

RENATO BARROS ELEOTÉRIO

**EFEITO DO SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA NA
REPARAÇÃO DE DEFEITOS OSTEOCONDRAIS EXPERIMENTAIS NO
CÔNDILO FEMORAL DE CÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011**

RENATO BARROS ELEOTÉRIO

**EFEITO DO SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA NA
REPARAÇÃO DE DEFEITOS OSTEOCONDRAIS EXPERIMENTAIS NO
CÔNDILO FEMORAL DE CÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2011.

Profa. Eliane Gonçalves de Melo

Profa. Marlene Isabel Vargas Vilória
(Co-orientadora)

Profa. Brunna Patrícia Almeida da Fonseca

Profa. Kelly Cristine de Sousa Pontes

Profa. Andréa Pacheco Batista Borges
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

À orientadora Andréa Pacheco Batista Borges pela oportunidade de aprendizado desde o início da graduação, permitindo-me participar de vários projetos de pesquisa, o que tornou mais fácil a execução deste trabalho. Agradeço também pela sua amizade, preocupação e, principalmente, pela paciência.

À amiga e parceira de experimento Kelly Cristine de Sousa Pontes, por toda a disposição, broncas, conselhos, opiniões e, também, por tornar o trabalho mais divertido.

Às estagiárias Mariana Brettas, Natália Fernandes, Naira Martins e Priscila Soares pelo empenho e comprometimento com o experimento. Vocês foram fundamentais para realização do projeto.

Aos funcionários do Laboratório Clínico, Aécio, Lucinda e Luiz Márcio, pela ajuda na realização das análises.

Às funcionárias da esterilização, Maria José, Sônia e Divina, pela disposição no preparo dos materiais.

À Profa. Maria Cristina Ferrarini Nunes Soares Hage pela contribuição na avaliação radiográfica.

Aos Profs. Marlene Isabel Vargas Vitoria, Rogéria Serakides e Eliane Melo pelo treinamento na avaliação das lâminas histológicas.

Ao Prof. Joaquin Hernán Patarroyo Salcedo por ter permitido o uso do microscópio do Laboratório de Biologia e Controle de hematozórios para obtenção das fotomicrografias.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo que viabilizou minha permanência em Viçosa para cursar o mestrado.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Veterinária pela valorosa contribuição na minha formação profissional.

Aos colegas Emily Reis, Erotides da Silva, Kelly Pontes, Manuela Sena, Mastoby Martinez, Paloma Silva e Tatiana Carvalho, que me permitiram participar dos seus projetos de pesquisa e assim enriquecer meu aprendizado.

Aos amigos Clarissa, Daniel, Jú, Letícia, Renata, Renan e Roberta pelos momentos inesquecíveis da graduação na UFV.

Às amigas Betânia, Grazi, Kelly, Laila, Sâmara e Tatinha pelos momentos de descontração, almoços, jantares e mojitos!

À Mariel Fúrfuro pela amizade e parceria inesperadas que Viçosa me proporcionou.

À Lucilene, Marcelo e Angelina pelo “happy hour” das sexta-feiras.

À Laís e Plínio Machado pela companhia agradável durante as passagens pelo ES.

Ao João Paulo Machado pelo companheirismo, ajuda e presença em todas as horas.

Aos meus pais, irmãos, “Vó Lourdes”, Marquito e Liveta pelo apoio e pela recepção calorosa no meu retorno à SP.

BIOGRAFIA

RENATO BARROS ELEOTÉRIO, filho de Gilton Clemente Eleotério e Antonia Barros Cavalcante Eleotério, nasceu em 01 de maio de 1985, em São Roque-SP.

Viveu em Vargem Grande Paulista-SP até o ano 2004, quando iniciou sua graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Viçosa (UFV). Durante a graduação foi bolsista de Iniciação Científica e desenvolveu estágios na área de animais de pequeno porte.

Em julho de 2008 finalizou sua graduação e ingressou no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da UFV como estudante não-vinculado. Em novembro do mesmo ano foi aprovado no processo seletivo e então iniciou de fato o curso de Mestrado, com seus estudos concentrados na área de clínica e cirurgia de cães e gatos.

Realizou seu estudo experimental, financiado por uma empresa privada, no Departamento de Veterinária da UFV, submetendo-se a defesa de sua dissertação em fevereiro de 2011.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I. CARTILAGEM ARTICULAR: ASPECTOS FISIOLÓGICOS, DEGENERAÇÃO E INFLUÊNCIA DE NUTRACÊUTICOS	4
RESUMO	5
ABSTRACT	5
RESUMÉN	5
INTRODUÇÃO	5
Constituição da cartilagem articular	6
Manutenção da cartilagem articular	7
Degeneração da cartilagem articular	8
Reparação da cartilagem articular	9
Nutracêuticos no tratamento das lesões articulares	9

CONSIDERAÇÕES FINAIS	11
REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO II. SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA NA REPARAÇÃO DE DEFEITOS OSTEOCONDRAIS EM CÃES – ANÁLISES CLÍNICA E RADIOGRÁFICA	16
RESUMO	17
ABSTRACT	18
INTRODUÇÃO	19
MATERIAL E MÉTODOS	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS	50
CAPÍTULO III. SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA NA REPARAÇÃO DE DEFEITOS OSTEOCONDRAIS EM CÃES – ANÁLISES MACROSCÓPICA, HISTOLÓGICA E MORFOMÉTRICA	55
RESUMO	56
ABSTRACT	57
INTRODUÇÃO	57
MATERIAL E MÉTODOS	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS	77

CAPÍTULO IV. EXAMES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS SÉRICOS DE CÃES TRATADOS COM SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA	81
RESUMO	82
ABSTRACT	83
INTRODUÇÃO	84
MATERIAL E MÉTODOS	85
RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
CONCLUSÕES	109
REFERÊNCIAS	105
CONCLUSÕES GERAIS	106
REFERÊNCIAS	109
ANEXO I	110
ANEXO II	111
ANEXO III	113
ANEXO IV	119
ANEXO V	124

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I. CARTILAGEM ARTICULAR: ASPECTOS FISIOLÓGICOS, DEGENERAÇÃO E INFLUÊNCIA DE NUTRACÊUTICOS

Figura 1. Agregado supramolecular de proteoglicano. 2

CAPÍTULO II. SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA NA REPARAÇÃO DE DEFEITOS OSTEOCONDRAIS EXPERIMENTAIS EM CÃES – ANÁLISES CLÍNICA E RADIOGRÁFICA

Figura 1. Fotografia de cômulo femoral lateral direito de cão após a criação de lesão osteocondral. Notar lesão circular sem cartilagem e contendo sangue proveniente do osso subcondral. 23

Figura 2. Projeções radiográficas médio-laterais do joelho de cães submetidos à cirurgia de indução de defeito osteocondral na região do cômulo lateral femoral, para realização de estudo sobre influência de nutracêutico condroprotetor na reparação da cartilagem articular 49

CAPÍTULO III. SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA NA REPARAÇÃO DE DEFEITOS OSTEOCONDRAIS EM CÃES – ANÁLISES MACROSCÓPICA, HISTOLÓGICA E MORFOMÉTRICA

Figura 1. Fotografia de cômulo femoral lateral direito de cão após a criação de lesão osteocondral. Notar lesão circular sem cartilagem e contendo sangue proveniente do osso subcondral. 61

Figura 2. Procedimento de biópsia em cômulo femoral lateral de cão contendo o defeito osteocondral. 62

Figura 3. Fotografia de cápsula articular fibrosada de cão (seta), 15 dias após o procedimento cirúrgico de indução da lesão osteocondral.. 64

Figura 4. Fotografias de aspectos macroscópicos do defeito osteocondral de cães. 65

Figura 5. Fotomicrografias do tecido de reparação do defeito osteocondral de cão término do TI. 66

Figura 6. Fotomicrografias do tecido de reparação de um dos animais do GII ao término do TI. 66

Figura 7. Fotomicrografias do defeito osteocondral de cão ao término do TII. 68

Figura 8. Fotomicrografia evidenciando presença de fenda (seta) no tecido de reparação do defeito osteocondral de cães, que ocorreu de forma 68

semelhante em três animais do GII e em um do GI ao término do TII.

