

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

ESTUDO DA SEGURANÇA DA DOSE TERAPÊUTICA
ORAL DO FIROCOXIB EM EQUINOS

Renatha Almeida de Araújo

Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2012

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

ESTUDO DA SEGURANÇA DA DOSE TERAPÊUTICA ORAL
DO FIROCOXIB EM EQUINOS

Renatha Almeida de Araújo

Prof. Dr. Antonio de Queiroz Neto

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Novembro de 2012

A658e Araújo, Renatha Almeida de
Estudo da segurança da dose terapêutica oral do firocoxibe em equinos / Renatha Almeida de Araújo. -- Jaboticabal, 2012
vi, 44 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012
Orientador: Antonio de Queiroz Neto
Banca examinadora: Guilherme de Camargo Ferraz, Antônio Raphael Teixeira Neto
Bibliografia

1. Equinos. 2. Anti-inflamatório. 3. Inibidor seletivo de COX-2. 4. Toxicidade. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:615.636.1

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

e-mail: arnold@cnpso.embrapa.br

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Renatha Almeida de Araújo – Nascida na cidade de Porto Alegre – RS, em 07 de setembro de 1985, portadora do RG 43459780-6 SSP/SP. Médica Veterinária graduada pela Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal, com início em março de 2004 e término em março de 2009. Ingressou no programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Clínica Médica, na FCAV-Unesp – Jaboticabal, em agosto de 2010.

Aos meus pais Simone e Irapuan
Pelo incentivo incansável,
pelo apoio e pelo amor incondicional.
As vitórias são sempre nossas!

Ao meu marido Frederico
pelo amor, carinho, respeito
e pela maior amizade da vida inteira.

"Os cães são o nosso elo com o Paraíso. Eles não conhecem a maldade, a inveja ou o descontentamento. Sentar-se com um cão ao pé de uma colina numa linda tarde, é voltar ao Éden onde ficar sem fazer nada não era tédio, era paz."

Milan Kundera

Aos meus fiéis e amados amigos Pankeka e Supla, pela companhia em todos os momentos e por toda alegria que me trazem!

AGRADECIMENTOS

Aos meus pilares de sustentação: meus pais Simone e Irapuan e meu marido Fred, por existirem ao meu lado e fazerem minha vida mais simples e feliz. Por perdoarem minhas inúmeras ausências e me apoiarem em todos os momentos. Sem o sacrifício de vocês dificilmente eu teria alcançado minhas metas. Muito amor sempre!

À FCAV – UNESP – Jaboticabal e a todos os professores que participaram da minha formação como profissional e cidadã.

Ao meu orientador Professor Doutor Antonio de Queiroz Neto, pelo incentivo constante, pela generosidade em transmitir seu conhecimento e me nortear pelos caminhos da vida acadêmica.

Ao Professor Doutor Guilherme de Camargo Ferraz, pelo auxílio e direcionamento e pelas lições que levarei por toda minha vida profissional.

Aos amigos Raquel Albernaz, Matheus Henrique e Walter Feringer pela ajuda inestimável, vocês são parte importantíssima deste trabalho.

Às minhas meninas Emília Davanzo, Paola Buzollo, Tamiris Rezende e Andréa Cavalheiro, pelo auxílio imprescindível e por tornarem nossos dias de trabalho sempre muito mais divertidos.

Às colegas de departamento Flora D'Angelis, Helena Brito, Roberta Basile, Bel Mataqueiro e Damaris, cada uma em sua especialidade, sempre dispostas a ajudar ao longo de todo o processo de desenvolvimento deste trabalho.

Ao funcionário do setor de Equinocultura, Odair (Deco) pelo cuidado com nossos animais.

Ao Eugênio, pela paciência e disposição ajudando a sanar nossas dúvidas nos procedimentos laboratoriais.

Aos colegas do Hospital Veterinário: Nara Bernardi, André Antunes, Álvaro Paiva e Samuel Souza pela disposição e auxílio na execução das gastroscopias.

Ao Professor José Correa de Lacerda Neto, por nos ceder sua equipe, o equipamento de gastroscopia e as instalações do Hospital Veterinário para a realização de parte tão importante do trabalho.

A Família Ovinha: Flávio, Angela, Érika, Gian, Rafael e Verônica, pela torcida, incentivo e por me permitirem fazer parte deste bem construído círculo de amizade e amor.

Ao meu sobrinho Heitor, pelo sorriso cheio de dentes que faz qualquer semana de trabalho árduo ficar mais leve no fim das contas.

Ao Cícero pela amizade e apoio e pelas tantas lições e calma e tolerância durante estes anos.

Aos animais da nossa tropa experimental: Mara, Minnie, Cindy, Trufa, Angélica, Carriete, Duque D'Alba, Ross e Pérsico pela oportunidade de aprender com eles e por nos permitirem que este trabalho fosse possível.

Ao Dunga, nosso cãopanheiro, pelo olhar doce e segurança que sua presença traz.

Aos meus cães: Pankeka e Supla, pelo amor incondicional e pelas inúmeras madrugadas de companhia deitados no meu pé enquanto eu escrevia este trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE TABELA	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
3. OBJETIVOS	11
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4.1. Animais	12
4.2. Protocolo Experimental	12
4.3. Análise das Variáveis Sanguíneas.....	13
4.4. Urinálise	14
4.5. Avaliação Gastroscópica.....	14
4.6. Análise Estatística	15
5. RESULTADOS.....	16
5.1. Avaliação Hematológica	16
5.2. Parâmetros de Coagulação.....	20
5.3. Alterações Bioquímicas.....	22
5.4. Urinálise	26
5.5. Avaliação Gastroscópica.....	26
6. DISCUSSÃO	27
7. CONCLUSÃO.....	33
8. REFERÊNCIAS.....	34

ESTUDO DA SEGURANÇA DA DOSE TERAPÊUTICA ORAL DO FIROCOXIB EM EQUINOS

RESUMO- O estudo objetivou avaliar a segurança da administração oral da dose terapêutica do firocoxib por 14 dias em equinos saudáveis. Foram utilizados 9 equinos, 4 machos e 5 fêmeas, com peso médio de 405 ± 31 Kg e idade média 11 ± 3 anos que receberam uma vez ao dia, 0,1mg/kg de firocoxib. Hemograma, avaliação dos parâmetros de coagulação e bioquímicos séricos e urinálise foram realizados antes do início do tratamento (D1), após 7 e 14 dias de tratamento (D7 e D14) e 7 dias após o final do tratamento (D21). Foi realizado exame gastroscópico 1 dia antes do início do tratamento (D0) e dois dias após a última coleta de dados. O número de leucócitos diminuiu na avaliação do D14 em relação ao D1, voltando aos valores basais no D21- 7 dias após o final do tratamento. A concentração de hemoglobina aumentou nos momentos D14 e D21 em relação ao do D1. A concentração plasmática de fibrinogênio aumentou no momento D21 em relação a D7 e D14. O tempo de tromboplastina parcial ativada e o tempo de protrombina aumentaram em D7 e D14 e D21 quando comparadas as médias em relação à média do D1. A contagem de plaquetas diminuiu nas avaliações em D7, D14 e D21 em relação ao momento D1. A atividade sérica da aspartato aminotransferase aumentou no D14 em relação ao D1. A atividade sérica da fosfatase alcalina aumentou nos momentos D7 e D14 em relação ao D1. A concentração de ureia diminuiu no D14 em relação ao D1. A creatinina se manteve estável no período de tratamento porém, no D21 apresentou diminuição em relação a D1, D7 e D14. A atividade sérica da gama glutamiltransferase diminuiu no D21 quando comparada ao D14, mas não houve diminuição em relação ao D1 e ao D7. Não foram observadas alterações na urinálise e no exame gastroscópico. Conclui-se que a administração do firocoxib em equinos é segura uma vez que não foi capaz de promover o aparecimento de efeitos adversos importantes, permitindo a recomendação do uso da droga no tratamento de doenças inflamatórias nesta espécie.

Palavras-chave: Coagulação, Gastrosopia, Hematologia, Inibidor Seletivo de COX-2, Urinálise,.

STUDY OF THE SAFETY OF THE THERAPEUTIC ORAL DOSE OF FIROCOXIB IN HORSES

Abstract- The study aimed to evaluate the safety of oral administration of the therapeutic dose of firocoxib for 14 days in healthy horses. Were used 9 horses, 4 males and 5 females, with a mean weight of 405 ± 31 kg and an average age 11 ± 3 years who received once a day orally 0.1 mg/kg firocoxib. CBC, evaluation of coagulation parameters and serum biochemical and urinalysis were performed before the initiation of treatment (D1) after 7 and 14 days of treatment (D7 and D14) and 7 days after end of treatment (D21). Gastroscopic examination was conducted 1 day prior to initiation of treatment (D0) and two days after the last data collection. The number of leukocytes decreased in evaluating the relative D14 to D1, returning to baseline at D21-7 days after end of treatment. The hemoglobin concentration increased during times D14 and D21 in relation to the D1. The plasma concentration of fibrinogen increased when compared to D7 D21 and D14. The activated partial thromboplastin time and prothrombin time increased at D7 and D14 and D21 compared the averages from the average of D1. Platelet count decreased in assessments in D7, D14 and D21 compared to D0 moment. Serum activity of aspartate aminotranferase increased in D14 compared to D1. The serum alkaline phosphatase activity increased in times D7 and D14 compared to D1. The concentration of urea has decreased compared to the D14 D1. Creatinine remained stable during treatment but showed a decrease in D21 compared to D1, D7 and D14. Serum activity of gamma glutamyltranferase decreased when compared to the D21 D14, but no decrease from D1 and D7. No changes were observed in the gastroscopic examination and urinalysis. It is concluded that administration of firocoxib is safe in horses since it was not able to promote the appearance of adverse effects, allowing the recommendation of the drug in the treatment of inflammatory diseases in this species.

Key Words: Coagulation, Gastroscopy, Hematology, COX-2 Selective Inhibitor, Urinalysis.

LISTA DE ABREVIATURAS

- AA – ácido araquidônico
- AINE – anti-inflamatório não esteroidal
- ALP – fosfatase alcalina
- ALT – aspartato aminotransferase
- CK – creatina quinase
- COX – cicloxigenase
- FC – frequência cardíaca
- FDA – *Food and Drug Administration*
- FR – frequência respiratória
- GGT – gama-glutamilttransferase
- HCl – ácido clorídrico
- IC – concentração inibitória
- LDH – lactato desidrogenase
- LOX – lipoxigenase
- LT – leucotrieno
- PAF – fator de ativação plaquetária
- PGHS – prostaglandina endoperóxido sintase
- PGI₂ – prostaciclina
- PT – proteína total
- TGI – trato gastrintestinal
- TPC – tempo de preenchimento capilar
- TP – tempo de protrombina
- TTPA – tempo de tromboplastina parcial ativada
- TX – tromboxano
- T°C – temperatura retal

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Representação esquemática da sequência cronológica de eventos no período experimental.....13
- Figura 2.** Representação gráfica das médias \pm erro padrão das variáveis hematológicas contagem de hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito Letras diferentes representam diferença na comparação de médias.....18
- Figura 3.** Representação gráfica dos valores obtidos nas contagens global e diferencial de leucócitos . Valores expressos em média \pm erro padrão. Letras diferentes representam diferença na comparação de médias.....19
- Figura 4.** Representação gráfica das variações das médias \pm erro padrão do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de protrombina (TP), da concentração de fibrinogênio e da contagem de plaquetas. Letras diferentes indicam diferença significativa na comparação de médias.....21
- Figura 5.** Concentração séricas das enzimas ALT, AST, ALP, GGT, CK e LDH. Letras diferentes indicam alterações significativas na comparação de médias. Valores expressos em média \pm erro padrão24
- Figura 6.** Representação gráfica das médias \pm erro padrão das concentrações séricas de uréia, creatinina e proteínas totais. Letras diferentes indicam alterações significativas na comparação de médias25
- Figura 7.** Imagem gastroscópica evidenciando a mucosa gástrica aglandular (A), a glandular (B) e o *margo plicatus* (C).....26

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1.** Médias \pm desvio padrão referentes aos valores da frequência cardíaca(FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (T°C) nos momentos D1, D7, D14 e D21..... 16
- Tabela 2.** Médias e desvio padrão referentes às variáveis hematológicas determinadas nos tempo D1, D7, D14 e D21. Letras diferentes representam diferença na comparação de médias.....17
- Tabela 3.** Valores referentes ao estudo de coagulação (média \pm desvio padrão), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de protrombina (TP), concentração de fibrinogênio e contagem de plaquetas determinadas nos tempo D1, D7, D14 e D21.....20
- Tabela 4.** Médias e desvio padrão referentes às variáveis bioquímicas séricas determinadas nos tempo D1, D7, D14 e D21. Letras diferentes representam diferença na comparação de médias.....23

1. INTRODUÇÃO

Dentre as doenças que afetam os equinos as afecções musculoesqueléticas ocupam a posição principal. São as doenças com maior prevalência na espécie equina, além de serem a causa mais frequente do término da carreira esportiva destes animais (GODOY, 2010). A rotina de treinamento pode levar ao surgimento de lesões e não raramente faz-se necessário o tratamento com anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). Algumas doenças, como é o caso das osteoartrites, demandam tratamentos longos, podendo levar ao surgimento de efeitos adversos decorrentes da inibição inespecífica das cicloxigenases.

