ±1,02	8,03 ^{Aa} ±1,49	7,16 ^{Aa} ±0,75

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O aumento de líquido intra-articular e do boleteo foram avaliados de forma qualitativa através de escores descritos na Tabela 2 e estão apresentados a seguir nas Tabelas 9, 10, 11 e 12.

Tabela 11. Valores das medianas (25%; 75%) da avaliação qualitativa por ultrassom da quantidade de fluido (unidades arbitrárias) sinovial presente na articulação metacarpofalangeana do membro torácico esquerdo de equinos submetidos a injeção de LPS na articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)			
	T0	T9	T24	T48
Controle	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	2,00 ^{Ab} (1,00; 3,00)	1,00 ^{Ab} (1,00; 2,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,25)
Firocoxib	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	2,00 ^{Ab} (0,75; 3,00)	2,00 ^{Ab} (0,00; 3,00)	0,00 ^{Ac} (0,00; 1,00)
Fenilbutazona	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	2,00 ^{Ab} (1,00; 2,50)	0,00 ^{Aa} (0,00; 1,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,50)

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Kewls a 5% de probabilidade

Na Tabela 12 é possível observar que não houve diferença na análise da quantidade de fluido sinovial da articulação metacarpofalangeana do membro torácico direito ao longo do tempo para todas as condições de tratamento, ou seja, o membro controle negativo utilizado neste estudo foi eficiente.

Tabela 12. Valores das medianas (25%; 75%) da avaliação qualitativa por ultrassom da quantidade de fluido (unidades arbitrárias) sinovial presente na articulação metacarpofalangeana do membro torácico direito de equinos submetidos a injeção de solução salina na articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)			
	T0	T9	T24	T48
Controle	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)
Firocoxib	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)
Fenilbutazona	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Kewls a 5% de probabilidade

Os resultados referentes à quantidade de fluido sinovial ao redor do ligamento suspensor do boleto, apresentados da Tabela 13, indicam que após 9 horas do procedimento devido à proliferação da sinóvia nos processos inflamatórios articulares, há um aumento da produção de fluido. A natureza deste líquido pode sofrer alterações devido à inflamação e patologia sinovial. O sinal clínico mais comum de sinovite é a efusão articular, que ocorre por produção excessiva de líquido. O líquido produzido por sinoviócitos inflamados tem, geralmente, uma viscosidade mais baixa, devido a um distúrbio na produção de ácido hialurônico (McILWRAITH, 1996). Segundo Van Pelt (1974), na inflamação articular, o aumento do conteúdo protéico no líquido sinovial é atribuído à entrada de albumina, decorrente da maior permeabilidade capilar. Cerón et al. (2005) afirmam que a concentração plasmática das proteínas de fase aguda é diretamente proporcional ao grau de lesão tecidual ou inflamação. Sendo assim, houve aumento significativo da variável estudada, no entanto, nenhum dos fármacos estudados foi eficiente em reduzir este efeito. Na figura 7 observa-se ligamento suspensor do boleto margeado por fluido (imagem anecóica) e visualização de vasos, possivelmente resultado da reação inflamatória local. O aumento da distância entre a cartilagem e os vasos sanguíneos dificulta a difusão e diminui, conseqüentemente, a nutrição da cartilagem (RIGGS, 2006).

Tabela 13. Valores das medianas (25%; 75%) da avaliação qualitativa por ultrassom da quantidade de fluido (unidades arbitrárias) do ligamento suspensor do boleto do membro torácico esquerdo de equinos submetidos à indução de sinovite por LPS na articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)			
	T0	T9	T24	T48
Controle	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	2,00 ^{Ab} (0,75; 2,00)	1,50 ^{Ab} (0,00; 2,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)
Firocoxib	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	2,00 ^{Ab} (1,50; 2,25)	2,00 ^{Ab} (0,75; 3,00)	0,50 ^{Ac} (0,00; 2,00)
Fenilbutazona	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	2,00 ^{Ab} (1,00; 2,50)	2,00 ^{Ab} (0,75; 2,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Kewls a 5% de probabilidade

Tabela 14. Valores das medianas (25%; 75%) da avaliação qualitativa por ultrassom da quantidade de fluido (unidades arbitrárias) do ligamento suspensor do boleto do membro torácico direito de equinos submetidos à punção e injeção de solução salina na articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona

Tratamento	Tempo (horas)			
	T0	T9	T24	T48
Controle	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)
Firocoxib	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,10 ^{Aa} ±0,31	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)
Fenilbutazona	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)	0,00 ^{Aa} (0,00; 0,00)