H&E. 40X.

Figura 9. Fotomicrografias do tecido de reparação de cão ao término do TIII. **70**

Figura 10. Fotomicrografias do tecido de reparação de cão ao término do TIII. **70**

Figura 11. Fotomicrografias do tecido de reparação de cão ao término do TIV. **72**

Figura 12. Fotomicrografias do tecido de reparação de cães ao término do TIV. **73**

CAPÍTULO IV. EXAMES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS SÉRICOS DE CÃES TRATADOS COM SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA

Figura 1. Fotografia de côndilo femoral lateral direito de cão após a criação de lesão osteocondral. Notar lesão circular sem cartilagem e contendo sangue proveniente do osso subcondral. **87**

LISTA DE TABELAS

Página

	Página
CAPÍTULO II. SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA NA REPARAÇÃO DE DEFEITOS OSTEOCONDRAIS EXPERIMENTAIS EM CÃES – ANÁLISES CLÍNICA E RADIOGRÁFICA	
Tabela 1. Detalhamento dos grupos experimentais.	22
Tabela 2. Valores dos escores de funcionalidade do membro, obtidos dos grupos tratado e controle de TI, TII, TIII e TIV, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15ª dias de pós-operatório.	29
Tabela 3. Valores dos escores de sensibilidade dolorosa, obtidos dos grupos tratado e controle de TI, TII, TIII e TIV, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15ª dias de pós-operatório.	30
Tabela 4. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, obtidos dos grupos do TI, em função do período de pós-operatório.	31
Tabela 5. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, obtidos dos grupos do TI, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório.	32
Tabela 6. Resultados dos testes de comparações múltiplas indicando diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores médios da circunferência dos membros operados do TI entre o início do tratamento e o 15º dia de pós-operatório.	32
Tabela 7. Valores médios da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tibio-patelar, obtidos dos grupos do TI, no pré-operatório e na última avaliação clínica.	33
Tabela 8. Valores médios da variação do volume da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tibio-patelar, obtidos dos grupos do TI, no pré-operatório e na última avaliação clínica.	33
Tabela 9. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, obtidos dos grupos do TII, em função dos 15 primeiros dias do período de pós-operatório.	35
Tabela 10. Valores médios da circunferência dos membros operados (cm), na altura da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, obtidos dos grupos do TII,	36

em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório.

Tabela 11. Valores médios da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tibio-patelar, obtidos dos grupos do TII, no pré-operatório e na última avaliação clínica. **37**

Tabela 12. Valores médios da variação do volume da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tibio-patelar, obtidos dos grupos do TII, no pré-operatório e na última avaliação clínica. **37**

Tabela 13. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, obtidos dos grupos do TIII, em função do período de pós-operatório. **39**

Tabela 14. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, obtidos dos grupos do TIII, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório. **40**

Tabela 15. Resultados dos testes de comparações múltiplas indicando diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores médios da circunferência dos membros operados do TIII entre o 15º dia de pós-operatório e os momentos de início do tratamento e 5º dia de pós-operatório. **40**

Tabela 16. Valores médios da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tibio-patelar, obtidos dos grupos do TIII, anteriormente ao procedimento cirúrgico e na última avaliação clínica. **41**

Tabela 17. Valores médios da variação do volume da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tibio-patelar, obtidos dos grupos do TIII no pré-operatório e na última avaliação clínica. **41**

Tabela 18. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, obtidos dos grupos do TIV, em função do período de pós-operatório. **43**

Tabela 19. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, obtidos dos grupos do TIV, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório. **44**

operatório.

Tabela 20. Resultados dos testes de comparações múltiplas indicando diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores médios da circunferência dos membros operados do TIV entre o 15º dia de pós-operatório e os momentos de início do tratamento, 5º e 10º dia e pós-operatório e entre os momentos de início do tratamento e 10º dia e pós-operatório. 44

Tabela 21. Valores médios da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tibio-patelar, obtidos dos grupos do TIV, no pré-operatório e na última avaliação clínica. 45

Tabela 22. Valores médios da variação do volume da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tibio-patelar, obtidos dos grupos do TIV, no pré-operatório e na última avaliação clínica. 45

CAPÍTULO III. SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA NA REPARAÇÃO DE DEFEITOS OSTEOCONDRAIS EM CÃES – ANÁLISES MACROSCÓPICA, HISTOLÓGICA E MORFOMÉTRICA

Tabela 1. Detalhamento dos grupos experimentais. 60

CAPÍTULO IV. EXAMES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS SÉRICOS DE CÃES TRATADOS COM SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA

Tabela 1. Detalhamento dos grupos experimentais. 86

Tabela 2. Valores médios dos exames bioquímicos séricos de segurança (glicose, ALT, ATG, FA, GGT, TTPA, TPA, fibrinogênio (FIBR), creatinina (CREAT) e uréia) dos animais do GI e GII do TI, nos momentos de pré-operatório (MI e de término do período de avaliação (MII). 91

Tabela 3. Resultados dos testes de comparações múltiplas entre os momentos considerados, separadamente para cada grupo do TI, indicando diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores médios de AST apenas para o grupo controle (GII). 92

Tabela 4. Resultados dos testes de comparações múltiplas entre os grupos, separadamente para cada momento avaliado do TI, indicando diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos para os valores de AST apenas em MI (pré-operatório). 92

Tabela 5. Valores médios dos exames hematológicos de segurança (neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados, eosinófilos, monócitos, 93

plaquetas, hemácias, hematócrito, hemoglobina e proteínas dos animais do GI e GII do TI, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII).

Tabela 6. Valores médios dos exames bioquímicos séricos de segurança (glicose, ALT, ATS, FA, GGT, TTPA, TPA, fibrinogênio, creatinina e uréia) dos animais do GI e GII do TII, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII).

95

Tabela 7. Valores médios dos exames hematológicos de segurança (neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados, eosinófilos, monócitos, plaquetas, hemácias, hematócrito, hemoglobina e proteínas dos animais do GI e GII do TII, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII).

96

Tabela 8. Valores médios dos exames bioquímicos séricos de segurança (glicose, ALT, ATS, FA, GGT, TTPA, TPA, fibrinogênio, creatinina e uréia) dos animais do GI e GII do TIII, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII).

98

Tabela 9. Valores médios dos exames hematológicos de segurança (neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados, eosinófilos, monócitos, plaquetas, hemácias, hematócrito, hemoglobina e proteínas dos animais do GI e GII do TIII, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII).

99

Tabela 10. Valores médios dos exames bioquímicos séricos de segurança (glicose, ALT, ATS, FA, GGT, TTPA, TPA, fibrinogênio, creatinina e uréia) dos animais do GI e GII do TIV, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII).

101

Tabela 11. Resultados dos testes de comparações múltiplas entre os momentos considerados, separadamente para cada grupo do TIV, indicando diferença ($p < 0,05$) entre os valores médios de uréia apenas para o grupo tratado (GI)..