Os AINEs são drogas amplamente utilizadas em todo o mundo tanto na medicina humana quanto na veterinária. Eles possuem estruturas químicas diversas, entretanto apresentam mecanismos de ação semelhantes, atuando por meio da inibição de enzimas conhecidas com cicloxigenases (COX). Duas isoformas das cicloxigenases já foram descritas: a COX-1, envolvida em funções fisiológicas renais, gastrintestinais e vasculares; e a COX-2, relacionada principalmente à reação inflamatória.

De acordo com sua seletividade por COX-1 ou COX-2 os AINEs podem ser classificados como: inibidores não seletivos, inibidores preferenciais de COX-2 e inibidores seletivos de COX-2 (LEES et al., 2004). A maioria dos AINEs utilizados na terapêutica veterinária atua inespecificamente sobre a COX-1 e a COX-2, estando seu uso relacionado ao surgimento de efeitos adversos como úlceras gástricas, desordens renais e desequilíbrios hídricos e eletrolíticos, já que a inibição da COX-1 interfere em diversos processos fisiológicos. Os inibidores seletivos de COX-2 apresentam alto potencial anti-inflamatório e reduzidos efeitos tóxicos sobre os sistemas orgânicos. No entanto, a utilização crônica de inibidores seletivos tem sido relacionada ao desenvolvimento de afecções cardiovasculares e distúrbios de coagulação sanguínea (KROTZ et al., 2005), além de alterações na perfusão renal e filtração glomerular (BRATER et al., 2001).

O firocoxib é um AINE recentemente formulado para utilização em medicina veterinária. Esta droga atua seletivamente sobre a COX-2, interferindo minimamente sobre a COX-1 evitando que se deflagrem as reações indesejadas decorrentes de

sua inibição. Indica-se o firocoxib para o tratamento das enfermidades inflamatórias do sistema locomotor em cães e equinos. No ano de 2004, o órgão governamental americano *Food and Drug Administration* (FDA), aprovou a formulação em comprimidos mastigáveis do firocoxib para utilização em cães (MERIAL, 2004) e, no final de 2005, a pasta oral, indicada para o tratamento de equinos, recebeu aprovação do FDA (MERIAL, 2005). No Brasil, apenas a apresentação para cães encontra-se disponível no mercado.

Figurando como uma nova opção no tratamento de doenças articulares não infecciosas nos equinos, a terapia com o firocoxib traz como proposta a minimização das reações adversas geralmente observadas com o uso de inibidores não seletivos. No entanto, faltam na literatura informações sobre a segurança do firocoxib especialmente na espécie equina. Assim, o estudo teve como objetivo avaliar o possível surgimento de efeitos adversos provocados pela administração do firocoxib durante 14 dias consecutivos em equinos saudáveis.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Há mais de 2000 anos, o escritor romano *Aulus Cornelius Celsus* definiu os quatro sinais cardinais da inflamação como sendo: rubor, tumor, calor e dor, mais tarde, no século XIX, o patologista alemão Rudolph Virchow acrescentou a perda da função a estes sinais. Inflamação é um termo que deriva do latim *inflammare* que significa atear fogo. O processo inflamatório consiste numa resposta protetora do organismo a qualquer agente, seja ele de origem química, física ou mecânica, capaz de perturbar homeostasia celular (KVATERNICK et al., 2007). A inflamação ocorre como uma ação coordenada entre o sistema imunológico e o tecido que sofreu a injúria envolvendo diversos fatores neurológicos, circulatórios, humorais e celulares (GODOY, 2010).

Após um trauma celular, uma série de eventos ocorre com o objetivo destruir, diluir e isolar o agente agressor. O processo inflamatório pode ser dividido em três fases; a fase aguda, na qual eventos vasculares causam o aumento do fluxo sanguíneo em arteríolas e vênulas e da permeabilidade vascular, levando ao acúmulo de fluidos, eletrólitos e proteínas plasmáticas no espaço extracelular; a fase tardia, caracterizada pela migração de leucócitos e células fagocitárias para o local da lesão; e a fase proliferativa crônica, na qual ocorrem degeneração tecidual e fibrose (BECHARA e SZABÓ; PIRES, 2009). Todo o processo é regulado por compostos orgânicos denominados mediadores químicos.

Os mediadores químicos são sintetizados constitutivamente ou em resposta à agressão celular, sendo responsáveis por funções biológicas da célula normal, além de atuarem como mediadores da dor, febre e edema na inflamação (FUNK, 2001). Aminas vasoativas, fator de ativação plaquetária (PAF), eicosanoides, citocinas, radicais livres superóxidos, óxido nítrico e neuropeptídeos são mediadores químicos inflamatórios de origem tissular, enquanto os sistemas de coagulação, do complemento e das cininas são classificados como mediadores de origem plasmática (TASAKA, 2006).

Quando um tecido é lesado ocorre a liberação de fosfolipídeos presentes na membrana plasmática das células. Esses fosfolipídeos sob a ação da fosfolipase A₂ produzem o ácido araquidônico (AA), um ácido graxo essencial cuja oxidação dará

origem a mediadores químicos conhecidos como eicosanoides. Os eicosanoides são os mediadores mais amplamente estudados, sendo a inibição da formação destes compostos o principal alvo do mecanismo de ação dos anti-inflamatórios (TASAKA, 2006).

A metabolização do AA pela via das lipoxigenases (LOX) forma os leucotrienos (LT): LTA, LTB₄, LTC₄, LTD₄, que participam de todos os processos inflamatórios e, em especial, das reações anafiláticas. Prostaglandinas (PG) e tromboxanos (TX) são produtos da quebra do AA pelas COX. A PGD₂, a PGE₂ e a prostaciclina estão envolvidas em eventos inflamatórios agudos como a vasodilatação arteriolar, a dor e o aumento da permeabilidade vascular. O TXA₂ e o TXB₂ são mediadores produzidos pelas plaquetas que promovem vasoconstrição, broncodilatação e agregação plaquetária. (TASAKA, 2006).

As COX ou prostaglandina endoperoxido sintase (PGHS) são enzimas que desempenham um papel essencial na conversão do AA em PGs (SMITH e LANDS, 1972; HAMBERG et al. 1974). Foram isoladas pela primeira vez por Hemler e Lands no ano de 1976 a partir da vesícula seminal de carneiros e mais tarde, clonadas três grupos de pesquisadores (DEWITT e SMITH, 1988; MERLIE et al. 1988; YOKOYAMA et al., 1988). Em 1985, Habenicht et al. identificaram uma segunda isoforma da COX que foi chamada de COX-2. A COX-1 passou a ser caracterizada como a forma constitutiva, por sua importância no desenvolvimento de processos fisiológicos e a COX-2 como sendo a forma induzível, por sua participação nos processos inflamatórios (OTTO e SMITH, 1995; HERSCHMAN, 1996). Embora ainda sejam utilizadas as denominações “constitutiva” e “induzível” o avanço nas pesquisas já demonstrou a participação da COX-2 em diversas funções orgânicas, o que derruba o conceito inicialmente proposto.

As COX podem ser encontradas em todos os tecidos dos mamíferos (KVATERNIK et al. 2007). As duas isoformas possuem estrutura e peso molecular muito semelhantes apresentando homologia de aproximadamente 60% de seus aminoácidos (SIMMONS, et al. 1991). A expressão de COX-1 e COX-2 varia nas diferentes células do organismo bem como as funções das PGs originadas pela quebra do AA por cada uma delas.

A hemostasia se divide em duas fases. Na primeira (hemostasia primária) ocorre a formação de um tampão de plaquetas no local em que o endotélio foi lesado, em seguida, ocorre a hemostasia secundária que envolve a ativação da cascata de coagulação e recruta componentes do plasma formando uma rede de fibrina que estabiliza o tampão de plaquetas. A prostaciclina (PGI₂) é o principal prostanóide secretado pelo endotélio vascular. Inicialmente acreditava-se que a regulação da síntese de PGI₂ era mediada pela COX-1 (HLA e NIELSON, 1992), no entanto em 2004, num estudo com camundongos e humanos, FitzGerald demonstrou que a regulação é feita predominantemente pela COX-2. A PGI₂ atua por meio da estimulação da enzima adenilciclase transformando o ATP em AMPc ativando a bomba de cálcio e aumentando a concentração de Ca²⁺ extracelular. O desbalanceamento das concentrações de Ca²⁺ intra e extracelular provoca vasodilatação e diminuição da agregação plaquetária (FITZGERALD e PATRONO, 2001). Nas plaquetas, apenas a COX-1 é expressa, onde é responsável pela conversão do AA em TXA₂, um potente promotor de agregação plaquetária e vasoconstrição, que é rapidamente degradado em TXB₂, menos ativo que o primeiro (NEEDLEMAN et al. 1976). O TXA₂ impede a transformação do ATP em AMPc através da inibição da enzima adenilciclase, atuando de forma antagônica à PGI₂. A agregação plaquetária envolve a ligação entre o fibrinogênio e os receptores expressos na superfície das plaquetas. Os mecanismos de vasodilatação e vasoconstrição, assim como a agregação plaquetária dependem do balanço entre a PGI₂ e o TXA₂ (GUYTON e HALL, 1997).

A síntese dos prostanóides citoprotetores do trato gastrointestinal (TGI) é feita via COX-1. A PGE₂ e a PGI₂ são responsáveis pela diminuição da produção de ácido clorídrico (HCl) pelas células parietais do TGI. Além disso, o efeito vasodilatador observado pela ação destas PGs melhora o fluxo sanguíneo nas mucosas do TGI favorecendo a integridade dos tecidos (WHITTLE et al. 1978). A PGE₂ e a PGI₂ promovem a secreção de muco (JOHANSSON e KOLLBERG, 1979) e bicarbonato no duodeno (BAHARI et al., 1982), isso neutraliza o HCl e protegendo a mucosa. Acreditava-se que apenas a COX-1 era expressa no TGI (KARGMAN et al. 1996), no entanto, pesquisas demonstraram a expressão de COX-2 na mucosa gástrica saudável de coelhos e seres humanos. Este achado sugeriu que a síntese

de PGs gastroprotetoras possa estar relacionada também à presença da COX-2 (ZIMMERMAN et al.1998).

Tanto a COX-1 quanto a COX-2 são expressas no tecido renal (KÖMHOFF et al. 1997). O córtex renal produz uma grande quantidade de PGE₂ e a PGI₂, mas pouquíssimo TXA₂ (FARMAN et al. 1987).Nos rins, as PGs produzidas pelas células epiteliais glomerulares e mesangiais promovem vasodilatação da arteríola aferente aumentando o fluxo sanguíneo e melhorando a perfusão do órgão. Além disso, aumentam a taxa de filtração glomerular e as células mesangiais da mácula densa, que expressam COX-2 constitutivamente, desempenham papel importante na liberação de renina pela estimulação de PGI₂ (OSBORN et al., 1984).

As prostaglandinas que atuam no sistema reprodutivo promovem, dentre outras funções, a contração da cérvix, tubas uterinas e do útero. A PGE₂, induz trabalho de parto em qualquer período da gestação, já a PGF_{2α} está envolvida nos processos de ovulação, luteólise e no parto. Ambas as isoformas da COX são expressas no útero prenhe, nas membranas fetais e no cordão umbilical (GIBB e SUN, 1996).

A COX-1 é expressa constitutivamente nos neurônios e no sistema nervoso central. Esta isoforma é abundante nestas estruturas, em contraste com a COX-2, cuja expressão é bem mais discreta no tecido nervoso normal (YAMAGATA et al. 1993; BREDER et al.1995). Já foi demonstrado, no entanto, que a expressão de COX-2 aumenta no tecido cerebral e em culturas de células da glia na presença de substâncias pirogênicas como lipopolissacarídeo, e citocinas (BREDER e SAPER, 1996).

Compostos com atividade anti-inflamatória vêm sendo utilizados desde a antiguidade. Recomendava-se a ingestão de um macerado de casca de salgueiro com pimenta e vinho para o alívio de cólicas. Um preparado com as folhas da planta era utilizado no tratamento de gota e como antipiréticos nos casos de malária (LEES, et al, 2004). No ano século XIX, Leroux conseguiu extrair, da casca do salgueiro, a salicilina, um composto que é hidrolisado em glicose e ácido salicílico. Em 1878, Kolbe e Lautermann obtiveram sucesso em produzir o ácido salicílico em escala comercial a partir do álcool salicílico.

Os AINEs exercem função inibitória sobre as COX bloqueando a hidrólise do AA e impedindo a formação das PGs e, desta forma, combatem a inflamação, a dor e a febre (VANE, 1971). Estas drogas possuem amplo espectro de ação terapêutica atuando tanto na dor aguda quanto crônica (STEAGALL, et al., 2007) e também como antipirético, antitrombogênico e antiendotóxico (MATTHEWS, 2002). Os efeitos adversos decorrentes da utilização dos AINEs são observados principalmente no trato gastrointestinal, na função renal e na agregação plaquetária e decorrem, em especial, da inibição de COX expressas constitutivamente. (YADAV et al., 2006; STEAGALL et al., 2009). Dentre os efeitos adversos mais comuns observados com a administração dos AINEs em equinos estão o desenvolvimento de isquemia e necrose renal (GUNSON e SOMA, 1983; READ, 1983), além das erosões gastrintestinais, ulcerações, diarreia e anorexia (SNOW et al., 1979; MESCHTER et al., 1990; McALLISTER et al., 1993).