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Kewls a 5% de probabilidade

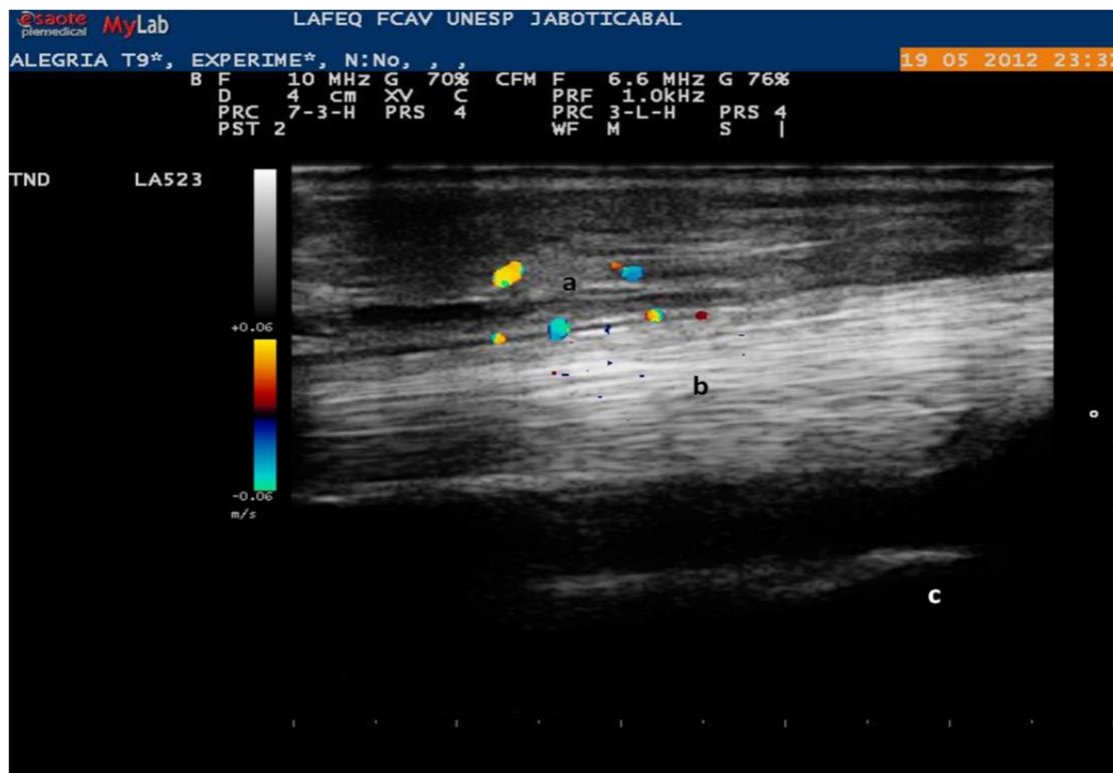


Figura 7. Imagem ultrassonográfica de equino evidenciando o ligamento suspensor do boleto após 9 horas da injeção de LPS na articulação metacarpofalangeana do membro torácico esquerdo. Em **a**: vasos, **b**: ligamento suspensor do boleto, **c**: terceiro osso metacarpiano.

5.3. Avaliação termográfica

Os resultados referentes à média \pm desvio padrão (DP) da temperatura máxima ($^{\circ}\text{C}$) obtida nas imagens termográficas dorsais da articulação metacarpofalangeana estão apresentados da Tabela 15. Os animais do grupo controle apresentaram variações a partir de 3 horas da indução da lesão, e em 48 horas de análise a temperatura superficial da pele não havia retornado aos valores anteriores à injeção de LPS. Segundo Stewart et al. (2005), a temperatura infravermelha pode detectar alterações no fluxo sanguíneo periférico, podendo ser uma ferramenta útil para avaliar o estresse em animais. Knížková et al. (2007) citam que a câmera termográfica é capaz de detectar variações mínimas de temperatura com precisão. Com isso, a utilização da análise de termografia infravermelha torna possível identificar pontos de valores distintos de temperatura radiante e tem sido

valiosa para o reconhecimento de eventos e distúrbios fisiológicos em animais, como ocorre com as sinovites (BOUZIDA et al., 2009).