102

Tabela 12. Resultados dos testes de comparações múltiplas entre os grupos, separadamente para cada momento avaliado do TIV, não indicando diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de uréia entre os grupos.

102

Tabela 13. Valores médios dos exames hematológicos de segurança (neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados, eosinófilos, monócitos, plaquetas, hemácias, hematócrito, hemoglobina e proteínas dos animais do

103

GI e GII do TIV, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII).

LISTA DE ABREVIATURAS

AINE	Antiinflamatórios não esteroidais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
BAST	Neutrófilos bastonetes
cél/mm³	Células por milímetro cúbico
CREAT	Creatinina
DAD	Doença articular degenerativa
EDTA	Ácido etileno diamino tetracético
EOS	Eosinófilos
FA	Fosfatase alcalina
FIBR	Fibrinogênio
GI	Grupo tratado
GII	Grupo controle
GGT	Gama glutamiltransferase
H&E	Hematoxilina e eosina
HEMA	Hemácias
HT	Hematócrito
HEMO	Hemoglobina
kg	kilogramas
LINF	Linfócitos
mg	Miligramas
mg/dL	Miligramas por decilitro
MI	Pré-operatório
MII	Término do período de avaliação
MONO	Monócitos
PLAQ	Plaquetas
PROT	Proteínas plasmáticas totais
SEGM	Neutrófilos segmentados
SIF	Serviço de Inspeção Federal
TI	Tratamento I
TII	Tratamento II
TIII	Tratamento III
TIV	Tratamento IV
TPA	Tempo de protombina
TTPA	Tempo de tromboplastina parcial ativada
U/L	Unidades por litro

RESUMO

ELEOTÉRIO, Renato Barros, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2011. **Efeito do sulfato de condroitina e glucosamina na reparação de defeitos osteocondrais experimentais no côndilo femoral de cão.** Orientadora: Andréa Pacheco Batista Borges. Co-orientadoras: Maria Cristina Ferrarini Nunes Soares Hage e Marlene Isabel Vargas Vilorio.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de um suplemento condroprotetor (nutracêutico) veterinário comercial, à base de sulfato de condroitina e glucosamina, na reparação de falhas osteocondrais induzidas no côndilo femoral lateral de cães, por meio de análises clínica, radiográfica, macroscópica, histológica e morfométrica. Objetivou-se ainda testar a segurança do produto, por meio dos exames de glicemia, hemograma, funções hepática e renal, tempo de tromboplastina parcial ativada e tempo de protombina. Foram utilizados 48 cães adultos, entre 10 e 25 kg de peso corporal e sem raça definida, distribuídos aleatoriamente entre quatro tratamentos (I, II, III e IV), de acordo com o período de pós-operatório (15, 30, 60 e 90 dias) e contendo cada um deles 12 animais. Dentro de cada tratamento, seis animais (GI) receberam diariamente o condroprotetor, enquanto os outros seis constituíram o grupo controle (GII). Não houve diferença significativa entre os grupos de cada tratamento e, portanto, nas condições em que o presente estudo foi realizado, o condroprotetor não ocasionou efeitos adversos e o grupo tratado não diferiu do controle quanto ao processo de reparação dos defeitos.

ABSTRACT

ELEOTÉRIO, Renato Barros, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2011. **Effect of chondroitin sulfate and glucosamine to repair experimental osteochondral defects in the femoral condyle of dog.** Adviser: Andréa Pacheco Batista Borges. Co-advisers: Maria Cristina Ferrarini Nunes Soares Hage and Marlene Isabel Vargas Vilorio.

The aim of this research was to evaluate the influence of chondroprotective veterinary supplement (nutraceutical) composed of glucosamine and chondroitin sulfate in the repair of osteochondral defects induced in femoral lateral condyle of dogs, by clinical, radiographic, macroscopic, histologic and morfometric analysis. We also aimed to test the safety of the supplement with tests of blood glucose, blood count, liver and kidney function, activated partial tromboplastine and time prothrombin time. Forty-eight adult dogs with body weight ranging from 10 kg to 25 kg were used. They were divided into four treatments (I, II, III and IV), according to the postoperative period of evaluation (15, 30, 60 and 90 days) and each containing six animals. Within each treatment, six animals (GI) received the supplement daily, while the other six formed the control group (GII). No significant differences were observed between groups for each treatment. Therefore, the conditions in which this study was conducted, the chondroprotective did not cause adverse effects and the treated group did not differ from the control on the repair process of such defects.

INTRODUÇÃO GERAL

Os condroprotetores são substâncias compostas por agentes semelhantes aos componentes da matriz cartilaginosa e têm sido muito empregados no tratamento da doença articular degenerativa (DAD) na medicina veterinária. Eles possuem ação antiinflamatória e são capazes de reduzir a perda de proteoglicanos e colágeno, pela inibição de enzimas degradativas da cartilagem, além de terem uma ação estimulatória sobre a síntese destes compostos, promovendo aumento na proliferação de condrócitos e síntese da matriz (CLARK, 1991). Tais efeitos sugerem que os condroprotetores podem ser importantes no controle das alterações patológicas da cartilagem, podendo complementar o tratamento da DAD (CLARK, 1991; BIASI et al., 2005; MELO et al., 2008). Dentre as substâncias com propriedades condroprotetoras, destacam-se a glucosamina e o sulfato de condroitina (VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997).

A administração de condroprotetores pela via oral, na forma de nutracêutico, é amplamente utilizada na medicina humana e, aliada à minimização dos fatores de risco, como redução de peso e exercícios controlados, constitui uma importante opção terapêutica e preventiva no tratamento da DAD nos pacientes humanos. Tais produtos destinados ao homem, que têm como substâncias ativas principais os sulfatos de condroitina e de glucosamina, possuem controle e certificação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, e, portanto, passam pelos testes de eficácia e segurança que são exigidos pelo Ministério da Saúde para qualquer medicamento humano.

Uma vez utilizados no controle da DAD em humanos, os nutracêuticos foram disponibilizados para uso veterinário, principalmente para cães idosos e para aqueles de raças sabidamente predispostas à DAD (Labrador, Rotweiller, Golden retriever, Pastores, Daschund, etc.). No entanto, os produtos disponíveis para uso veterinário possuem em seu rótulo somente o registro do Serviço de Inspeção Federal – SIF, o qual

inspeciona o modo de fabricação do produto, mas não exige testes de eficácia e segurança.

A carência destes testes, que são exigidos pelo Ministério da Agricultura para comprovação da eficácia e segurança de medicamentos veterinários, gera dúvidas quanto à eficiência das diferentes concentrações das substâncias ativas encontradas nas diferentes marcas, e resguarda a administração destes produtos aos animais na forma de suplemento nutricional e de comercialização independente de prescrição veterinária. Assim, o manejo terapêutico da DAD em animais utilizando nutracêuticos permanece controverso, já que não foi comprovada a interrupção ou o retardo do processo degenerativo da cartilagem de forma satisfatória. Adicionalmente, existem poucas informações sobre o efeito destas substâncias na reparação da cartilagem, acarretando em baixa credibilidade por parte dos veterinários. A utilização destes produtos torna-se ainda mais controversa diante de estudos recentes, como os de SAWITZKE et al. (2010) e MILLER & CLEGG (2011), os quais questionam a metodologia das pesquisas que atestam benefícios associados à administração de condroprotetores nutracêuticos.