Mesmo anteriormente aos estudos que definiram com precisão as diferentes isoformas da cicloxigenase e suas funções, já era notada a diferença entre os AINEs em relação à segurança do trato gastrointestinal. Com o desenvolvimento de novas pesquisas, foi possível descobrir que os AINEs que menos causavam impacto sobre o TGI era aqueles que inibiam preferencialmente a COX-2 (CLARK, 2006).

A seletividade de um AINE é determinada, pela concentração inibitória IC50 para a COX-2. O conceito de IC50 se refere à concentração de AINE que inibe 50% da atividade da COX e é expressa como a relação COX-1:COX-2. Em termos práticos, quanto maior a seletividade por COX-2, maior o número de moléculas do AINE que serão necessárias para inibir a atividade da COX-1 aumentando a proporção.(JONES & BUDSBERG, 2000).

Os AINEs podem ser divididos em três grupos considerando-se sua capacidade de inibição de COX-1 ou COX-2: Os inibidores não seletivos como aspirina, fenilbutazona, ibuprofeno, cetoprofeno, os inibidores preferenciais de COX-2 como meloxicam, carprofeno, nimesulida, celecoxib e os inibidores seletivos de COX-2 como valdecoxib, rofecoxib, lumaricoxib, firocoxib (LEES et al., 2004).

A aspirina é o modelo de inibidor não seletivo, apresentando 10 vezes mais afinidade pela COX-1 do que pela COX-2. Ainda no grupo dos inibidores não seletivos, podemos citar a fenilbutazona, o cetoprofeno e o ibuprofeno. Os inibidores

não seletivos são apontados como os grandes responsáveis pelos efeitos adversos observados com o uso dos AINEs. A inibição de COX-1 nas plaquetas impede a síntese do TXA₂, isso gera um efeito anticoagulante. O efeito inibitório sobre a TXA₂ é a razão pela qual se indica a aspirina na prevenção de trombose (MARCUS et al., 1981). No TGI a inibição da COX-1 promove aumento na secreção ácida pela mucosa gástrica além de reduzir o fluxo sanguíneo e a produção de muco e bicarbonato, esses fatores combinados favorecem o aparecimento de gastrites, ulcerações em decorrência da utilização de inibidores não seletivos (NAVAB e STEINGRUB, 1995).

No final da década de 90 surgiram os coxibs, uma classe de AINEs inibidores seletivos de COX-2. O apelo comercial destas drogas se deve ao fato de promoverem excelente controle da inflamação sem causarem os efeitos adversos, sobretudo no TGI, observados com o uso de inibidores não seletivos (BOTTING, 2006), uma vez que as PGs gastroprotetoras são produzidas principalmente pela via da COX-1, que se mantém praticamente inalterada na terapia com essa classe de medicamentos.

O desenvolvimento dos coxibs levou à falsa ideia de que a terapêutica com estas drogas era livre de efeitos adversos (YADAV et al., 2006). Apesar da redução destes efeitos, a descoberta do envolvimento da COX-2 em funções fisiológicas trouxe novos questionamentos sobre a toxicidade provocada pela utilização dos inibidores seletivos (BINGHAM, 2002). A utilização crônica de inibidores seletivos de COX-2 em seres humanos foi relacionada ao aumento do risco de distúrbios cardiovasculares tais como hipertensão arterial e trombose cerebral (BERTOLINI et al., 2002; FITZGERALD, 2004; KROTZ et al., 2005), isto porque impedem a síntese de PGI₂, especialmente no endotélio vascular, sem que haja diminuição da produção de TXA₂ pelas plaquetas, promovendo um desequilíbrio nos mecanismos de vasodilatação/vasoconstrição e de coagulação. Este efeito não é tão evidente com a utilização de inibidores preferenciais, pois estas drogas também mantêm o bloqueio da COX-1, ainda que em níveis inferiores à inibição da COX-2, permitindo que o equilíbrio PGI₂/TXA₂ seja mantido.

A avaliação hematológica permite a detecção de alterações comuns na terapia anti-inflamatória (JERICÓ e ANDRADE, 2008). A contagem de plaquetas

pode auxiliar no diagnóstico de distúrbios de coagulação especialmente em relação à hemostasia primária (GUYTON e HALL, 1997). Ainda, os testes de coagulação tais como, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) e a dosagem de fibrinogênio podem ser úteis na detecção de alterações nos mecanismos de hemostase (GENTRY et al. 2008).

Transtornos hepáticos também têm sido relacionados ao uso de AINEs inibidores preferenciais de COX-2 (BOELSTERLI, 2002) e inibidores seletivos. (GALAN et al, 2001; NACHIMUTHU et al., 2001). Estas injúrias podem ser percebidas nos testes de função hepática

A ação dos coxibs sobre os rins parece ser semelhante à dos inibidores não seletivos. Isso porque tanto a COX-1 quanto a COX-2 são expressas constitutivamente nestes órgãos regulando a produção de PGs envolvidas na homeostasia renal. A função renal pode ser acessada por meio da avaliação das concentrações séricas de ureia e creatinina. Alterações urinárias em resposta a danos renais também podem ser detectadas por meios de exames com fitas de urinálise de química seca (KANEKO et al., 2008).

Sobre a toxicidade gastrointestinal dos coxibs, a descoberta da atividade antioangiogênica e da inibição da proliferação celular em tumores promovida pela terapia com inibidores seletivos da COX-2 (MAJIMA et al., 1997; MASFERRER et al., 2000) sugere que a utilização destas drogas leve a um atraso na cicatrização de úlceras gástricas (POONAM et al., 2005) já que tanto a angiogênese quanto a proliferação celular estão envolvidas neste processo (SÁNCHEZ-FIDALGO et al., 2004). A gastroscopia é a forma mais segura de avaliar o aparecimento de lesões gástricas (MCALLISTER et al, 1997).

O firocoxib é um AINE desenvolvido recentemente sendo indicado especificamente para uso veterinário. Este fármaco é um potente inibidor de COX-2 altamente seletivo para a isoforma. Em um estudo in vitro com sangue total de cão, o firocoxib demonstrou seletividade 350 a 430 vezes maior pela COX-2 do que pela COX-1 (McCANN et al., 2004).

A dose utilizada do firocoxib vai depender da espécie a ser tratada. Segundo a recomendação do FDA. A dose para cães é de 5mg/kg a cada 24h e para equinos é de 0,1mg/kg. O firocoxib é metabolizado no fígado e excretado pelos rins, sendo

utilizado em equinos por via oral. Após administração oral a droga atinge a biodisponibilidade absoluta no plasma após 3,9 h onde se liga fortemente às proteínas plasmáticas. A meia-vida longa do firocoxib (30h) permite que a administração seja realizada uma vez ao dia, o que é considerado suficiente para manter os níveis plasmáticos efetivos no controle da dor (KVATERNICK et al., 2007).

O caráter lipofílico do firocoxib justifica a ampla distribuição da droga pelos tecidos orgânicos penetrando inclusive no líquido sinovial (KVATERNICK et al., 2007). Assim, esse fármaco é indicado para o tratamento de afecções de origem articular em equinos. Num estudo com equinos naturalmente acometidos por osteoartrite, Doucet et al. (2008) comprovaram a eficácia do firocoxibe, tendo demonstrado que seu potencial anti-inflamatório é semelhante ao da fenilbutazona. A possibilidade de utilização da droga em equinos por um período prolongado sem que sejam observados efeitos tóxicos (DIVERS, 2008) favorece sua utilização no controle de afecções crônicas especialmente as de origem articular que muitas vezes demandam tratamentos longos.

Ainda que os inibidores seletivos de COX-2 pareçam causar menos efeitos adversos do que as drogas anti-inflamatórias tradicionais, é necessária a realização de estudos de segurança afim de que se estabeleçam os melhores esquemas de tratamento com essas novas drogas. No que diz respeito ao firocoxib, faltam na literatura dados que sustentem as hipóteses de minimização da toxicidade decorrente de sua utilização principalmente na espécie equina. Nesse contexto, é possível lançar mão de ferramentas clínicas e laboratoriais que possibilitem observar as respostas orgânicas frente ao tratamento com os AINEs.

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral

O presente trabalho objetivou avaliar os possíveis efeitos adversos da administração da dose terapêutica oral do Firocoxib em equinos saudáveis. E a partir dos resultados obtidos confirmar a segurança do fármaco para esta espécie.

Objetivos Específicos

- Avaliar as variáveis hematológicas tais como contagem de hemácias, leucócitos totais, concentração de hemoglobina, hematócrito, contagem diferencial de leucócitos de equinos saudáveis submetidos a um tratamento de 14 dias com firocoxib.

- Avaliar parâmetros de coagulação tais como o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de protrombina (TP), concentração de fibrinogênio e contagem de plaquetas de equinos saudáveis submetidos a um tratamento de 14 dias com firocoxib.

- Avaliar as atividades séricas de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP), gama-glutamil transferase (GGT), creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e as concentrações séricas uréia, creatinina e proteínas totais (PT) de equinos saudáveis submetidos a um tratamento de 14 dias com firocoxib.

- Avaliar parâmetros de urinálise - pH, densidade, bilirrubina, urobilinogênio, cetonas, nitrito, glicose, proteínas e sangue na análise por fita de química seca. E realização de exame sedimentoscópico de equinos saudáveis submetidos a um tratamento de 14 dias com firocoxib.

- Avaliar, mediante exame gastroscópico, o potencial ulcerogênico da administração de firocoxib por 14 dias consecutivos em equinos saudáveis.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados 9 equinos, 4 machos castrados e 5 fêmeas não prenhes com peso médio de 405 ± 31 Kg e idade média 11 ± 3 anos pertencentes à tropa experimental do Laboratório de Farmacologia e Fisiologia do Exercício Equino (LAFEQ) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Durante o período experimental, os animais foram mantidos em piquetes e receberam ração balanceada, feno de tifton e água *ad libitum*. Considerados hígidos de acordo com a avaliação clínica e laboratorial, todos os animais passaram por programas de desverminação, vacinação e controle de ectoparasitas antes do início do período experimental.

4.2. Protocolo Experimental

Os animais receberam uma vez ao dia via oral $0,1 \text{mg/kg}$ de firocoxib¹ por 14 dias. Inicialmente os comprimidos foram macerados com auxílio de cadinho e pistilo e pesados em balança de precisão para que fosse obtida a quantidade exata de droga para cada animal. A administração foi feita adicionando-se à droga 10ml de glucose de milho² a pasta formada foi fornecida aos animais na boca utilizando-se uma seringa de 20mL com a ponta cortada.

Amostras de sangue e urina foram coletadas para a realização dos exames laboratoriais nos seguintes dias: D1, antes do início do tratamento; D7, 7 dias após o início do tratamento; D14, 14 dias após o início do tratamento e D21, 1 semana após o término do tratamento.

Realizou-se endoscopia gástrica de todos os animais 1 dia antes do início do tratamento (D0) e dois dias após a última coleta de dados (D23).

Os animais foram observados diariamente quanto ao aparecimento de desconforto, diminuição do apetite e diarreia. Realizou-se exame clínico dos animais dos momentos D1, D7, D14 e D21.

A figura 1 apresenta a sequência cronológica de eventos no período experimental.

¹ Previcox[®] Merial Saúde Animal LTDA., Paulínea, SP, Brasil

² Karo[®] Unilever Alimentos

O presente estudo foi aprovado possui aprovação no Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da Unesp-Jaboticabal, sob o protocolo 015002/10.



Figura 1: Representação esquemática da sequência cronológica de eventos no período experimental.

4.3. Análise das Variáveis Sanguíneas

A coleta de sangue foi realizada por punção da veia jugular nos dias pré-determinados. Foram coletados, de cada animal, 20mL de sangue total em seringa e imediatamente distribuídos em tubos de pressão negativa da seguinte forma:

- 4mL em tubo de pressão negativa³ contendo ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA). Estas amostras foram destinadas a avaliação hematológica. As contagens globais de hemácias e leucócitos, concentração de hemoglobina hematócrito e contagem de plaquetas foram feitas empregando-se analisador hematológico de uso veterinário⁴. A contagem diferencial de leucócitos foi feita por meio de esfregaço sanguíneo.

- 5mL em tubo contendo citrato de sódio 3,8%. As amostras foram imediatamente centrifugadas separando-se o plasma citratado utilizado nos testes de coagulação. De acordo com a metodologia determinada para reagentes comerciais⁵ utilizados em coagulômetro⁶, foram obtidos, o tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada e a concentração fibrinogênio.

- 10mL em tubo de pressão negativa⁷ contendo ativador de coágulo mantido em temperatura ambiente por 15 minutos e posteriormente centrifugado por 10 minutos a 1300G. O soro separado foi pipetado e utilizado na avaliação bioquímica sérica. Foram avaliadas as atividades séricas de ALP, ALT, AST, LDH, GGT, CK e

³ Tubos EDTA, 5,0mL Vacutainer BD®, São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Vet Auto Hematology Analyzer® BC-2800 VET Mindray, Shenzhen, China.

⁵ Kits Labtest® Lagoa Santa, MG, Brasil

⁶ Quick Timer® II Drake

⁷ Tubos Ativador de coágulo, 10mL Vacutainer BD®, São Paulo, SP, Brasil.

as concentrações séricas de ureia, creatinina e PT. As análises foram feitas em espectrofotômetro semi-automático⁸ utilizando-se reagentes colorimétricos comerciais⁹.