Nos animais do grupo controle a temperatura do membro torácico esquerdo se elevou a partir das 3 horas após a injeção de LPS na articulação metacarpofalangeana e persistiu alta até o final das avaliações termográficas, 48 horas após a injeção do LPS. O contrário ocorreu com os animais tratados com firocoxib e fenilbutazona, ambos os fármacos foram capazes de impedir o aumento da temperatura do membro torácico esquerdo após 3 horas da injeção de LPS.

Observamos nos animais do grupo controle que o aumento da temperatura se deu a partir de 3 horas o que indica o tempo de ação para o LPS começar a gerar seu efeito termogênico. Tempo suficiente para que os fármacos já teriam sido absorvidos e começado a fazer o efeito anti-inflamatório proposto bloqueando os agentes termogênicos do LPS. Observamos ainda alguns pontos isolados no decorrer das 48 horas de avaliação apresentaram diferenças significativas em determinados tempos, este fato foi devido a alguns animais considerados *outliers* durante as aferições.

Na figura 8 observa-se o comportamento gráfico das curvas que representam cada grupo do estudo (CONTROL, FIRO E FENIL) em relação aos tempos de aferição da termografia do membro torácico esquerdo de cada animal. É importante notar que o a temperatura máxima do membro torácico esquerdo dos animais que receberam firocoxib se mantém abaixo da linha dos animais que receberam fenilbutazona. Fato que justifica sua alta seletividade pela COX-2 tendo assim um grande poder de coibir a inflamação no local da injeção do LPS.

Tabela 15. Valores médios \pm desvio padrão da temperatura máxima do membro torácico esquerdo ($^{\circ}\text{C}$) dos equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxib e fenilbutazona em relação ao tempo em horas

Tempo	Controle		Firocoxib		Fenilbutazona	
	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.
0	31,7 ^{Aa}	0,7	32,4 ^{Aa}	0,9	32,4 ^{Aa}	1,9
1	33,2 ^{Aa}	1,8	33,0 ^{Aa}	2,9	33,9 ^{Aa}	1,4
2	34,1 ^{Aa}	1,7	34,5 ^{Aa}	1,8	32,9 ^{Aa}	3,5
3	35,6 ^{Ab}	2,1	34,9 ^{Aa}	1,7	33,5 ^{Aa}	3,4
4	36,6 ^{Ab}	2,0	35,4 ^{Aa}	2,1	36,8 ^{Aa}	1,3
5	36,2 ^{Ab}	2,0	35,6 ^{Aa}	1,7	37,6 ^{Aa}	1,7
6	37,2 ^{Ac}	1,9	36,3 ^{Aa}	2,2	35,8 ^{Aa}	2,5
9	37,3 ^{Ac}	2,1	36,5 ^{Ab}	2,7	36,4 ^{Ba}	3,5
12	37,4 ^{Ac}	1,8	34,5 ^{Aa}	2,8	35,4 ^{Aa}	3,8
16	35,9 ^{Ab}	1,4	33,9 ^{Ba}	2,3	34,9 ^{Aa}	3,7
20	34,1 ^{Ab}	1,9	32,8 ^{Ba}	2,4	33,0 ^{Aa}	3,7
24	33,6 ^{Aa}	2,3	32,2 ^{Aa}	1,9	31,7 ^{Aa}	4,4
30	37,5 ^{Ac}	2,5	35,3 ^{Aa}	1,3	37,6 ^{Aa}	1,1
36	38,4 ^{Ac}	2,1	35,7 ^{Aa}	2,8	38,3 ^{Aa}	2,4
48	34,4 ^{Ab}	1,9	31,2 ^{Aa}	2,7	31,9 ^{Aa}	3,5