Desta forma, objetivou-se com este estudo experimental avaliar, por meio de análises clínica, radiográfica, macroscópica, histológica e histomorfométrica, a eficácia de um suplemento condroprotetor (nutracêutico) veterinário comercial, a base de sulfato de condroitina e glucosamina na reparação de falhas osteocondrais provocadas experimentalmente no côndilo femoral lateral de cães. Além de testar a eficácia, objetivou-se, ainda, testar a segurança do produto, por meio de exames importantes para averiguar se o produto interfere negativamente no organismo dos animais. Tais exames compreenderam a glicemia, o hemograma, as funções hepática e renal, os tempos de tromboplastina parcial ativada e de protombina. Os objetivos propostos convergem para a tentativa de obtenção de novos dados que tornem possível, futuramente, a classificação destes produtos como medicamentos que, de fato, contenham o processo

degenerativo articular, proporcionando maior confiança aos médicos veterinários, maior satisfação aos proprietários e melhor qualidade de vida aos animais.

Capítulo I

Cartilagem articular: aspectos fisiológicos,
degeneração e influência de nutracêuticos

Revista para submissão: Revista Clínica Veterinária

ISSN: 1453-571X

Cartilagem articular: aspectos fisiológicos, degeneração e influência de nutracêuticos
Articular cartilage: physiological aspects, degeneration and influence of nutraceuticals
El cartílago articular: aspectos fisiológicos, la degeneración y la influencia de nutracéuticos

Renato Barros Eleotério

Mestrando. DVT-UFV. e-mail: renato_ufv@hotmail.com

Andréa Pacheco Batista Borges

Profa. Dra. DVT-UFV. e-mail: andrea@ufv.br

Kelly Cristine de Sousa Pontes

Profa. Dra. FACISA/UNIVIÇOSA. e-mail: kellycpontes@yahoo.com.br

João Paulo Machado

Doutorando. DVT-UFV. e-mail: jpmvet@gmail.com

RESUMO

O manejo terapêutico da doença articular degenerativa (DAD) em cães é dominado pelo uso de antiinflamatórios não esteroidais (AINES), que podem induzir graves efeitos adversos e não devem ser administrados por períodos prolongados. Várias substâncias mostraram-se eficazes na prevenção do surgimento de lesões ou no retardo da progressão da DAD, principalmente glucosamina e sulfato de condroitina. Estudos mostram que tais agentes administrados pela via oral podem passar pelo trato digestório e alcançar a cartilagem. No entanto, a terapia da DAD com nutracêuticos permanece controversa e considera-se que existem poucas informações com relação ao seu efeito sobre a reparação da cartilagem. Esta revisão objetivou expor os dados disponíveis na literatura sobre a influência dos nutracêuticos, compostos por sulfato de condroitina e glucosamina, na reparação da cartilagem articular, tornando menos obscura a terapia da DAD utilizando tais substâncias.

Palavras chave: Cão, osteoartrite, osteoartrose, doença articular degenerativa, glucosamina, sulfato de condroitina.

ABSTRACT

The therapeutic management of degenerative joint disease (DJD) in dogs is dominated by the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID), which may induce serious adverse effects and should not be administered in extended period of time. Several agents have been effective in preventing the development of lesions or delay the progression of DJD, among which glucosamine and chondroitin sulfate can be highlighted. Studies have shown that these agents can pass through the digestive tract when administered orally and reach the cartilage. However, the DJD therapy with nutraceuticals remains controversial and there is little information regarding their effect on cartilage repair. This review aimed at exposing the data available in the literature on the influence of nutraceuticals constituted of chondroitin sulfate and glucosamine on articular cartilage repair, making DJD therapy with such substances less obscure.

Key words: Dog, osteoarthritis, osteoarthrosis, degenerative joint disease, glucosamine, chondroitin sulfate.

RESUMEN

El manejo terapéutico de la enfermedad articular degenerativa (EAD) en perros es dominado por uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINES), que puede inducir efectos adversos graves y no se debe administrar en período prolongado. Varias sustancias fueron eficaces en la prevención de aparición de lesiones o la progresión retardada de EAD, y entre ellas se destacan glucosamina y sulfato de condroitina. Estudios demuestran que estos fármacos cuando se administra por vía oral puede pasar a través del tracto digestivo y llegar al cartílago. Sin embargo, el tratamiento de la EAD con nutracéuticos sigue polémico y existe poca información sobre el efecto de estas sustancias en reparación del cartílago. Esta revisión tuvo por objeto exponer los datos disponibles en literatura sobre la influencia de compuestos nutracéuticos con sulfato de condroitina y glucosamina en la reparación del cartílago articular, convirtiéndose la terapia de EAD con dichas sustancias menos oscura.

Palabras clave: Perro, osteoartritis, osteoartrosis, enfermedad degenerativa de las articulaciones, glucosamina, sulfato de condroitina.

INTRODUÇÃO

A doença articular degenerativa (DAD) é essencialmente secundária a lesões musculoesqueléticas congênitas ou adquiridas¹ e caracterizada por degradação e perda de cartilagem, alterações ósseas hipertróficas (como formação de osteófitos), remodelação do

osso subcondral e, no estado clínico da doença, inflamação crônica da membrana sinovial².

Dentre as lesões congênitas que podem afetar cães jovens e levar à DAD estão a displasia³, a osteocondrite disssecante⁴, a não união do processo ancôneo⁵ e a luxação patelar⁶.

Adicionalmente, muitas desordens musculoesqueléticas adquiridas podem culminar em degeneração progressiva da cartilagem⁷, tais como: lesão condral isolada, determinada por trauma direto, que pode se estender e desencadear lesão degenerativa; injúrias ligamentares culminando em instabilidade articular¹; presença de fragmentos intrarticulares⁸ e luxações articulares e/ou sua redução também podem desencadear lesões de ligamentos, de cápsula articular e de cartilagem⁹.

O manejo terapêutico da DAD em cães deve ser baseado em um protocolo que envolve a redução de peso, a realização de exercícios físicos moderados e de fisioterapia, além da administração de substâncias antiinflamatórias, principalmente as não esteroidais (AINES)¹⁰.

Embora os AINES sejam indispensáveis no protocolo terapêutico, sua administração não deve ser feita de maneira prolongada, restringindo-se somente ao período em que o paciente manifestar crises de dor. Tais drogas podem induzir a efeitos como ulceração do trato gastrointestinal, ceratoconjuntivite seca, distúrbios do sistema hematopoiético e distúrbios renais e hepáticos^{10,11,12}. Como a maioria desses efeitos estão relacionados com a inibição da enzima ciclooxigenase-1 e os efeitos terapêuticos associados à inibição da ciclooxigenase-2, foram desenvolvidos fármacos ciclooxigenase-2 seletivos (firocoxib) e duplos inibidores (inibem tanto a ciclooxigenase quanto a lipoxigenase, como exemplo, a tepoxalina)¹³. Estes fármacos proporcionam o controle da dor de forma rápida e possuem menor probabilidade de desencadear efeitos colaterais graves^{14,15,16}. Entretanto, assim como os demais AINES, os antiinflamatórios seletivos ou duplo inibidores são inefetivos na causa subjacente¹⁷, podem induzir efeitos colaterais, ainda que em menor gravidade e, portanto, devem ser administrados com cautela para o controle das crises de dor.

Na tentativa de prevenir o surgimento de lesões, de retardar a progressão da DAD e de reduzir o uso de AINES, várias substâncias foram estudadas e classificadas como condroprotetoras e, dentre elas, destacam-se a glucosamina e o sulfato de condroitina.