4.4. Urinálise

As amostras de urina foram coletadas, apenas das fêmeas (n=5), por sondagem vesical nos dias D1, D7, D14 e D21. Para tanto, realizou-se a antissepsia da região genital com iodopovidine e água. Após, foi introduzida uma sonda de PVC siliconizada¹⁰ no orifício uretral e empurrada delicadamente até que a bexiga fosse alcançada. Com auxílio de uma seringa, a amostra foi obtida e imediatamente acondicionada em frascos estéreis¹¹. Após as coletas foram realizados exames químicos da urina com o auxílio de fitas reagentes de química seca¹². Parte das amostras (10 mL) foi enviada ao laboratório onde foram feitas as análises do sedimento urinário. Para isso, as amostras foram centrifugadas a 350G por 5 minutos, o sobrenadante foi descartado deixando apenas 0,5 mL que foi ressuspenso, pipetado, colocado em uma lâmina de vidro e coberto com lamínula. A lâmina foi levada ao microscópio e observada nas objetivas de 10, 40 e 100x.

4.5. Avaliação Gastroscópica

Para a realização dos exames gastroscópicos, os animais foram submetidos a jejum alimentar de 4 horas e posterior esvaziamento estomacal por meio de sondagem nasogástrica, introdução de água e sifonamento do conteúdo. Após este procedimento os animais foram sedados com cloridrato de detomidina¹³ na dose de 0,015 mg/kg administrados por via intravenosa. Os animais foram contidos em tronco. As gastroscopias foram realizadas utilizando-se um vídeo-gastroscópio¹⁴

⁸ Espectrofotômetro semi-automático Labquest® Bio 2000, Barueri, SP, Brasil.

⁹ Kits Labtest® Lagoa Santa, MG, Brasil.

¹⁰ Sonda urinária de PVC siliconizada nº24, Solidor, Diadema, SP, Brasil.

¹¹ Frasco coletor de urina 80mL, J. Prolab, São José dos Pinhais, SP, Brasil.

¹² Uriquest® Plus Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil.

¹³ Dormiun V, Agener Saúde Animal, Embu Guaçu, SP, Brasil

¹⁴ Endoscópio Karl Storz GMBH & CO

com 300 cm de comprimento e 0,8 cm de diâmetro, acoplado a uma fonte de luz de xenon.

A extremidade da probe foi lubrificada com lidocaína em gel¹⁵, introduzida pela narina e direcionada até atingir o estômago. Foi insuflado ar promovendo distensão da cavidade gástrica para melhor visibilização das estruturas. Observou-se a mucosa aglandular, o *margo plicatus* e a porção visível da mucosa glandular a procura de possíveis úlceras e outras alterações gástricas de interesse clínico. A classificação das lesões observadas foi feita de acordo com MCALLISTER et al. (1997): 0 = sem lesão, 1 = somente inflamação (mucosa intacta), 2 = lesões superficiais (ruptura apenas da mucosa), 3 = lesão moderada (envolvimento mais profundo do tecido), 4 = tecido mais profundo envolvido e hemorragia evidente, e 5 = próximo à perfuração. Após a avaliação, o endoscópio foi tracionado delicadamente ao mesmo tempo que o ar insuflado no estômago era retirado.

4.6. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software estatístico Sigma Plot® 11.0. Inicialmente os dados foram analisados quanto à distribuição normal pelo teste Shapiro-Wilk e em seguida comparados por análise de variância (ANOVA) amostras repetidas no tempo. As hipóteses rejeitadas foram submetidas ao Teste de Tukey. Todos os testes foram realizados com 5% de nível de significância.

¹⁵ Lidocaína gel 2%, União Química, Embu Guaçu, Sp, Brasil.

5. RESULTADOS

Nenhum dos animais apresentou sintomas de desconforto, diarreia ou diminuição do apetite. Ao exame clínico, nenhum dos animais apresentou variáveis que indicassem qualquer alteração digna de nota, Todos apresentaram coloração normal das mucosas aparentes, motilidade intestinal normal e nenhuma alteração digna de nota nas avaliações de pulso digital e linfonodos. Na tabela 1 encontram-se as médias da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (T°C) e tempo de preenchimento capilar (TPC) observados nos exames clínicos realizados nos momentos D1, D7, D14 e D21.

Tabela 1. Médias \pm desvio padrão referentes aos valores da frequência cardíaca(FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (T°C) nos momentos D1, D7, D14 e D21.

	D1	D7	D14	D21
FC	37,78	40,89	41,78	39,56
(bpm):	\pm	\pm	\pm	\pm
	4,52	3,33	4,06	3,71
FR	17,33	16,44	19,56	17,78
(mrm):	\pm	\pm	\pm	\pm
	3,46	2,4	3,13	3,53
T°C:	37,17	37,19	37,24	37,29
	\pm	\pm	\pm	\pm
	0,24	0,2	0,24	0,3

5.1. Avaliação Hematológica

Na avaliação hematológica apenas no número de leucócitos e a concentração de hemoglobina apresentaram diferenças na comparação das médias dos momentos avaliados ao longo do período experimental ($P < 0,05$), como pode ser observado na Figura 3. O número de leucócitos diminuiu na avaliação do D14 em relação ao D1, voltando aos valores basais no D21- 7 dias após o final do tratamento. A concentração de hemoglobina aumentou nos momentos D14 e D21 em relação ao do D1. As demais variáveis não demonstraram alterações

significativas (Figuras 2 e 3) e se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie equina (MEYER et al, 1995) . Na Tabela 2 são apresentadas as médias \pm desvio padrão pra cada uma das variáveis hematológicas analisadas.

Tabela 2. Médias e desvio padrão referentes às variáveis hematológicas determinadas nos tempo D1, D7, D14 e D21. Letras diferentes representam diferença na comparação de médias.

	D1	D7	D14	D21
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	7,45 \pm 1,14 11,38 ^a	7,78 \pm 1,14 12,02 ^{ab}	7,78 \pm 1,06 12,61 ^b	7,51 \pm 1,09 12,67 ^b
Hemoglobina (g/dL)	\pm 1,28 36,54	\pm 1,3 37,36	\pm 1,17 37,39	\pm 1,03 37,61
Hematócrito (%)	\pm 5,53 8,39 ^a	\pm 4,29 7,70 ^{ab}	\pm 3,94 7,28 ^b	\pm 4,75 8,27 ^a
Leucócitos ($\times 10^3 /\mu\text{L}$)	\pm 1,4 3,11	\pm 1,35 2,67	\pm 1,18 3,78	\pm 1,3 2,89
Monócitos (%)	\pm 1,54 56,44	\pm 1,5 59,11	\pm 1,39 58	\pm 1,17 60,56
Neutrófilos Segmentados (%)	\pm 5,39 1,78	\pm 3,18 1,89	\pm 4,72 2	\pm 4,33 1,67
Neutrófilos Bastonestes (%)	\pm 0,83 36,22	\pm 0,93 33	\pm 0,71 33,67	\pm 0,87 32,67
Linfócitos (%)	\pm 5,61 2,44	\pm 3,5 3,78	\pm 5,77 2,11	\pm 3,04 2,22
Eosinófilos (%)	\pm 1,42	\pm 0,97	\pm 1,62	\pm 0,83

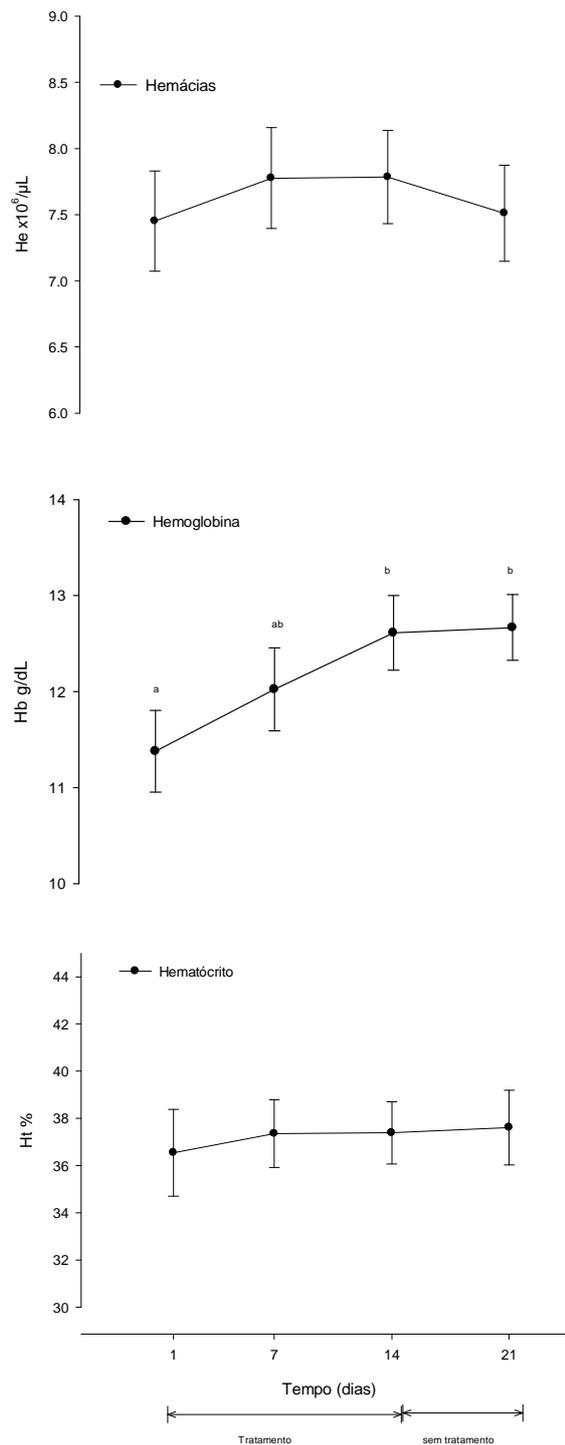


Figura 2. Representação gráfica das médias \pm erro padrão das variáveis hematológicas contagem de hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito. Letras diferentes representam diferença na comparação de médias.

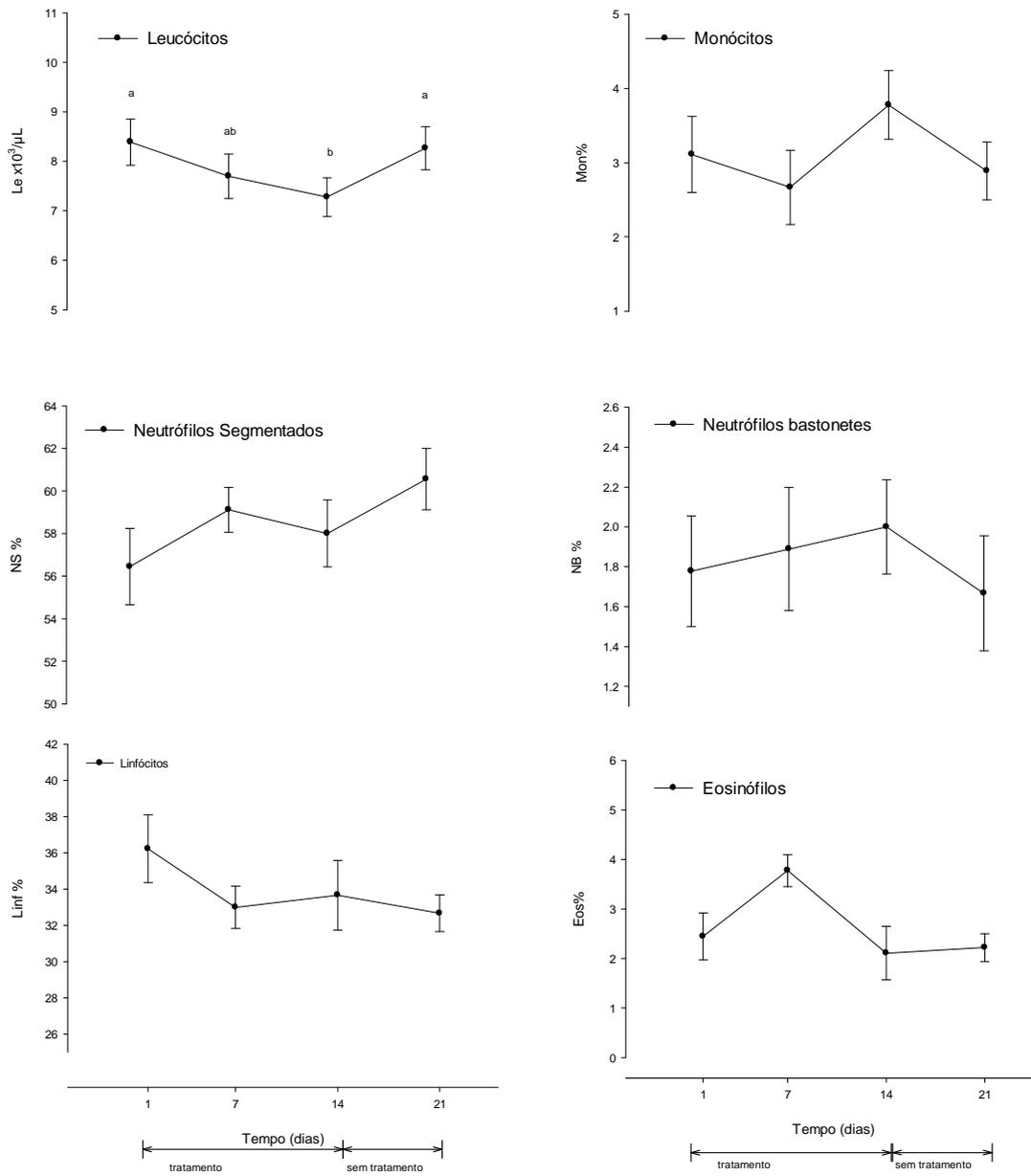


Figura 3. Representação gráfica dos valores obtidos nas contagens global e diferencial de leucócitos. Valores expressos em média \pm erro padrão. Letras diferentes representam diferença na comparação de médias.