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 10% de probabilidade

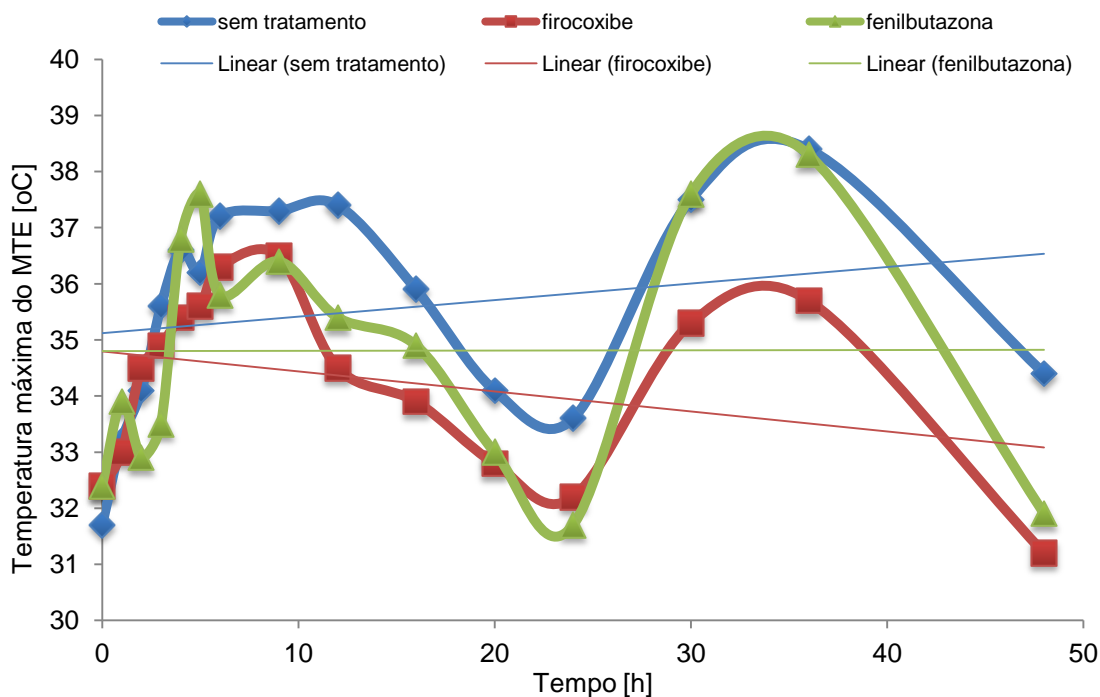


Figura 8. Representação gráfica da variação da temperatura máxima do membro torácico esquerdo (°C) dos equinos submetidos à indução de sinovite da articulação metacarpofalangeana tratados ou não com firocoxibe e fenilbutazona em relação ao tempo em horas

6. CONCLUSÃO

Concluimos que o fármaco firocoxibe foi eficiente em controlar a inflamação a partir de 16 horas e necessita de ajustes em sua dose de atuação nos estágios iniciais da inflamação, tendo em vista que trata-se de um fármaco inibidor mais seletivo da COX-2 e seus efeitos deletérios ao organismo podem ser reduzidos quando comparados à fenilbutazona. Porém, todos os AINEs utilizados em período prolongado oferecem algum risco de desenvolvimento de lesão renal, isto em diferentes intensidades. Os seletivos para COX-2 são apontados como sendo menos prejudiciais, sobretudo para a mucosa gástrica e rins. Sendo assim, tanto os seletivos como os não seletivos devem ser considerados potencialmente nefrotóxicos, sobretudo em períodos de hipoperfusão (CLARK, 2006; STOKES &

FORRESTER, 2004; TASAKA, 2002) fazer a opção pelo mais seletivo é garantia de controle eficaz da inflamação.

Considerando que um dos intuitos deste estudo foi avaliar parâmetros clínicos e claudicação em esteira rolante acreditamos ter atingido nosso objetivo de induzir a sinovite na articulação metacarpofalangeana de equinos, sendo a metodologia utilizada para desenvolver este estudo, a injeção de 4,5 ng de LPS diluídos em 3 mL de solução salina por meio de técnica de artrocentese, o que resultou em uma claudicação evidente de todos os grupos no tempo 3 horas, comprovando o potencial inflamatório de LPS para o modelo testado, e ainda, produziu resultados eficientes que permitiram a execução dos outros objetivos propostos neste estudo.

Em relação às avaliações ultrassonográficas podemos concluir que os achados anormais incluem distensões de líquido, caracterizando o processo denominado sinovite, porém, não observamos nenhum animal com alteração no perfil da silhueta óssea na articulação metacarpo falangeana. Segundo Denoix (2003) a articulação metacarpofalangeana de um equino saudável possui pequena quantidade de líquido sinovial no recesso proximal palmar, observado pelo acesso ultrassonográfico como uma imagem anecóica. Sinais clínicos de inflamação sinovial aguda ainda incluem: efusão sinovial com distensão da cápsula articular, aumento de temperatura local, hipertrofia e hiperplasia da sinóvia, diminuição na flexão da articulação, e claudicação do membro afetado (McILWRAITH, 2002).