Diversos estudos destacaram o potencial dos condroprotetores em minimizar as lesões que ocorrem durante a DAD. No entanto, sua utilização é controversa, pois, mesmo diante de resultados significativos, ainda não foi provado que tais substâncias possam impedir ou retardar o processo degenerativo de forma satisfatória. Considera-se, ainda, que existem poucas informações sobre o efeito destas substâncias na reparação da cartilagem, o que resulta em baixa credibilidade por parte dos médicos veterinários.

Visando proporcionar maior compreensão aos médicos veterinários sobre o mecanismo de condroproteção exercido pelo sulfato de condroitina e pela glucosamina, serão disponibilizadas nesta revisão informações sobre os processos fisiológicos e patológicos que ocorrem na cartilagem articular. Serão esclarecidas, ainda, as características destas substâncias se tornaram foco de estudo de diversos pesquisadores e que constituem em ferramenta promissora na terapia da DAD em cães.

Constituição da cartilagem articular

A cartilagem articular é um tecido conectivo do tipo hialino, avascular, aneural e alinfático, projetado para absorver choque e diminuir a fricção durante o movimento articular¹⁸. Microscopicamente ela é formada por células denominadas condrócitos, as quais estão alojadas em lacunas e circundadas por matriz extracelular, produzida por essas mesmas células¹⁹.

A matriz extracelular é constituída por densa malha de fibras colágenas que forma uma estrutura semelhante a uma cápsula em torno das células, promovendo a elas proteção mecânica. O principal constituinte da matriz extracelular é a água, a qual representa até 80% da matriz, sendo que os sólidos representam 20 a 34%, dos quais 5 a 6% são componentes inorgânicos (principalmente hidroxapatita) e o restante é formado por componentes orgânicos (macromoléculas de proteoglicanos e colágeno)²⁰.

A água proporciona resistência tecidual, nutrição celular e lubrificação articular. Além disso, ao se difundir pelo tecido cartilaginoso, a água movimentada o líquido sinovial através do tecido, contribuindo para a nutrição dos condrócitos².

O colágeno tipo II é específico para cartilagem e representa 90 a 98% do tecido colágeno total. As fibras colágenas proporcionam tensão e resistência rígidas, o que confere a elas propriedade mecânica².

Os proteoglicanos (Fig. 1) são agregados supramoleculares complexos constituídos por um filamento central de ácido hialurônico (ou hialuronato) (Fig. 1A) associado a múltiplos

monômeros por proteínas de ligação (Fig. 1B). Os monômeros são formados a partir de uma proteína central (“backbone”) (Fig. 1C), da qual irradiam numerosas cadeias de glicosaminoglicanos ou agreganos. Os glicosaminoglicanos são formados por uma longa cadeia de repetição polidimérica de sacarídeos: sulfatos de condroitina (Fig. 1D) e de keratina (Fig. 1E), sendo que o sulfato de condroitina é o mais abundante, compondo até 90% dos glicosaminoglicanos².

As cadeias hidrofílicas dos glicosaminoglicanos e seu formato ramificado os tornam uma molécula expandida quando em solução aquosa permeável. Tal característica permite a absorção de grande quantidade de água e cria o efeito de amortecimento semelhante ao de uma esponja, de forma que quando sob pressão ocorre perda da turgidez e saída de líquido²¹.

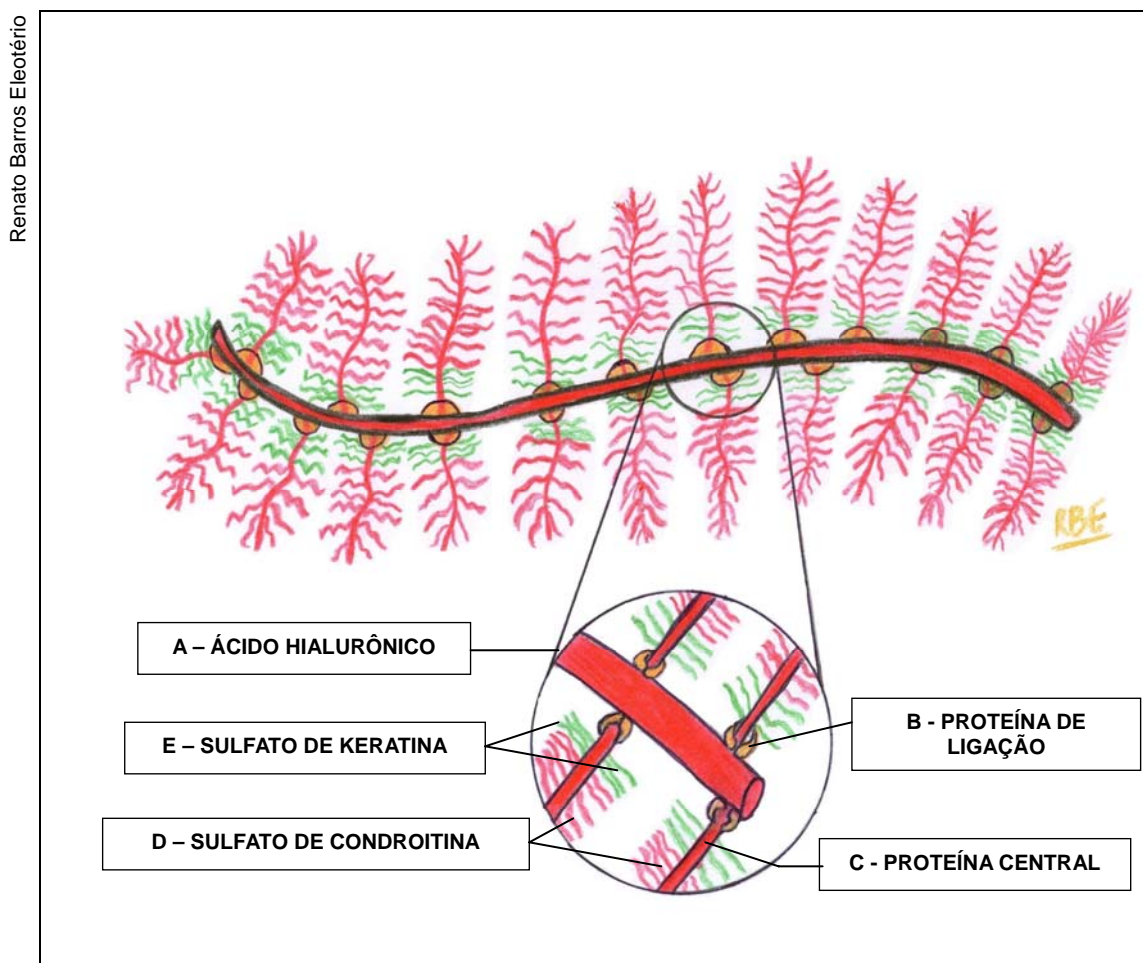


Figura 1. Agregado supramolecular de proteoglicano. A - Filamento central de ácido hialurônico; B - proteína de ligação; C - proteína central; D - sulfato de condroitina; E – Sulfato de keratina.

A organização dos condrócitos, a orientação das fibrilas de colágeno e a distribuição de proteoglicanos formam uma estrutura que resiste às forças de compressão e de tração e as transmite ao osso subcondral^{18,22}. Este absorve o impacto de cargas de forma mais eficaz que a cartilagem, demonstrando que a integridade da cartilagem depende de suas propriedades mecânicas²³.

Manutenção da cartilagem articular

A produção de matriz cartilaginosa pelos condrócitos em condições normais é garantida, principalmente, por sua nutrição através do fluído sinovial²⁴, o qual possui, ainda, a função de lubrificar as superfícies deslizantes da articulação²⁵ e é produzido pela membrana sinovial²⁴.