5.2. Parâmetros de Coagulação

No estudo da coagulação, todas as variáveis analisadas apresentaram alterações significativas ($P < 0,05$). Os valores das médias \pm desvio padrão são apresentados na Tabela 3.

O TTPA apresentou aumento em D7 e D14 e D21 quando comparadas as médias em relação à média do D1.

Foi observado aumento no TP nos momentos D7, D14 e D21 em relação ao D1.

A concentração plasmática de fibrinogênio aumentou no momento D21 em relação a D7 e D14.

A contagem de plaquetas diminuiu nas avaliações em D7, D14 e D21 em relação ao momento D1. A Figura 4 contém a representação gráfica das alterações observadas na concentração plasmática de fibrinogênio, no tempo de protrombina e no tempo de tromboplastina parcial ativada e na contagem de plaquetas.

Tabela 3. Valores referentes ao estudo de coagulação (média \pm desvio padrão), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de protrombina (TP), concentração de fibrinogênio e contagem de plaquetas determinadas nos tempo D1, D7, D14 e D21.

	D1	D7	D14	D21
TTPA (s)	34,74 ^a	56,73 ^b	57,57 ^b	62,76 ^b
	\pm	\pm	\pm	\pm
TP (s)	8,32	9,54	8,41	8,7
	11,19 ^a	17,73 ^b	17,00 ^b	17,23 ^b
Fibrinogênio (g/L)	\pm	\pm	\pm	\pm
	0,77	4,49	2,04	2,68
Plaquetas ($\times 10^3 / \mu\text{L}$)	3,00 ^{ab}	2,69 ^a	2,60 ^a	3,53 ^b
	\pm	\pm	\pm	\pm
	285,33 ^a	230,44 ^b	238,11 ^b	204,33 ^b
	\pm	\pm	\pm	\pm
	50,99	31,26	28,45	10,82

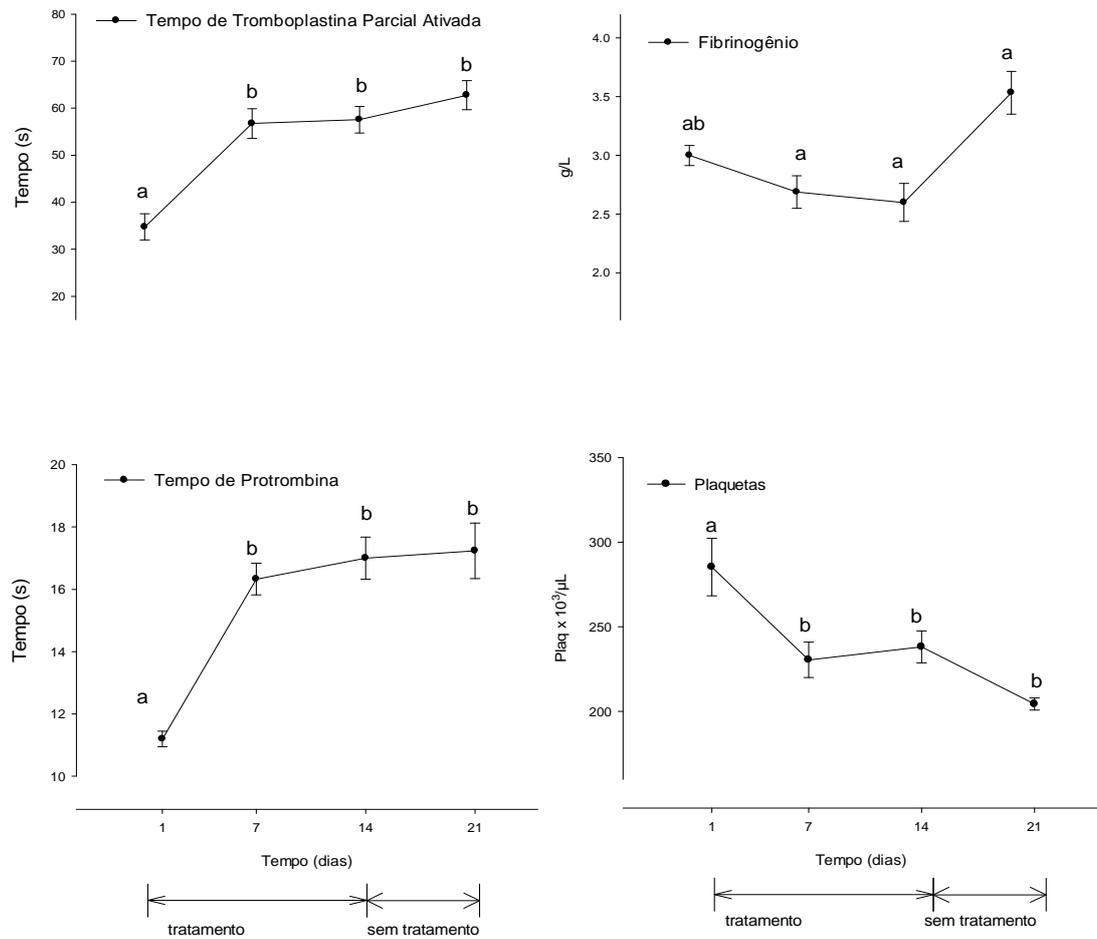


Figura 4. Representação gráfica das variações das médias \pm erro padrão do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de protrombina (TP), da concentração de fibrinogênio e da contagem de plaquetas. Letras diferentes indicam diferença significativa na comparação de médias.

5.3. Alterações Bioquímicas

Na avaliação da bioquímica sérica todas as variáveis pesquisadas se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie equina (KANEKO et al., 2008). Foram encontradas alterações significativas ($P < 0,05$) na comparação das médias das atividades séricas de AST, ALP e GGT e das concentrações séricas de ureia e creatinina.

Houve aumento na atividade de AST no D14 em relação ao D1. A atividade de ALP aumentou nos momentos D7 e D14 em relação ao D1 tendo retornando aos valores basais no D21. A concentração de ureia diminuiu no D14 em relação ao D1. A creatinina se manteve estável no período de tratamento, porém, no D21 apresentou diminuição em relação a D1, D7 e D14. A atividade de GGT diminuiu no D21 quando comparada ao D14, mas não houve diminuição em relação ao D1 e ao D7. As atividades séricas de ALT, PT, LDH e CK não sofreram alterações significativas durante o experimento.

Os valores das médias \pm desvio padrão determinados pela avaliação da bioquímica sérica encontram-se na Tabela 4. Os dados referentes a atividade sérica de AST, ALT, ALP, GGT, CK e LDH ao longo dos tempos estão representados na Figura 5. A Figura 6 apresenta os valores referentes às concentrações séricas de ureia, creatinina e PT.

Tabela 4. Médias e desvio padrão referentes às variáveis bioquímicas séricas determinadas nos tempo D1, D7, D14 e D21. Letras diferentes representam diferença na comparação de médias

	D1	D7	D14	D21
AST (U/L)	214,44 ^a	251,11 ^{ab}	263,89 ^b	252,67 ^a
	±	±	±	±
	28,71	50,27	73,93	56,23
ALT (U/L)	6,99	7,57	9,31	6,4
	±	±	±	±
	2,62	2,76	5,09	2,31
ALP (U/L)	88,78 ^a	144,00 ^b	159,78 ^b	89,00 ^a
	±	±	±	±
	30,33	61,44	60,53	57,37
GGT (U/L)	9,90 ^{ab}	9,90 ^{ab}	12,73 ^a	8,48 ^b
	±	±	±	±
	16,36	28,13	30,57	20,38
CK (U/L)	210,11	228,89	218	226,22
	±	±	±	±
	80,37	51,66	64,84	55,61
LDH (U/L)	231,56	307,11	298,11	310,67
	±	±	±	±
	61,56	102,63	58,03	63,1
Ureia (mg/dL)	28,27 ^a	19,00 ^{ab}	16,63 ^a	22,65 ^{ab}
	±	±	±	±
	12	6,47	8,21	8,14
Creatinina (mg/dL)	1,51 ^a	1,56 ^a	1,45 ^a	1,20 ^b
	±	±	±	±
	0,18	0,23	0,23	0,18
PT (g/dL)	7,06	7,63	7,29	6,61
	±	±	±	±
	1,14	1,28	1,03	1,7

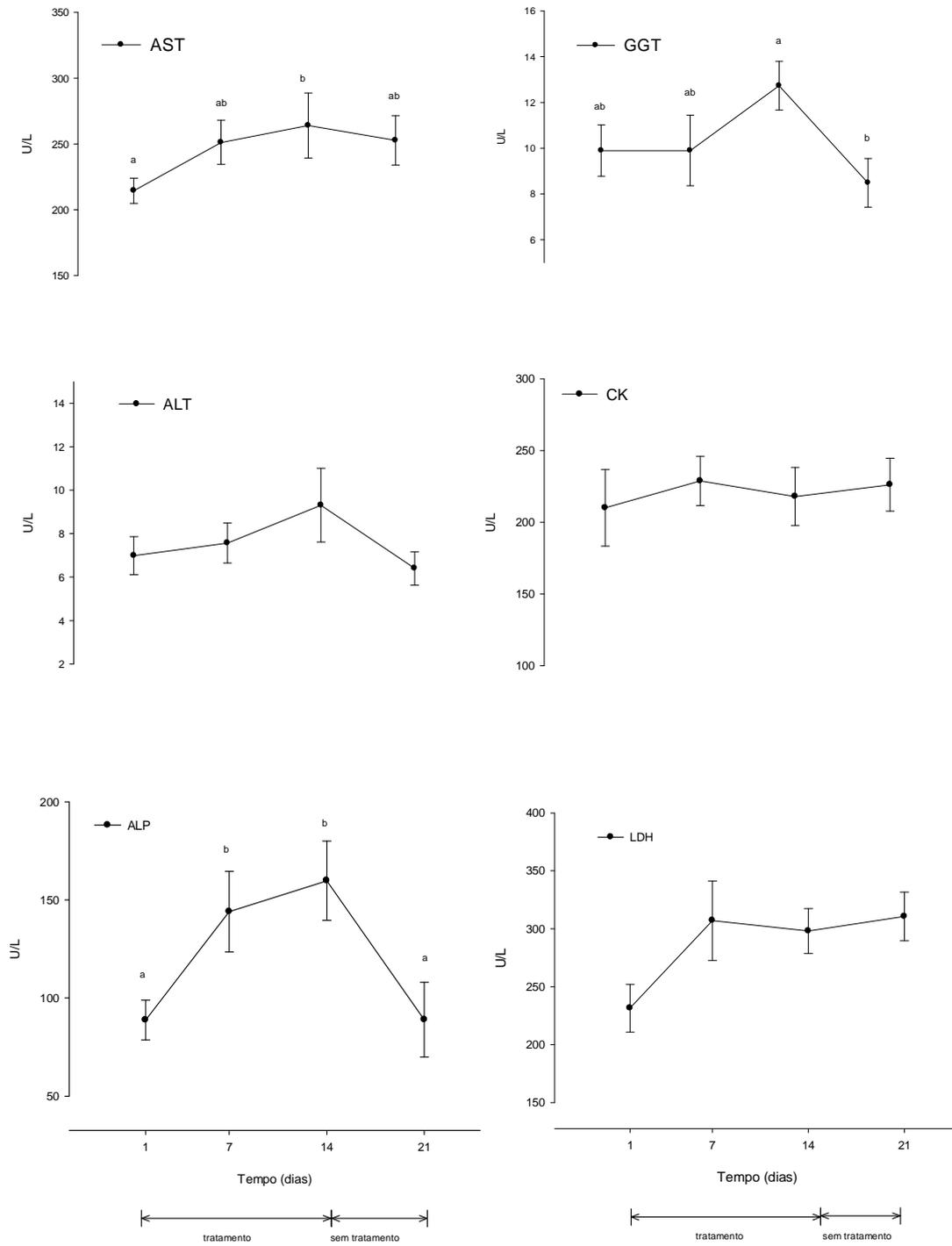


Figura 5. Concentração sérica das enzimas ALT, AST, ALP, GGT, CK e LDH. Letras diferentes indicam alterações significativas na comparação de médias. Valores expressos em média \pm erro padrão.