Mediante os dados expostos podemos concluir que nenhum dos fármacos estudados foi eficiente em conter o extravasamento de líquido inflamatório no interior da cápsula articular. O estudo no qual a dose eficaz do fármaco firocoxib foi estabelecida foi conduzido por Back et al. (2009), estes autores concluíram que $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ são suficientes para reduzir a claudicação crônica em animais com osteoartrite ou doença do navicular. No entanto, conforme os dados apresentados até o presente momento, concluímos que $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ é uma dose não eficiente em conter as primeiras horas da inflamação em equinos.

Através das avaliações termográficas concluímos que o modelo experimental de indução foi apropriado para desenvolvimento da sinovite a partir das 3 horas após a injeção de LPS na articulação metacarpofalangeana e os fármacos firocoxib e

fenilbutazona se mostraram eficientes em coibir o aumento da temperatura superficial do membro torácico esquerdo durante as etapas de avaliação.

Podemos ainda sugerir que novas pesquisas sejam desenvolvidas para que este fármaco esteja disponível no mercado para aplicação intravenosa, visto que quando administrado pela via oral sua velocidade de absorção pode impedir que seu efeito seja adequadamente alcançado nos estágios iniciais da inflamação.

7. REFERÊNCIAS

BACK, W.; MACALLISTER, C. G.; VAN HEEL, M. C.; POLLMEIER, M.; HANSON, P. D. The use of force plate measurements to titrate the dosage of a new COX-2 inhibitor in lame horses. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 41, n. 3, p. 309-312, 2009.

BARRAGRY, T.B. Phenylbutazone in equine practice- A review. **Ir. Vet. J.**, v. 27. p. 7-11. 1973.

BASILE, R. C.; ALBERNAZ, R. M.; PEREIRA, M. C.; FERRAZ, G. C.; QUEIROZ, A. N. Guia prático de exames termográficos em equinos. **Brazilian Journal of Equine Medicine**, São Paulo, v. 6, n. 31, p. 24-28, 2010.

BAYSTON, K.F., COHEN, J. Bacterial endotoxin and current concepts in the diagnosis and treatment of endotoxemia. **J. Med. Microbiol.**, v.3, p.73-83, 1990.

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. **Diagnosis and management of lameness in the horse**. St Louis Missouri: Saunders, 2003. p. 606-610.

BRAÑA M.F.; DEL RÍO, L.A.; TRIVES, C.; SALAZAR, N. La verdadera historia de La Aspirina. **Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia**. v.71, p.813-819, 2005.

BRODGEN, K. A., PHILLIPS, M. The ultrastructural morphology of endotoxins and lipopolysaccharides. **Electron Microsc. Rev.**, v.1, p.261-277, 1988.

BURROWS, G.E. Endotoxemia in the horse. **Equine Veterinary Journal**. v.13, n.2, p.89-94, 1981.

BUTTAR, N. S. & WANG, K. K.; The 'Aspirin' of the new millennium: cyclooxygenase-2 inhibitors. **Mayo Clinic Proceedings**, v.75, p.1027– 1038, 2000.

CAMPEBELL, R. C.; PEIRÓ, J. R.; VALADÃO, C. A. A.; SANTANA, A. E.; CUNHA, F. Q. Effects of lidocaine on lipopolysaccharide – induced synovitis in horses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 3, p. 281-291, 2004.

CARON, J. P.; GENOVESE, R. L. Principles and practices of joint disease treatment. In: ROSS, M. W.; DYSON, S. J. **Diagnosis and management of lameness in the horse**. St. Louis: Saunders Company, 2003. p. 746-765.

CERÓN, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIETA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, Hoboken, v. 34, n. 2, p. 85-89, 2005.

CLARK, T.P. The Clinical Pharmacology of Cyclooxygenase-2–Selective and Dual Inhibitors. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. v.36, p.1061–1085, 2006.

COLLATOS, C. Clinical conditions associated with endotoxemia. In: ANNUAL AAEP CONVENTION, Lexington, 1995. Proceedings. Lexington: **American Association of Equine Practitioners**, p.103-106, 1995.

CUNNINGHAM, J. G. Termorregulação. In: **Tratado de fisiologia veterinária**. São Paulo: Guanabara Koogan, 1999. cap. 51, p. 507-514.

DENOIX, J. M. Ultrasonographic examination of joints. In: ROSS, M. W.; DYSON, S. J. **Diagnosis and management of lameness in the horse**. St Louis: W. B. Saunders, 2003. p. 189-193.