A manutenção da estrutura do agregano está relacionada com a integridade do ácido hialurônico, uma vez que os glicosaminoglicanos se ligam as suas cadeias para dar origem aos agregados. O ácido hialurônico é sintetizado pelos condrócitos da cartilagem articular e pelos

fibroblastos da membrana sinovial. Quando sintetizado pelos condrócitos, o ácido hialurônico se integra à matriz cartilaginosa e, quando é produzido pela membrana sinovial, ele é liberado no líquido sinovial²⁶, onde está presente em alto peso molecular e alta concentração²⁷. A combinação entre alto peso molecular e a concentração elevada de ácido hialurônico resulta numa solução altamente viscoelástica, com funções de lubrificação e de absorção de choque sob altas forças de cisalhamento²⁸.

A síntese e manutenção da matriz extracelular estão, ainda, relacionadas a fatores de crescimento, os quais estão em níveis normalmente baixos na cartilagem adulta saudável e são polipeptídeos capazes de proteger a articulação contra os danos oriundos de movimentos repetitivos, lesões ou inflamação. A lista desses fatores de crescimento é bastante extensa, e alguns exemplos são o fator de crescimento transformador beta, as proteínas ósseas morfogênicas e as proteínas morfogênicas derivadas da cartilagem. Embora muitos fatores sejam denominados fatores de crescimento, alguns deles também são aptos a induzir o processo degenerativo e são responsáveis por parte do processo catabólico que ocorre durante a DAD².

O desgaste fisiológico da cartilagem também é importante para a manutenção da articulação, de forma que a pressão, a fricção e a carga estática prolongadas ou ausentes resultam em destruição e ossificação da cartilagem²⁹. Para que este sistema funcione adequadamente é fundamental que a cartilagem articular seja submetida a um regime fisiológico constante e controlado de carga e movimentação³⁰.

Os condrócitos também possuem atividade catabólica caracterizada pela formação de enzimas degradativas, as metaloproteinases, sendo as principais a collagenase e a estromelina. A primeira atua sobre as fibrilas de colágeno para decompor o esqueleto estrutural do colágeno e a segunda desdobra tanto proteoglicanos como colágeno¹⁸.

Sob condições metabólicas normais, as atividades anabólicas e catabólicas coexistem de forma equilibrada durante a vida para manter a cartilagem saudável¹⁸. Assim, o sulfato de condroitina e a glicosamina possuem um papel importante neste balanço homeostático por serem fundamentais ao anabolismo dos proteoglicanos³¹.

Degeneração da cartilagem articular

A degeneração da cartilagem articular é caracterizada por degradação e perda de cartilagem, alterações ósseas hipertróficas (osteófitos), remodelação do osso subcondral e, no estado clínico da doença, inflamação crônica da membrana sinovial².

A inflamação da membrana sinovial é secundária à liberação de produtos de degradação da cartilagem, de frações da membrana celular de condrócitos, de microcristais, de eicosanóides e de citocinas no interior da cavidade sinovial³².

Foi constatado que os componentes oriundos da cartilagem e os fragmentos de membrana dos condrócitos podem gerar respostas imunes celular e humoral³³. Como resultado, tais reações autoimunes podem causar destruição adicional da cartilagem e liberar mais substâncias reconhecidas pelo organismo como antígenos, o que pode culminar numa inflamação crônica que danifica a estrutura da cartilagem³⁴.

Tendo em vista que o osso subcondral desempenha papel importante no desenvolvimento da DAD², alguns pesquisadores criaram um modelo capaz de produzir lesão ao osso subcondral em joelho de cães sem afetar inicialmente a cartilagem articular, fato comprovado por imagem de ressonância magnética³⁵. Meses após a indução da lesão, novas imagens de ressonância magnética revelaram alterações degenerativas na cartilagem. A avaliação histológica demonstrou perda significativa de proteoglicanos e destruição da superfície articular em comparação com os joelhos não lesados (controle). O estudo mostrou claramente que as fraturas de osso subcondral constituem um fator que contribui para o surgimento de futuras alterações degenerativas da cartilagem articular. Utilizando o mesmo sistema de impacto, outros pesquisadores³⁶ obtiveram, pela imunofluorescência, sinal intenso de fibras colágenas tipo I nas amostras com predomínio de remodelação fibrosa e sinal muito baixo naquelas com morfologia hialina preservada (controle). Foi constatada, ainda, diminuição da expressão de fibras colágenas tipo II e de agrecanos nas amostras degeneradas. Os pesquisadores concluíram que a desorganização da malha colágena parece levar à perda de agrecanos.

Objetivando-se identificar os processos enzimáticos que culminam em danos irreversíveis à cartilagem e aqueles necessários a sua regeneração e auto-reparação, foi investigada a capacidade reparativa dos condrócitos *in vitro*. Para tanto, avaliou-se sua habilidade em iniciar uma resposta anabólica subsequente a diferentes níveis de estimulação catabólica³⁷. A degradação da cartilagem foi completamente reversível na presença de altos níveis de degradação de agrecanos mediada por agrecanase. Entretanto, após a indução da degradação de agrecanos e de colágeno tipo II por metaloproteinases, os condrócitos tiveram

sua capacidade reparativa comprometida. Tal fato leva à conclusão de que a desorganização da malha colágena pode levar à perda de agreganos.

Outro elemento importante na fisiopatologia da DAD é a perda das propriedades viscoelásticas do líquido sinovial devido à diminuição do tamanho das moléculas de ácido hialurônico³⁸. A viscoelasticidade diminuída do líquido sinovial aumenta a susceptibilidade da cartilagem às lesões por sobrecarga³⁹.

Percebe-se, portanto, que a etiologia da DAD ainda não é completamente entendida e parece ser resultado de um sistema complexo e integrado de respostas mecânicas, biológicas, bioquímicas, moleculares e enzimáticas, que acarretam em falha dos condrócitos na manutenção do balanço homeostático entre a síntese e a degradação da matriz extracelular. Desta maneira, há um predomínio do catabolismo sobre o anabolismo da matriz cartilaginosa^{2,40}.

Reparação da cartilagem articular

As afecções da cartilagem articular são associadas a prognóstico reservado, devido à dificuldade de regeneração da cartilagem hialina e à elevada probabilidade de evolução para DAD, resultando em hipofunção da articulação e comprometendo o desempenho e o bem estar do animal⁴¹.

Quando a lesão é superficial e não afeta o osso subcondral, os condrócitos próximos ao defeito multiplicam-se e sintetizam nova matriz, preenchendo o defeito com tecido semelhante à cartilagem hialina. Entretanto, uma semana após a indução da lesão, a resposta é interrompida, pois os condrócitos marginais entram em apoptose e o tecido neoformado desprende-se do tecido vizinho⁴². Além disso, o processo de reparação não segue uma resposta padronizada, uma vez que os vasos sanguíneos e as células inflamatórias não atingem a área lesionada^{43,44}.

As lesões que atingem o osso subcondral são reparadas com tecido fibroso, fibrocartilaginoso ou cartilaginoso semelhante ao hialino, dependendo da espécie animal, da idade, da localização e do tamanho da lesão⁴⁵. Alguns estudos comprovam a formação de tecido de reparação com aspecto hialino em falhas produzidas por abrasão do osso subcondral⁴⁶ ou que se estenderam até o osso esponjoso⁴⁵.