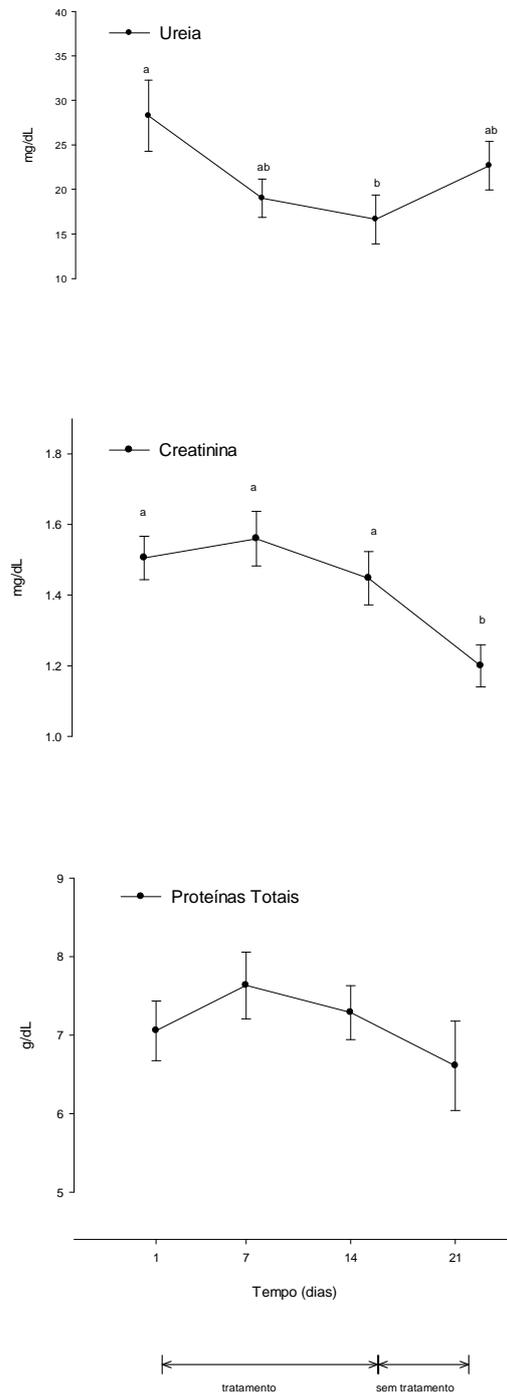


Figura 6. Representação gráfica das médias \pm erro padrão das concentrações séricas de uréia, creatinina e proteínas totais. Letras diferentes indicam alterações significativas na comparação de médias

5.4. Urinálise

Nenhuma alteração importante foi detectada na urinálise realizada com fita de química seca. Todas as variáveis analisadas (pH, densidade, pesquisa da presença de bilirrubina, urobilinogênio, cetonas, nitrito, glicose, proteínas e sangue) se mantiveram dentro da normalidade.

Na sedimentoscopia urinária foram encontrados apenas cristais de carbonato e muco. Esses achados são fisiológicos na espécie equina.

5.5. Avaliação Gastoscópica

Nenhum dos animais demonstrou alterações dignas de nota na avaliação gastoscópica inicial (D0) sendo classificados com escore 0.

Após os 14 dias de tratamento, não foram detectadas alterações tais como inflamação de mucosa ou lesão ulcerativa em nenhum dos animais, desta forma, o escore 0 foi mantido no exame pós tratamento, não havendo, portanto, diferença entre as avaliações. A manutenção do escore 0 dispensou a necessidade da realização de análise estatística.

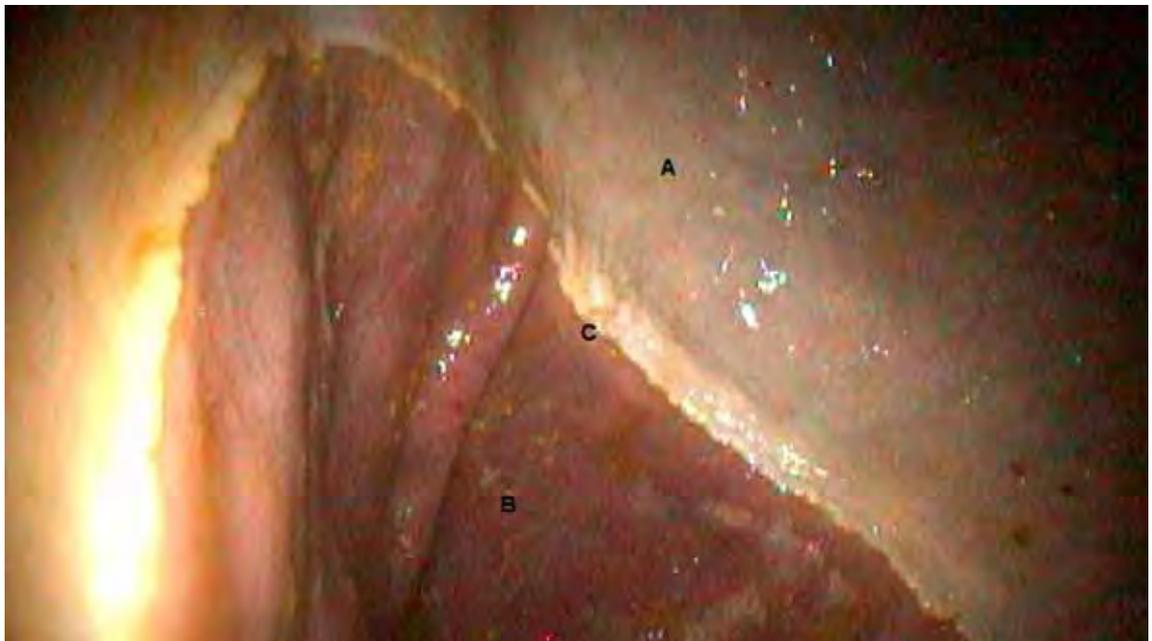


Figura 7. Imagem gastoscópica evidenciando a mucosa gástrica aglandular (A), a glandular (B) e o *margo plicatus* (C).

6. DISCUSSÃO

Os resultados encontrados neste estudo demonstraram que a administração do firocoxib em equinos saudáveis por um período de 14 dias utilizando-se a dose recomendada pelo FDA para a espécie não ocasionou alterações importantes em nenhuma das variáveis analisadas, uma vez que mesmo aquelas que apresentaram alguma alteração na análise estatística se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie equina (MEYER et al, 1995; KANEKO et al., 2008).

Na terapia com AINEs inibidores não seletivos, a redução na contagem de hemácias, na concentração de hemoglobina e no hematócrito são achados comuns (MOZAFFARI et al., 2010; BARBOSA et al., 2010). Isto ocorre principalmente em resposta às lesões no TGI causadas pela inibição da COX-1 e, conseqüentemente, da produção de PGs gastroprotetoras, além disso, a ação anticoagulante das drogas que inibem a COX-1 facilita a ocorrência de sangramentos gastrintestinais especialmente na presença de úlceras (ZATERKA, 2000), já que a impedem a formação de TXA₂, envolvido no processo de hemostasia. No presente estudo, porém, estas alterações não foram observadas, isto sugere que o firocoxib não provocou lesões capazes de causar diminuição na série vermelha do sangue.

O surgimento de leucocitose pode ocorrer em resposta a tratamentos com AINEs (JERICÓ e ANDRADE, 2008). O desenvolvimento de leucopenia, no entanto, é um achado raro na espécie humana, ocorrendo em apenas 0,25% dos pacientes tratados com celecoxib (FDA, 2011). O celecoxib também causou leucopenia em cães tratados por 20 dias (MARINI-FILHO 2010). A diminuição na contagem global de leucócitos em nosso estudo não representou alteração significativa na contagem diferencial.

Os transtornos da coagulação sanguínea constituem um importante fator a ser considerado quando se deseja instituir a terapia com inibidores seletivos de COX-2 (MARINI-FILHO, 2010), isto porque a inibição da COX-2 combinada à manutenção da atividade de COX-1 pode causar desequilíbrio nas proporções PGI₂/TXA₂ promovendo aumento da coagulação sanguínea e favorecendo o surgimento de trombos (ARAUJO et al. 2005).

A tromboplastina está presente nos tecidos e plaquetas e é responsável pela transformação da protrombina em trombina na presença de cálcio. O TTPA mede a atividade da via intrínseca da coagulação (GUYTON e HALL, 1997). A protrombina é transformada em trombina e cataliza a transformação do fibrinogênio em fibrina. O TP avalia a atividade da via extrínseca da coagulação. Em conjunto, o aumento de TTPA e TP pode sugerir problemas hepáticos na formação de fatores de coagulação, bem como deficiência de fibrinogênio (MEYER et al., 1995). Estudos realizados com cães tratados com meloxicam (POZZOBON, 2010) e celecoxib (MARINI-FILHO, 2011) não demonstraram aumento nos TTPA e TP. No presente estudo, o aumento de TTPA e TP indica menor capacidade de coagulação sanguínea, isto vai contra o esperado frente ao tratamento com inibidores seletivos de COX-2 já que estas drogas teoricamente favoreceriam a coagulação (ARAUJO et al., 2005).

No estudo de Steagall et al. (2007) com cães tratados por 28 dias com firocoxib, não foram encontradas evidências do aumento da agregação plaquetária ou do aumento do tempo de sangramento da mucosa oral. Apesar destas variáveis não terem sido avaliadas em nosso estudo, a redução no número de plaquetas pode ter causado redução na concentração de tromboplastina e com isso gerado um aumento no TTPA. A trombocitopenia pode ser induzida pela utilização uma série de drogas como a heparina, alguns alcalóides, penicilina, sulfonamida, diuréticos, anticonvulsivantes e também de AINEs (CURTIS et al., 1994; VAN DER BEMT et al., 2004) e ocorre devido a ligação de anticorpos droga-dependentes a receptores presentes na superfície das plaquetas, levando à sua destruição. Este mecanismo, no entanto, ainda não está claramente descrito, é uma reação idiossincrática e afeta apenas uma pequena parcela dos pacientes sob terapia com drogas sensibilizantes (ASTER, 1999).

O fibrinogênio é uma glicoproteína hepática solúvel envolvida na fase final da coagulação (GUYTON e HALL, 1997). Ele é transformado em fibrina (insolúvel) sob ação da trombina participando da formação de uma rede que engloba eritrócitos, leucócitos e plaquetas e assim, estabilizando o coágulo. É também uma proteína de fase aguda e seu aumento pode estar associado ao início de processos inflamatórios (LOPES et al., 1999) ou ao estado nutricional de equinos (FRASER,

1991). Valores altos na contagem de monócitos podem estar associados ao aumento na concentração plasmática de fibrinogênio, isto ocorre porque os monócitos produzem interleucinas que estimulam a liberação do fibrinogênio (MEYER et al., 1995), porém, uma vez que em nosso estudo não foram observados aumentos no número de monócitos esta possibilidade pode ser descartada. A desidratação é capaz de causar aumento relativo na concentração plasmática de fibrinogênio (TYLER et al. 1987). Uma desidratação leve explicaria o aumento observado em D21, porém, na avaliação clínica nenhum dos animais apresentou sinais de desidratação em nosso estudo, este aumento do fibrinogênio parece não ter relevância clínica já que os valores se mantiveram dentro dos intervalos de referência para a espécie equina (TRENT, 1995) e, considerando-se que os animais estavam sem tratamento a 7 dias, é muito improvável que o aumento tenha alguma relação com a administração do firocoxib. Nos estudos realizados por Pozzobon (2010) e Marini-Filho (2011) o tratamento com firocoxib não causou alterações na concentração de fibrinogênio.

Alterações hepáticas podem ser observadas com a utilização de AINEs. Apesar deste mecanismo de toxicidade ainda não estar claramente descrito, aparentemente, o aumento da concentração de droga no compartimento hepatobiliar leva à formação de metabólitos tóxicos e lesão mitocondrial (BOELSTERLI, 2002). A AST e a ALT, são denominadas enzimas de vazamento ou de lesão, o aumento na atividade sérica dessas enzimas indica dano aos hepatócitos. Num estudo com cães tratados por 28 dias com firocoxib, Steagall et al. (2007) observaram aumento da ALT, no entanto, estes valores não ultrapassaram o intervalo de referência para a espécie. No presente estudo foi observado aumento da AST ao final do período de tratamento, porém é necessário cuidado ao se avaliar a AST isoladamente, já que esta não é uma enzima hepática específica, podendo estar aumentada também em decorrência de lesão muscular.

A ALP aumenta em resposta à colestase principalmente, no entanto, também não é uma enzima hepática específica e deve ser utilizada em conjunto com aminotranferases na avaliação hepática. A GGT é outra enzima cujo aumento pode indicar doença hepática obstrutiva sendo um marcador mais específico do que a ALP (TENNANT e CENTER, 2008). A ocorrência de colestase vem sendo relatada

em pacientes humanos tratados com celecoxib (GALAN et al, 2001; NACHIMUTHU et al., 2001). O aumento nos valores de ALP e GGT observado no presente estudo não indicam colestase, uma vez que, mesmo as variáveis que sofreram alterações significativas, se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie equina (MEYER et al., 1995; KANEKO et al., 2008) e os valores de GGT encontrados em quadros colestáticos nos equinos em geral são em geral 15 vezes superiores aos normais (DITTRICH, 2012).

A CK está presente nas células de diversos tecidos, mas somente lesões cardíacas ou na musculatura esquelética são capazes de causar aumento da atividade sérica desta enzima (VALBERG, 2008). A LDH ocorre, em grande quantidade, em todos os tecidos tendo pouco valor diagnóstico quando avaliada isoladamente. O aumento nas atividades plasmáticas de AST e CK é resultado do aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial, e parecem mais informativas para a avaliação da lesão muscular do que a LDH (TEIXEIRA-NETO et al., 2008). A avaliação da lesão muscular em decorrência da uso de AINEs é mais importante no caso de drogas cuja a via principal de administração é a intra muscular, neste caso, o aumento da CK pode ocorrer em resposta à necrose muscular na região da aplicação (STEINESS et al. 1978). No presente estudo a CK se manteve inalterada durante todo o período experimental, o que sugere que não houve qualquer injúria capaz de aumentar sua concentração sérica.