DENOIX, J. M.; STEPHANIE, J. B.; BOUSSEAU, B.; PERROT, P. Ultrasonographic anatomy of the dorsal and abaxial aspects on the equine fetlock. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 28, n. 1, p. 54-62, 1996.

DIK, K.J.; DYSON, S.J.; VAIL, T.B. Aseptic tenosynovitis of digital flexor tendon sheath, fetlock, and pastern annular ligament constriction. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, Philadelphia, v.11, n.2, p.151- 162, 1995.

DOUCET, M. Y.; BERTONE, A.; HENDRICKSON, D.; HUGHES, F.; MACALLISTER, C.; MCCLURE, S.; REINEMEYER, C.; ROSSIER, Y.; SIFFERMAN R.; VRINS, A. A.; WHITE, G.; KUNKLE, B.; ALVA R.; ROMANO, D.; HANSON, P. D. Comparison of efficacy and safety of paste formulations of firocoxib and phenylbutazone in horses with naturally occurring osteoarthritis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 232, n. 1, p. 91-97, 2008.

E.M.A. Resumo das características do medicamento EQUIOXX. **Agência Europeia de Medicamentos, Boletim Técnico**. 2008. Disponível em <<http://www.ema.europa.eu>>. Acessado em 09 out. 2013

FREUDENBERG, N. et al. Distribution and localization of endotoxin in the rat during shock. *Pathology - Research and Practice*. **v.179, p.517-527, 1985**.

FITZGERALD, G. A.; PATRONO, C. P. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 345, n. 6, p. 433-342, 2001.

FRISBIE, D.D.. Principles of treatment in joint disease. In: J.A. Auer & J.A. Stick, **Equine surgery**. p. 1055-1086, 2006. Philadelphia: Elsevier.

FRISBIE, D.D. Synovial joint biology and pathobiology. In: J.A. Auer & J.A. Stick. **Equine surgery**. p.1036-1055, 2006. Philadelphia: Elsevier.

GANDAL, C.P.; DAYTON, P.G.; WERNER, M. & PEREL, J.M. Studies with phenylbutazone, oxyphenbutazone and para-paradichloro phenylbutazone in horses. **Cornell Vet.**, v. 59. p. 577-580. 1968.

GERRING, E.L.; LEES, P. & TAYLOR, J.B. Pharmacokinetics of phenylbutazone and its metabolites in the horse. **Equine vet. J.**, v. 13(3):152- 157,1981

HANSON, P. D.; MADDISON, J. E. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and chondroprotective agents. In: MADISON, J. E.; PAGE, S. W.; CHURCH, D. B. **Small animal clinical pharmacology**. London: W. B. Saunders, 2002. cap. 13, p. 287-308.

HAWKINS, D. L.; MACKAY, R. J.; GUM, G. G.; COLAHAN, P. T.; MEYER, J. C. Effects of intra-articularly administered endotoxin on clinical signs of disease and synovial fluid tumor necrosis factor, interleukin 6, and prostaglandin E2 values in horses. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 54, n. 3, p. 379-386, 1993.

INSEL, P. A. Analgesic – antipyretics and anti-inflammatory agents: drugs employed in the treatment of rheumatoid arthritis and gout. In: GILMAN, A. G.; RALL, T. W.; NIES, A. W.; TAYLOR, P. (Ed.). **Goodman & Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics**. New York: Pergamon Press, 1999. p. 638-681.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Comunicações Celulares por Meio de Sinais Químicos. **Biologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 5ªed p.100-110, 1991.

KNÍŽKOVÁ, I.; KUNC, P.; GÜRDİL, G.A.K.; PINAR, Y.; SELVÍ, K.Ç. Applications of infrared thermography in animal production. **Journal of the Faculty of Agriculture**, Kyushu, v.22, n.3, p.329-336, 2007.

KELLER, H. & HASHEM, A. Untersuchungen zum Konzentrationsverlauf verschiedener Phenylbutazonformulierungen im plasma des Pferdes. **Dtsch. tierärztl. Wsch.** v.103(6). p. 225-230, 1996.

LAMANO-CARVALHO, T.L. Efeito dos anti-inflamatórios não-esteroidais convencionais e seletivos para COX-2 sobre o reparo ósseo. **Acta Ortopédica Brasileira**. v.15, n.3, 2007.

LANDUYT, J.; DELBEKE, F.T. Y DEBACKERE, M. The intramuscular bioavailability of a phenylbutazone preparation in the horse. **J. vet. Pharmacol. Therap.**, v.16. p. 494-500, 1993.