No entanto, o tecido de reparação difere da cartilagem normal quanto à bioquímica e à biomecânica, mesmo quando histologicamente semelhante à cartilagem hialina. Frequentemente, são observadas alterações degenerativas a longo prazo no tecido de reparação, iniciando-se com fibrilação superficial e posterior formação de fissuras, com diminuição na celularidade e perda da afinidade tintorial pela safranina-O⁴⁷.

Os defeitos osteocondrais já cicatrizados, que se apresentarem macroscopicamente brilhantes, lisos, firmes e em continuidade com a cartilagem adjacente, são chamados de reparos biologicamente aceitáveis. Somente pela análise histológica desses reparos é possível diferenciar se houve formação de tecido cartilaginoso hialino ou de tecido fibrocartilaginoso⁴⁸.

A busca por alternativas que possam contribuir na reparação ou na regeneração da cartilagem articular faz com que o processo de reparação da cartilagem hialina seja amplamente descrito por vários pesquisadores. Desta forma, muitos estudos^{49,50,51} descrevem o padrão de reparação da cartilagem articular a partir da indução de defeitos osteocondrais e, geralmente, destacam a dificuldade de regeneração da arquitetura hialina.

Nutracêuticos no tratamento das lesões articulares

Dentre os tratamentos propostos para reparar as lesões articulares, os nutracêuticos compostos principalmente de substâncias condroprotetoras como sulfatos de glucosamina e condroitina, são amplamente pesquisados por constituírem um método não invasivo e com propriedades que favorecem o metabolismo da cartilagem articular. Estas substâncias não estão relacionadas a efeitos adversos significativos, sejam eles clínicos, hematológicos ou hemostáticos⁵². Entretanto, existem relatos de um possível efeito heparinóide, caracterizado por diarreia sanguinolenta, que pode estar relacionado com administração por via parenteral e a dose empregada⁵³.

A incapacidade dos condrócitos em produzir os proteoglicanos de forma adequada pode ser causada por uma desdiferenciação relacionada à idade⁵⁴, concebível por defeitos na atividade de glicosil e/ou sulfotransferases específicas em adicionar unidades de sacarídeos e grupos sulfatados às cadeias de glicosaminoglicano em crescimento⁵⁵. Alternativamente, a baixa disponibilidade de açúcar aos condrócitos pode levar à redução na produção de proteoglicanos e à degeneração da cartilagem⁵⁶, provavelmente devido por à falta de precursores de açúcar adequados, os quais a célula normalmente produz sozinha para entregar a sua própria organela produtora de proteoglicanos, o complexo de Golgi⁵⁷.

A administração de unidades de açúcar prontas, como a glucosamina e o sulfato de

condroitina na forma de suplemento nutricional, pode ser benéfica desde que sejam fornecidos em quantidade suficiente para serem absorvidos e alcançarem, através da corrente sanguínea e placas terminais, a estrutura produtora de glicosaminoglicanos no complexo de Golgi dos condrócitos⁵⁷, conferindo o efeito estimulador da síntese de proteoglicanos.

A glucosamina e o sulfato de condroitina inibem o catabolismo de proteoglicanos induzido pela interleucina-1, através do bloqueio da clivagem enzimática da agreganase⁵⁸, do bloqueio da liberação de mediadores inflamatórios (prostaglandina E2 e óxido nítrico) e do bloqueio de metaloproteinases⁵⁹, bem como reduzindo a ação da glucoronosiltransferase⁶⁰ e inibindo a degranulação de neutrófilos⁶¹.

O sulfato de condroitina possui ação antiinflamatória semelhante à da glucosamina e pode inibir diversas proteases e citocinas prejudiciais à cartilagem que são secretadas por leucócitos e condrócitos⁶². Ele ainda é capaz de inibir a depleção de proteoglicanos da cartilagem articular induzida por agentes que mimetizam a degeneração natural, como bradicinina ou quimiopapaína⁶³.

O estado “hipermetabólico” que ocorre no início da DAD é considerado uma resposta de proteção dos condrócitos à depleção de proteoglicanos da matriz, desencadeada por condições ambientais estressantes. Se esta resposta “hipermetabólica” é uma tentativa de reverter os resultados das condições ambientais adversas, agentes que ampliam a resposta anabólica e reduzem a resposta catabólica podem retardar a progressão da degeneração da cartilagem⁶⁴. Os agentes naturais dotados desta habilidade são denominados modificadores de resposta biológica e tal definição implica que esses agentes promovem uma defesa ao hospedeiro contra estresses múltiplos⁶⁵.

Estudos *in vivo* em coelhos indicaram que a glucosamina e o sulfato de condroitina são candidatos à classificação de agentes modificadores da DAD. Em um destes estudos, dieta suplementada com glucosamina e sulfato de condroitina proporcionou preservação da matriz e retardo na progressão de alterações degenerativas da cartilagem de coelhos com DAD induzida por modelo de instabilidade. Tal achado caracterizou uma resposta benéfica atribuída ao efeito dessas substâncias sobre os condrócitos de articulações danificadas⁶⁶. Em outro estudo, os animais foram submetidos a injeções intrarticulares de quimiopapaína e, posteriormente, receberam a glucosamina. Os resultados demonstraram aumento do conteúdo de proteoglicanos na cartilagem desses animais, mas nenhum efeito em tecidos normais. Ou seja, aqueles animais que não receberam a injeção de quimiopapaína, a administração de glucosamina não promoveu aumento do conteúdo de proteoglicanos⁶⁷. Em outro estudo⁶⁸, coelhos foram previamente tratados com sulfato de condroitina, para em seguida submeter esses mesmos animais à injeção intrarticular de quimiopapaína. Os resultados também mostraram aumento no conteúdo de proteoglicanos na cartilagem desses animais. Estes achados indicam que a suplementação nutricional não tem efeito aparente sobre o metabolismo da cartilagem normal⁶⁶, o que pode sugerir um tropismo dos agentes pela cartilagem em seu estado reativo⁶⁹.

Simulações *in vitro* do estresse que ocorre *in vivo* foram realizadas para explorar a relação entre o estresse articular e as atividades do sulfato de condroitina e glucosamina e, ainda, para testar a hipótese de que estes agentes atuam intensificando a proteção celular iniciada por condições ambientais adversas⁶⁴. Foram analisadas as atividades sintética e anticatabólica de cartilagem articular bovina sobre condições isoladas de depleção de matriz, estresse térmico, compressão mecânica e estresse por citocinas. Constatou-se que a resposta da cartilagem às simulações estressantes varia de acordo com o tipo de adversidade e com a idade do animal, sendo que a resposta metabólica da cartilagem de animais velhos é significativamente maior do que a de tecido de animal jovem ou que não passou por estresse. A depleção induzida da matriz e o estresse mecânico provocaram aumento na síntese de proteoglicanos, de forma que a posterior exposição à glucosamina e ao sulfato de condroitina aumentou ainda mais a resposta ao estresse. Já o choque térmico e o estresse por citocinas provocaram redução na atividade sintética, a qual foi revertida ou normalizada pela exposição posterior à glucosamina e ao sulfato de condroitina. O pesquisador concluiu que há um aumento na resposta metabólica que caracteriza uma ação de proteção por parte dos condrócitos, e que, por isto, a glucosamina e o sulfato de condroitina podem melhorar a habilidade de reparação e regeneração destas células, sustentando a hipótese de que tais compostos funcionam como modificadores de resposta biológica, uma vez que podem estimular a resposta natural de proteção dos tecidos contra as condições ambientais adversas.