Os inibidores seletivos de COX-2 não parecem apresentar redução no risco de desenvolvimento de toxicidade renal em relação aos AINEs tradicionais (BRATER et al. 2001), isto porque ambas as isoformas da COX são encontradas no tecido renal saudável. A creatinina é um importante indicativo da taxa de filtração glomerular em mamíferos e pode estar aumentada em casos de falência renal. A elevação da concentração sérica de ureia pode indicar aumento no metabolismo de proteínas, mas também pode estar relacionado à presença de hemorragia intersticial. O aumento na densidade urinária pode estar relacionado à glicosúria. A proteinúria é comum em casos de doença renal especialmente em quadros de diabetes. A presença de corpos cetônicos pode ser sinal de acidose e cetonemia (BRAUN e LEFEBVRE, 2008). A redução nos valores plasmáticos de ureia e creatinina podem estar relacionados à ingestão de dieta com baixo valor proteico (BRAUN e

LEFEBVRE, 2008), à sobreidratação e à insuficiência hepática (GONZÁLES e SCHEFFER, 2003) . Em relação à sobreidratação, a manutenção da densidade urinária dos animais durante o período experimental é indicativo de que não houve diurese hipotônica. Uma possível diurese isotônica poderia ter causado a diminuição das concentrações plasmáticas de ureia e creatinina, sem que houvesse alteração na densidade urinária, porém no presente estudo não foram avaliadas variáveis urinárias capazes de justificar este achado. Ainda as alterações encontradas em nosso estudo parecem não têm significado clínico algum, uma vez que não atingem os limites mínimos para a espécie equina e não está acompanhada de alterações importantes nas enzimas hepáticas. Em cães apresentando osteoartrite, o tratamento com firocoxib por 90 dias não foi capaz de produzir alterações nas concentrações de ureia e creatinina ou na densidade urinária (LECOINDRE e PEPIN-RICHARD, 2010).

As proteínas sanguíneas têm a função de transportar gorduras, vitaminas, hormônios, hemoglobina livre, ferro e outros íons, além de serem de suma importância na manutenção da pressão coloidosmótica, permitindo a adequada troca de líquidos entre o meio extravascular e o sangue (FAGLIARI e SILVA, 2002). A PT representa a soma da albumina e das globulinas. A redução dos valores séricos de PT pode estar relacionada a perdas de globulinas em decorrência de hemorragias renais e gastrintestinais (TILEY e SMITH, 2003). A hipoalbuminemia pode ser observada em quadros de insuficiência hepática, glomerulonefropatias, enteropatia com perdas de proteínas e também em animais tratados com diclofenaco de sódio, em decorrência da diminuição da síntese hepática (SALLUSTIO e HOLBROOK, 2001). Durante o tratamento não houve alterações na concentração sérica de PT, o que reforça, em especial, a ausência de hepatotoxicidade. Este resultado é semelhante ao encontrado por Barbosa et al. (2010), num estudo com ratos Wistar, no qual, mesmo no tratamento com doses 5 vezes maiores do que a sugerida para a espécie, não foi observado aumento da PT.

A toxicidade gastrintestinal é um fator limitante importantíssimo na terapia com AINEs. Os AINEs tradicionais não seletivos causam impacto no TGI por bloquearem a COX-1 e, conseqüentemente, impedirem a formação de PGs gastroprotetoras responsáveis pela regulação da síntese do HCl, pela adequada perfusão da mucosa

gástrica e pela produção de muco e bicarbonato (NAVAB e STEINGRUB, 1995). Num estudo com mueres comparando o impacto de 3 AINEs não seletivos sobre o TGI, as alterações encontradas nos animais tratados incluíram hiperemia, erosões e ulcerações na mucosa gástrica (MOZAFFARI et al. 2010). O firocoxib, no entanto, não produziu lesões gástricas em cães tratados por 90 dias (LECOINDRE e PEPIN-RICHARD, 2010). Na avaliação gastroscópica nenhuma alteração digna de nota foi observada. Este achado reforça a ideia de que os inibidores seletivos da COX-2 acarretam menos danos ao TGI dos que os AINEs não seletivos. É necessário cautela quando o animal apresenta ulceração gástrica anterior ao tratamento com inibidores seletivos de COX-2 pois, aparentemente, a COX-2 participa de um mecanismo citoprotetor adaptativo que se estabelece na presença de úlceras estomacais e tem a função de acelerar o processo de cicatrização (POONAN et al. 2005).

7. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a administração oral diária de 0,1mg/kg de firocoxib por 14 dias em equinos saudáveis não foi capaz de promover o aparecimento de efeitos adversos nos que diz respeito às variáveis analisadas. Com base nos achados deste estudo conclui-se que a administração do firocoxib, pelo período recomendado, em equinos saudáveis é segura.

8. REFERÊNCIAS

ARAUJO, F.L.; SOEIRO, A.M.; FERNANDES, J.L.; SERRANO-JUNIOR, C.V. Eventos cardiovasculares: um efeito de classe dos inibidores de COX-2. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. v.85, n.3, p.222-229, 2005.

ASTER, H. Drug-induced immune thrombocytopenia: an overview of pathogenesis. **Seminars in Hematology**. v.36, suppl.1, p.2-6, 1999.

BARBOSA, C.M.; SAKATE, M.; CAMPRESI, A.C.; VAILATI, M.C.F.; MORAES, L.F.; TAKAHIRA, R.K. Avaliações hematológicas e bioquímicas do uso de diclofenaco de sódio, meloxicam e firocoxibe em ratos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.47, n.2, p.118-126, 2010.

BAHARI, H.M.; ROSS, I.N.; TURNBERG, L.A. Demonstration of a pH gradient across the mucus layer on the surface of human gastric mucosa in vitro. **Gut**. v.23, n.6, p.513–516, 1982.

BECHARA, G.H.; SZABÓ, M.P.J. **Processo Inflamatório. Alterações Vasculares e Mediação Química**. Disponível em: <http://fcav.unesp.br/#!/departamentos/patologia-veterinaria/docentes/gervasio-henrique-bechara/material-didatico/>. Acesso em 18 out. 2012.

BERTOLINI, A.; OTTANI A.; SANDRINI, M. Selective COX-2 inhibitors and dual acting anti-inflammatory drugs: critical remarks. **Current Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 10, p. 1033-1043, 2002.

BINGHAM, C.O. Development and clinical application of COX-2-selective inhibitors for the treatment of osteoarthritis and rheumatoid arthritis. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, v.69, suppl.1, p.5-12, 2002.

BOELSTERLI, U.A. Mechanisms of NSAID-Induced Hepatotoxicity: Focus on Nimesulide. **Drug Safety**. v.25, n.9, p.633-648, 2002.

BOTTING, R.M. Inhibitors of cyclooxygenases: mechanisms, selectivity and uses. **Journal of Physiology and Pharmacology**. v.57, n.5, p.113-124, 2006.

BRATER, D.C.; HARRIS, C.; REDFERN, J.S.; GERTZ, B.J. Renal effects of COX-2-Selective Inhibitors. **American Journal of Nephrology**. v.21, n.1, p.1-15, 2001.

BRAUN, J.P.; LEFEBVRE, H.P. Kidney Function and Damage. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of domestic Animals**. 6^o Ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 485-528.

BREDER, C.D.; DEWITT, D.; KRAIG, R.P. Characterization of inducible cyclooxygenase in rat brain. **The Journal of Comparative Neurology**. v.355, n., p.296–315, 1995.

BREDER, C.D.; SAPER, C.B. Expression of inducible cyclooxygenase mRNA in the mouse brain after systemic administration of bacterial lipopolysaccharide. **Brain Research**. v.713, n.1, p.64–69, 1996.

CLARK, T.P. The clinical pharmacology of cyclooxygenase-2-selective and dual inhibitors. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.36, n.5, p.1061-1085, 2006.

CURTIS, B.R.; MCFARLAND, J.G.; WU, G.G.; VISENTIN, G.P.; ASTER, R.H. Antibodies in sulfonamide-induced immune thrombocytopenia recognize calcium-dependent epitopes on the glycoprotein IIb/IIIa complex. **Blood**. v.84, n.1, p.176–183, 1994.

DEWITT, D.L., SMITH WL. 1988. Primary structure of prostaglandin G/H synthase from sheep vesicular gland determined from the complementary DNA sequence. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v.85, n.5, p.1412–1416, 1988.

DITTRIRICH, R.L. Exames laboratoriais de avaliação hepática nos equinos: perfil bioquímico sanguíneo. **Revista Brasileira de Medicina Equina**. v.40, supl.1, p.48-66, 2012.

DIVERS, T.J. COX Inhibitors: Making the Best Choice for the Laminitic Case. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.28, n.6, p. 367-369, 2008.

DOUCET, M.Y.; BERTONE, A.L.; HENDRICKSON, D.; HUGHES, F.; MACALLISTER, C.; MCCLURE, S.; REINIEMEYER, 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 the American Veterinary Medical Association**, v. 232, p. 91-97, 2008.

F.D.A. (Food and Drug Administration). **Celecoxib side effect: Leukopenia**. 2011. Disponível em: <<http://www.ehealthme.com/ds/celecoxib/leukopenia>>. Acesso em 18 out. 2012.

FAGLIARI, J. J. E SILVA, S.L. Hemograma e proteinograma plasmático de eqüinos hípidos e de eqüinos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.54, n.6 2002.

FARMAN, N.; PRADELLES, P.; BONVALET, J.P. PGE2, PGF2 α , 6-keto-PGF1 α , and TXB2 synthesis along the rabbit nephron. **The American Journal of Physiology**. v.252, n.1, p.53–59, 1987.

FITZGERALD, G.A. Coxibs and Cardiovascular Disease. **The New England Journal of Medicine**. v.351, n.17, p.1709-1711, 2004.

FITZGERALD, G.A.; PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **The New England Journal of Medicine**. v.345, n.6, p.433–442, 2001.

FRASER, C.M. **Manual Merk de veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário**. 6.ed. São Paulo: Rocca, 1991. 1803p.

FUNK, C.D. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. **Science**, v. 264, n. 5548, p. 1871-1875, 2001.

GALAN, M.V.; GORDON, S.C., SILVERMAN, A.L. Celecoxib-induced cholestatic hepatitis. **Annals of Intern Medicine**. v.134, n.3, p.254, 2001.

GENTRY, P.; BURGESS, H.; WOOD, D. Hemostasis. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of domestic Animals**. 6^o Ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 379-412

GIBB, W.; SUN, M. Localization of prostaglandin H synthase type 2 protein and mRNA in term human fetal membranes and decidua. **The Journal of Endocrinology**. v.150, n.3, p.497–503, 1996.

GODOY P., A.. Uso de antiinflamatorios no esteroidales en equinos. **Monografías de Medicina Veterinaria**, Norteamérica, v. 10, n.1, 2010.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S.; Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. **Anais do Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. p.73-89, 2003.

GUNSON, D.E.; SOMA, L.R. Renal papillary necrosis in horses after phenylbutazone and water deprivation. **Veterinary Pathology**. v.20, n.5. p.603-610, 1983.

GUYTON, A.; HALL, J.C. **Tratado de Fisiologia Médica**, 9ª Ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

HABENICHT, A.J.; GOERIG, M.; GRULICH, J.; ROTHE, D.; GRONWALD, R.; LOTH, U.; SCHETTLER, G.; KOMMERELL, B.; ROSS, R. Human platelet-derived growth factor stimulates prostaglandin synthesis by activation and by rapid de novo synthesis of cyclooxygenase. **Journal of Clinical Investigation**. v.75, n.4, p.1381–1387, 1985.

HAMBERG, M.; SVENSSON, J.; SAMUELSSON, B. Prostaglandin endoperoxides. A new concept concerning the mode of action of prostaglandins. **Proceedings of the National Academy of Science**. v.71. n.10, p.3824–3828, 1974.

HAWKEY, C.J. Cyclooxygenase inhibition: between the devil and the deep blue sea. **Gut**, v.50, suppl. 3, p.25-30, 2002.

HEMLER, M.; LANDS, W.E. Purification of the cyclooxygenase that forms prostaglandins: demonstration of two forms of iron in the holoenzyme. **The Journal of Biological Chemistry**. v.251, n.18, p.5575-5579, 1976.

HERSCHMAN, H.R. Prostaglandin synthase 2. **Biochimica et Biophysica Acta**. v.1299, n.1, p.125–140, 1996.

HLA, T.; NEILSON, K. Human cyclooxygenase-2 cDNA. **Proceedings of the National Academy of Science**. v.89, n.16, p.7384–7388, 1992.

JERICÓ, M.; ANDRADE, S.F. Antiinflamatórios. In: ANDRADE, S.F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2008. P.115-140.

JOHANSSON, C.; KOLLBERG, B. Stimulation by intragastrically administered E2 prostaglandins of human gastric mucus output. **European Journal of Clinical Investigation**. v.9, n.3, p.229–232, 1979.

JONES, C.J.; BUDSBERG, S.C. Physiologic characteristics and clinical importance of the cyclooxygenase isoforms in dogs and cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 217, n.5, p.721-729, 2000.

KANEKO, J.J. Carbohydrate Metabolism and its diseases. In: _____. **Clinical Biochemistry of domestic Animals**. 6º Ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 45-80.

KARGMAN, S.; CHARLESON, S.; CARTWRIGHT, M.; FRANK, J.; RIENDEAU, D.; MANCINI, J.; EVANS, J.; O'NIELL, G. Characterization of prostaglandin G/H synthase 1 and 2 in rats, dog, monkey and human gastrointestinal tracts. **Gastroenterology**. v.111, n.2, p.445-454 1996.