LEES, P.; MAITHO, T.E. & TAYLOR, J.B. Pharmacokinetics of phenylbutazone in two age groups of ponies: a preliminary study. **Vet. Rec.** v.2. p. 229-232. 1985.

LEONE, S.; OTTANI, A.; BERTOLINI, A. Dual Acting Anti-Inflammatory Drugs. **Current Topics in Medicinal Chemistry.** v.7, p.265-275, 2007.

LINDEGAARD, C.; THOMSEN, M. H.; LARSEN, S.; ANDERSEN, P. Analgesic efficacy of intra-articular morphine in experimentally induced radiocarpal synovitis in horses. **Veterinary Anesthesia and Analgesia**, Chichester, v. 37, n. 2, p. 171-185, 2010.

LUENGO, M.L. Uma Revisão Histórica dos Principais Acontecimentos da Imunologia e da Farmacologia na Busca do Entendimento e Tratamento das Doenças Inflamatórias. **Revista Eletrônica de Farmácia.** v.2(2), p.64-72, 2005.

MacALLISTER, C.G. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Their mechanism of action and clinical uses in horses. **Veterinary Medicine**, March. p. 237-240. 1994.

MackAY, R.J. Endotoxemia. In: ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine 3.** Philadelphia: W.B. Saunders, p.225-232, 1992.

MALARK, J.A. et al. Characteristics of digital flexor tendon sheath fluid from clinically normal horses. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.52, n.8, p.1292-1294, 1991.

MASTBERGEN, C. S. et al. Differential direct effects of cyclo-oxygenase-1/2 inhibition on proteoglycan turnover of human osteoarthritic cartilage: an *in vivo* study. Online. Disponível na Internet research.com/content/8/1/R2. Acessado em 03 de outubro de 2013.

MAY, S. A. Animals models and other experimental systems in the investigations of equine arthritis. In: MCILWRAITH, C. W.; TROTTER, G. W. **Joint disease in the horse.** Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996. p. 421-440.

MAY, S. A.; LEES, P. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. In: MCILWRAITH, C. W.; TROTTER, G. W. **Joint disease in the horse.** Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996. p. 223-235.

MAYÓS i SERVET, I. Perfil cinético de la suxibuzona para su uso en la clínica de équidos. **Tesis Doctoral, Universidad Autónoma**. Barcelona. 2002.

MCILWRAITH, C. W.; TROTTER, G. W. Clinical features and diagnosis of equine joint disease. **Joint disease in the horse**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996. p. 121-145.

MCILWRAITH, C.W. Diseases of joints. In: T.S. Stashak, *Adam's lameness in horses*. **Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins** 5ªed. p.459-594, 2002.

MONCADA S.; FERREIRA S.H.; VANE, J.R. Prostaglandins, aspirin-like drugs and the oedema of inflammation. **Nature**. November, v.23, 246(5430), p.217–219, 1973.

MOORE, J., N. et al. Intracecal endotoxin and lactate during the onset of equine laminitis: A preliminary report. **American Journal of Veterinary Research**. v.40, p.722-723, 1979.

MOORE, J.N. et al. Equine endotoxemia: an insight into cause and treatment. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.179, n.5, p.473-477, 1981.

MORTON, A. J.; CAMPBELL, N. B.; GAYLE, J. M.; REDDING, W. R.; BLIKSLAGER, A. T. Preferential and non-selective cyclooxygenase inhibitors reduce inflammation during lipopolysaccharide-induced synovitis. **Research in Veterinary Science**, London, v. 78, n. 2, p. 189-192, 2005.

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

PALMER, J. L.; BERTONE, A. L. Joint structure, biochemistry and biochemical disequilibrium in synovitis and equine disease. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 26, n.4. p. 2663-2777, Jul 1994.

POZZOBON, R.; BRASS, K. E.; DE LA CORTE, F.D.; SILVEIRA, E. A.; ABREU, H. C. Efeito clínico do uso do parecoxib em modelo de sinovite induzida em pôneis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 4, p. 806-814, 2008.

RAEKALLIO, M.; TAYLOR, P. M.; BENNETT, R. C. Preliminary investigations of pain and analgesia assessment in horses administered phenylbutazone or placebo after arthroscopic surgery. **Veterinary Surgery**, Hoboken, v. 26, n. 2, p. 150-155, 1997.

RICHARDSON, D. W. The Metacarpophalangeal joint. In: ROSS, M. W.; DYSON, S. **Diagnosis and management of lameness in the horse**. St Louis Missouri : Saunders, 2003. p. 348-362.