KÖMHOF, M.; GRONE, H.J.; KLEIN, T.; SEYBERTH, H.W.; NUSING, R.M. Localization of cyclooxygenase-1 and -2 in adult and fetal human kidney: implication for renal function. **The American Journal of Physiology**. v.272, n.4, p.460–468. 1997.

KROTZ, F.; SCHIELE, T.M.; KLAUSS, V.; SOHN, H.Y. Selective COX-2 inhibitors and risk of myocardial infarction. **Journal of Vascular Research**, v. 42, n.4, p.:312–324, 2005.

KVATERNICK, V.; POLLMEIER, M.; FISCHER, J.; HANSON, P.D. Pharmacokinetics and metabolism of orally administered firocoxib, a novel second generation coxib, in horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.30, n.3, p.208–217, 2007.

LECOINDRE, O.; PEPIN-RICHARD, C. Tolerance of firocoxib in dogs with osteoarthritis during 90 days. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v.34, n.2, p.190-192, 2010.

LEES, P.; LANDONI, M.F.; GIRAUDEL, J.; TOUTAIN, P.L. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of non steroidal anti-inflammatory drugs in veterinary species. **Journal Veterinary of Pharmacology and Therapeutics**, n.27, p. 479-490, 2004.

LOPES, M.A.F.; DEARO, A.C.O.; BIONDO, A.W.; GODIN, L.F.P.; IAMAGUTI, P.; THOMASSIAN, A.; KOHAYAGAWA, A. Exame do fluido peritoneal e hemograma de eqüinos submetidos à laparotomia e infusão intraperitoneal de carboximetilcelulose. **Ciência Rural**. v.29, n.1, p.79-85, 1999.

MACALLISTER, C. G.; ANDREWS, F. M.; DEEGAN, E.; RUOFF, W.; OLOVSON, S. G. A scoring system for gastric ulcers in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 29, n. 6, p. 430-433, 1997.

MACALLISTER, C.G.; MORGAN, S.J.; BORNE, A.T.; POLLET, R.A. Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine, and ketoprofen in horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, n.1, p.71–77, 1993.

MCADAM, B.F.; CATELLA-LAWSON, F.; MARDINI, I.A.; KAPOOR, S.; LAWSON, J.A.; FITZGERALD, G.A. Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: The human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.96, n.1, p.272-277, 1999.

MCCANN, M.E.; ANDERSEN, D.R.; ZHANG, D.; BRIDEAU, C.; BLACK, W.C.; HANSON, P.D.; HICKEY, G.J. In vitro effects and in vivo efficacy of a novel cyclooxygenase-2 inhibitor in dogs with experimentally induced synovitis. **American Journal of Veterinary Research**, v.5, n.4, p. 503-512, 2004.

MAJIMA, M.; ISONO, M.; IKEDA, Y.; HAYASHI, I.; HATANAKA, K.; HARADA, Y.; KATSUMATA, O.; YAMASHINA, S.; KATORI, M.; YAMAMOTO, S. Significant roles of inducible cyclooxygenase (COX-2) in angiogenesis in rat sponge implants. **Japanese Journal of Pharmacology**, v.75, p.105– 114, 1997.

MARCUS, A.; WEKSLER, B.; JAFFE, E.; SAFIER, L.; ULLMAN, H.; BROEKMAN, M.; DORSO, C.; BROWN, S. Arachidonic acid metabolism in platelets and endothelial cells. **Annals of the New York Academy of Science**. v.20, p.431–434, 1981.

MARINI-FILHO, R. **Alterações hematológicas, hemostáticas e bioquímicas de cães tratados com anti-inflamatórios não esteroidais**. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2011.

MASFERRER, J.L.; LEAHY, K.M.; KOKI, A.T.; ZWEIFEL, B.S.; SETTLE, S.L.; WOERNER, B.M.; EDWARDS, D.A.; FLICKINGER, A.G.; MOORE, R.J.; SEIBERT, K. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. **Cancer Research**, v. 60, p.1306– 1311, 2000.

MATHEWS, K.A. Non-steroidal anti-inflammatory analgesics: a review of current practice. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.12, n.2, p..89-97, 2002.

MERIAL. **Freedom of information summary**: NADA 141-250. Duluth, jul 2004.

Disponível em:

<<http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/ucm118041.pdf>> Acesso em 03 nov 2012.

MERIAL. **Freedom of information summary**: NADA 141-253. Duluth, dec 2005.

Disponível em:

<<http://www.fda.gov/downloads/animalveterinary/products/approvedanimaldrugproducts/foiadrugsummaries/ucm051453.pdf>>. Acesso em 03 nov 2012.

MESCHTER ,C.L.; GILBERT, M.; KROOK, L.;MAYLIN, G.; CORRADINO, R. The effects of phenylbutazone on the intestinal mucosa of the horse: A morphological, ultrastructural and biochemical study. **Equine Veterinay Journal**. v.22, n.4, p.255-263, 1990.

MERLIE, J.P.; FAGAN, D.; MUDD, J.; NEEDLEMAN, P. Isolation and characterization of the complementary DNA for sheep seminal vesicle prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase). **Journal of Biological Chemistry**. v.263, n.8, p.3550–3553, 1988.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. **Medicina de laboratório veterinário: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995. 308p.

MOZAFFARI, A.A.; DERAKHSHANFAR, A.; ALINEJAD, A.; MOROVATI, M. A comparative study on the adverse effects of flunixin, ketoprofen and phenylbutazone in miniature donkeys: Haematological, biochemical and pathological findings. **New Zealand Veterinary Journal**. v.58, n.5, p.224-228, 2010.

MURRELL, J. (2009) Firocoxib. **Companion Animal**, v. 14, n.3, p. 47-49, 2009.

NACHIMUTHU, S.; VOLFINZON, L.; GOPAL, L. Acute hepatocellular and cholestatic injury in a patient taking celecoxib. **Postgraduate Medical Journal**. v.77, p.548-550, 2001.

NAVAB, F.; STEINGRUB, J. Stress ulcer: is routine prophylaxis necessary? **The American Journal of Gastroenterology**. v.90, n.5, p.708–712, 1995.

NEEDLEMAN, P.; MONCADA, S.; BUNTING, S.; VANE, J.R.; HAMBERG, M.; SAMUELSSON, B. Identification of an enzyme in platelet microsomes which generates thromboxane A₂ from prostaglandin endoperoxides. **Nature**. v. 261, n.5561, p.558–560, 1976.

OSBORN, J.L.; KOPP, U.C.; THAMES, M.D.; DIBONA, G.F. Interactions among renal nerves, prostaglandins, and renal arterial pressure in the regulation of rennin release. **American Journal of Physiology**. v. 247, n.5, p.706–713, 1984.

OTTO, J.C.; SMITH, W.L. Prostaglandin endoperoxide synthases-1 and -2. **Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling**. v.12, n.2, p.139–156, 1995.

PARENTE, L.; PERRTTI, M. Advances in the pathophysiology of constitutive and inducible cyclooxygenases: two enzymes in the spotlights. **Biochemical Pharmacology**. v.65, n.2, p.153-159 2003.

PIRES, P.A. **Potencial Analgésico, Anti-edematogênico, Antipirético e Atividade Ulcerogênica de Fármacos Anti-inflamatórios em Roedores**. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

POONAM, D.; VINAY, C.S.; GAUTAM, P. Cyclo-oxygenase-2 expression and prostaglandin E₂ production in experimental chronic gastric ulcer healing. **European Journal of Pharmacology**, v.519, n.3, p.277-284, 2005.

POZZOBON, R. **Avaliação farmacocinética, hematológica e espermática de pôneis tratados com meloxicam**. 88f. Tese (Doutorado em medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

READ, W.K. Renal medullary crest necrosis associated with phenylbutazone therapy in horses **Veterinary Pathology**. v.20, n.6. 602-609, 1983.

SALLUSTIO, B. C.; HOLBROOK, F. L. In vivo perturbation of rat hepatocyte canalicular membrane function by diclofenac. **Drug Metabolism and Disposition**. v. 29, n. 12, p. 1535-1538, 2001.

SÁNCHEZ-FIDALGO, S.; MARTÍN-LACAVE, I.; ILLANES, M.; MOTILVA, V. Angiogenesis, cell proliferation and apoptosis in gastric ulcer healing. Effect of a selective cox-2 inhibitor. **European Journal of Pharmacology**, v.555, n.1, p. 187-194, 2004.

SIMMONS, D.L.; XIE, W.; CHIPMAN, J.G.; EVETT, G.E. Multiple cyclooxygenases: Cloning of an inducible form. In _____ **Prostaglandins, Leukotrienes, Lipoxins and PAF**. Nova York: Plenum Press, 1991. p.67-78

SMITH, W.L.; LANDS, W.E. Oxygenation of polyunsaturated fatty acids during prostaglandin biosynthesis by sheep vesicular gland. **Biochemistry**. v.11, n.17, p.3276–3285, 1972.

SNOW, D.H.; BOGAN, J.A.; DOUGLAS, T.A.; THOMPSON, H. Phenylbutazone toxicity in ponies. **The Veterinary Record**. v.105, n.2, p.26-30, 1979.

STEAGALL, P.V.M.; MANTOVANI, F.B.; FERREIRA, T H.; SALCEDO, E.S.; MOUTINHO, F.Q.; LUNA, S.P. L. Evaluation of the adverse effects of oral firocoxib in healthy dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.30, n.3, p.218–223, 2007.

STEAGALL, P.V.M.; MOUTINHO, F.Q.; MATOVANI, F.B.; PASSARELLI, D.; THOMASSIAN, A. Evaluation of the adverse effects of subcutaneous carprofen over six days in healthy cats. **Research in Veterinary Science**. v.86, p.115-120, 2009.

STEINESS, E.; RASMUSSEN, F.; SVEDSEN, O.; NIELSEN, P. A comparative study of serum creatine phosphokinase (CPK) activity in rabbits, pigs and humans after intramuscular injection of local damaging drugs. **Acta pharmacologica et toxicological**. v.42, n.5, p.357-364, 1978.

TASAKA, A.C. Antiinflamatórios não-esteroidais. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4º Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 256-272.

TENNANT, B.C.; CENTER, S.A. Hepatic Function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of domestic Animals**. 6º Ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 379-412.

TEIXEIRA-NETO, A.R.; FERRAZ, G.C.; MOSCARDINI, A.R.C.; BALSAMÃO, G.M.; SOUZA, J.C.F.; QUEIROZ-NETO, A. Alterations in muscular enzymes of horses competing long-distance endurance rides under tropical climate. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, n.3, p.143-149, 2008.

TILLEY, L. P.; SMITH, F. W. K. **Consulta veterinária em 5 minutos**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003. 1423 p.

TYLER, R.D.; COWELL, R.L.; CLINKENBEARD, K.D.; MCALLISTER, C.G. Hematologic values in horse and interpretation of hematologic data. **The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice**. v.3, n.3, p.461-484, 1987.

TRENT, A.M. The peritoneum and peritoneal cavity. In: KOBLUK, C.N.; AMES, T.R.; GEOR, R.J. **The horse diseases & clinical management**. Philadelphia: Saunders, 1995, p. 373-404.

VALBERG, S.J. Skeletal Muscle Function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of domestic Animals**. 6º Ed. San Diego: Academic Press, 2008. p.459-484.

VAN DEN BEMT, P.M.; MEYBOOM, R.H.; EGBERTS, A.C. Drug-induced immune thrombocytopenia. **Drug Safety**. v.27, n.15, p.1243–1252, 2004.

VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature: New Biology**. v.231, n.25, p.232-235, 1971.

VANE, J.R.; BOTTING, R.M. New insights into the model of action of anti-inflammatory drugs. **Inflammation Research**. v.44, n.1, p.1-10, 1995.

WHITTLE, B.J.; BOUGHTON-SMITH, N.K.; MONCADA, S.; VANE, J.R. Actions of prostacyclin (PGI₂) and its product 6-oxo-PGF₁α on the rat gastric mucosa in vivo and in vitro. **Prostaglandins**. v.15, n. 6, p.955–968, 1978

YADAV, M.R.; NIMEKAR, D.M.; ANANTHAKRISHNAN, A.; BRAHMKSHATRIYA, P.S.; SHIRUDE, S.T.; GIRIDHAR, R.; PARMAR, A.; BALARAMAN, R. Synthesis of new chemical entities from paracetamol and NSAIDs with improved pharmacodynamic profile. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.14, p.8701- 8706, 2006.

YAMAGATA, K.; ANDREASSON, K.I.; KAUFMAN, W.E.; BARNES, C.A.; WORLEY, P.F. Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. **Neuron**. v.11, n.2, p.371–386, 1993.

YOKOYAMA, C.; TAKAI, T.; TANABE, T. Primary structure of sheep prostaglandin endoperoxide synthase deduced from cDNA sequence. **FEBS Letters**. v.231, n.2, p.347–351, 1988.

ZATERKA, S. Lesões Induzidas por AINEs no sistema digestório. **Revista Brasileira de Medicina**. v.57, n.8, p.882-900, 2000.

ZIMMERMAN, K.C.; SARBIA, M.; SCHÖR, K.; WEBBER A.A. Constitutive cyclooxygenase-2 expression in healthy human and rabbit gastric mucosa. **Molecular Pharmacology**. v.54, n.3, p.536-540, 1998.