RIETSCHHEL, E.V. et al., Bacterial endotoxins: chemical structure, biological activity and role in septicemia. **Scand. J. Infect. Dis.**, v.31, Suppl., p.8-21, 1982.

RIGGS, C.M. Osteochondral injury and joint disease in the athletic horse. **Equine Veterinary Education**, v. 18(2), p. 100-112, 2006.

RODGERSON, D. H.; BELKNAP, J. K.; MOORE, J. N.; FONTAINE, G. L. Investigation of mRNA expression of tumor necrosis factor- α interleukin-1 β , and cyclooxygenase-2 in cultured equine artery smooth muscle cells after exposure to endotoxin. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 62, p. 1957-1963, 2001.

ROSS, M. W.; DYSON, S. J. **Diagnosis and management of lameness in the horse**. St. Louis Missouri : W. B. Saunders, 2003. p. 348-362.

ROWLINSON, S.W., CREWS, B.C., GOODWIN, D.C., SCHNEIDER, C., GIERSE, J.K. & MARNETT, L.J. Spatial requirements for 15-(R)-Hydroxy-5Z,8Z,11Z,13E-eicosatetraenoic acid synthesis within the cyclooxygenase active site of murine COX-2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, p. 6586–6591, 2000.

SALLES GOMES, T. L.; CANOLA, J. C.; ALMEIDA, P. E.; CANOLA, P. A.; SOUZA, A. H. Efeito intra-articular e intravenoso do teretoxiacetato de dexametasona administrado em equinos com artrite cárpica induzida por lipopolissacarídeo de *E. coli*. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 3, p. 241-245, 2003.

SISSON, S. Músculos. In: GETTY, R. **Sisson/Grossman: anatomia dos animais domésticos**. 5.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1986. V.1. Cap.17, p.401-402.

SMITH, P.B.W.; CALDWELL, J.; SMITH, R.L.; HORNER, M.W. & MOSS, M.S. The bioavailability of phenylbutazone in the horse. **Xenobiotica**, v. 17(4). p. 435-445, 1987.

SOMA, L.R.; GALLIS, D.E.; DAVIS, W.L. COCHRAN, T.A. & WOODWARD, C. Phenylbutazone kinetics and metabolite concentrations in the horse after five days of administration. **Am. J. Vet. Res.**, v. 44(11). p. 2104-2109, 1983

SNYDER, J. R.; EDDY, A. L.; VAN HOOGMOED, L. M. The role of thermography in the management of equine lameness. **The Veterinary Journal**, London, v. 162, p. 172-181, 2001.

STEWART, M.; WEBSTER, J.R.; SCHAEFER, A.L.; COOK, N.J.; SCOTT, S.L. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. **Animal Welfare**, South Mimms, v.14, p.319-325, 2005.

STOKES, J.E.; FORRESTER, S.D. New and unusual causes of acute renal failure in dogs and cats. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. v.34, p.909-922, 2004.

SÜLEYMAN, H.; DEMIRCAN, B.; KARAGÖZ, Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. **Pharmacology Reports**. May-Jun, n.59, v.3, p.247-258, 2007.

TASAKA, A. C. Anti-inflamatórios não esteroidais. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 225-250.

TAYLOR, P. M.; PASCOE, P. J.; MAMA, K. R. Diagnosing and treating pain in the horse. Where are we today? **Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, Maryland Heights, v. 18, p. 1-19, 2002.

VALADÃO, C. A. A. Endotoxemia no abdome agudo eqüino: causas e conseqüências. In: II Simpósio Internacional do Cavalo Atleta e IV Semana do Cavalo, 2005, Belo Horizonte - MG. **Anais do II Simpósio Internacional do Cavalo Atleta e IV Semana do Cavalo**. Belo Horizonte - MG, p. 39-45, 2005.

VANE, J. R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nat New Biol.** v.3, n. 25, p. 232-5. 1971.

VAN PELT, R. W. Interpretation of synovial fluid findings in the horse. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 165, p. 91-95, 1974.

VAN RYN, J., TRUMMLITZ, G. & PAIRET, M. COX-2 selectivity and inflammatory processes. **Current Medicinal Chemistry**, v. 7, p.1145–1161, 2000.

ZIEGLER, E.J. et al. treatment of gram negative bacteremia in shock with human anti-serum to a mutant Escherichia coli. **N. Engl. J. Med.**, v.307, p.1225- 1230, 1982.