Estudos farmacocinéticos realizados em animais e humanos mostraram que 70% do sulfato de condroitina é absorvido quando administrado pela via oral⁷⁰ e que sua biodisponibilidade absoluta (quantidade da fórmula farmacêutica que efetivamente chega à circulação sistêmica) está por volta de 5 a 15%⁷¹. Esta substância é administrada com um peso molecular relativamente baixo, o que é importante para sua absorção intestinal⁷⁰, e

posteriormente é despolimerizada, mas não totalmente degradada⁷². Os picos plasmáticos do sulfato de condroitina ocorrem entre duas e cinco horas após a ingestão de uma única dose, sendo que após a ingestão de doses múltiplas foi encontrado acúmulo significativo da substância⁷¹.

A glucosamina por sua vez é melhor absorvida, aproximadamente em 90%, proporcionando biodisponibilidade absoluta de 12 a 44%⁷¹, de forma que é parcialmente degradada e persistentemente incorporada à cartilagem articular⁷³.

Testes *in vitro* confirmaram que a glucosamina e o sulfato de condroitina exógenos (radioativamente marcados) são utilizados pelos na síntese da matriz extracelular⁷⁴. Portanto, a administração de glucosamina, em quantidade suficiente, pode impulsionar a síntese de glicosaminoglicanos em condrócitos degenerados se a glucosamina endógena for um fator limitante⁶⁷ e/ou se a glicosiltransferase estiver em baixos níveis⁶⁰. Além disso, o sulfato de condroitina, com grupos sulfatados já anexados, pode ajudar a restaurar a sulfatação de glicosaminoglicanos degenerados, desde que suas unidades de N-acetilgalactosamina-sulfato sejam liberadas na célula e, em seguida, sirvam como substrato para a glicosiltransferase no complexo de Golgi⁵⁷.

Alguns estudos referem que a combinação de glucosamina e sulfato de condroitina é mais efetiva do que seu uso isolado em modelos experimentais de DAD^{63,75,76}, permitindo reduzir o uso de antiinflamatórios não esteroidais em pacientes acometidos por esta doença, enquanto que outros trabalhos referem que tais substâncias, sozinhas ou combinadas, não são capazes de reduzir a dor de forma eficiente⁷⁷.

Muitos dos ensaios experimentais se baseiam na administração de nutracêuticos no tratamento da DAD do joelho, no entanto, a degeneração da cartilagem de outras articulações tem ganhado muita atenção, como comprova um relato de suplementação oral com glucosamina e sulfato de condroitina no tratamento de degeneração de disco intervertebral em um paciente humano⁵⁷. Os autores sugeriram no relato que a suplementação nutricional durante dois anos melhorou gradualmente os sinais observados por ressonância magnética do disco intervertebral; entretanto, afirmam que são necessários mais estudos direcionados à morfologia da cartilagem do disco intervertebral para esclarecer tais benefícios.

Desta forma, pode-se dizer que a glucosamina e o sulfato de condroitina administrados pela via oral podem passar pelo trato gastrointestinal e alcançar a cartilagem articular. Estas substâncias podem, ainda, atingir os discos intervertebrais e fornecer efeitos condroprotetor e regenerativo⁵⁷.

Embora o potencial destas substâncias como ferramenta terapêutica no controle da DAD tenha sido comprovado em vários estudos, outros ensaios clínicos não comprovaram sua eficácia no alívio dos sinais clínicos^{78,79}.

Por isso, a utilização de sulfato de condroitina e glucosamina no controle da DAD é discutível, já que ainda não se conseguiu impedir ou retardar o processo degenerativo de maneira satisfatória⁸⁰. Além disso, publicações recentes questionam sua eficácia como nutracêuticos condroprotetores e referem que estes produtos têm, na melhor das hipóteses, um efeito mínimo no controle da dor, na melhora na função dos membros e no retardo na progressão dos sinais radiográficos da DAD⁸¹. Os mesmos estudos alegam, ainda, que as pesquisas que relatam melhora nos sintomas da DAD com tais substâncias envolvem geralmente uma metodologia com poucos animais e que a avaliação da dor pode ser de caráter subjetivo.

Deve-se levar em consideração que tanto a possibilidade de efeitos benéficos quanto a de colaterais não devem ser extrapoladas para qualquer formulação de nutracêutico condroprotetor, visto que os estudos envolvem formulações não padronizadas, onde não existe garantia sobre a composição, farmacocinética e farmacodinâmica¹.

Neste contexto, diversas pesquisas cada vez mais aprofundadas estão sendo desenvolvidas na tentativa de que se consiga fazer com que o potencial destas substâncias seja desenvolvido quando administradas na forma de nutracêutico, pois até o momento, os pesquisadores concordam em relação à importância do sulfato de condroitina e glucosamina na manutenção da estrutura dos proteoglicanos, porém sua eficiência no retardo ou prevenção da DAD é controversa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nas informações desta revisão bibliográfica sobre os aspectos fisiológicos e patológicos que ocorrem na cartilagem articular, pode-se concluir que os nutracêuticos a base de sulfato de condroitina e glucosamina possuem propriedades que refletem ferramentas potenciais para o tratamento da DAD com menores efeitos adversos, ou até mesmo livre deles, em comparação ao uso de AINES.

Diversos estudos clínicos, farmacológicos e moleculares estão sendo realizados por

muitos pesquisadores com resultados significativos. No entanto, até o momento, o que se pode afirmar é que o sulfato de condroitina e a glucosamina, na forma de nutracêutico, podem atingir a cartilagem articular, mas o seu efeito no alívio dos sintomas da DAD é questionável.

Assim, os resultados dos estudos impulsionam o desenvolvimento de pesquisas cada vez mais específicas, na tentativa de que estas substâncias futuramente deixem de ser paliativas e possam de fato deter o processo degenerativo das articulações de forma mais satisfatória, ou até mesmo induzir a regeneração da cartilagem, propiciando maior confiança aos médicos veterinários, melhor qualidade de vida aos animais e maior satisfação aos proprietários.

REFERÊNCIAS

- 1 - HENROTIN, Y. et al. Pharmaceutical and nutraceutical management of canine osteoarthritis: present and future perspectives. **The Veterinary Journal**, v.170, n.1, p.113-123, 2005.
- 2 - MARTELL-PELLETIER, J. et al. Cartilage in normal and osteoarthritis conditions. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v.22, n.2, p.351-384, 2008.
- 3 - LUST, G. An overview of the pathogenesis of canine hip dysplasia. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.210, p.1443-1445, 1997.
- 4 - MARTINEZ, S.A. Congenital conditions that lead to osteoarthritis in the dog. **Veterinary Clinical North America Small Animal Practitioners**, v.27, p.735-758, 1997.
- 5 - FOX, D.B. Current treatment strategies of canine e feline osteoarthritis. In: North American Veterinary Conference, Orlando, Flórida. **Proceedings of the North American Veterinary Conference**, v. 20, p.90-94, 2006.
- 6 - REMEDIOS, A.M. et al. Medial patellar luxation in 16 large dogs. A retrospective study. **Veterinary Surgery**, v.21, p.5-9, 1992.
- 7 - MARTINEZ, S.A.; CORONADO, G.S. Acquired conditions that lead to osteoarthritis in dog. **Veterinary Clinical North America Small Animal Practitioners**, v.27, p.759-775, 1997.
- 8 - MARCELLIN-LITTLE, D.J. et al. Incomplete ossification of the humeral condyle in spaniels. **Veterinary Surgery**, v.23, p.475-487, 1994.
- 9 - MCLAUGHLIN JR, R.M.; TILSON, D.M. Flexible external fixation for craniodorsal coxofemoral luxations in dogs. **Veterinary Surgery**, v.23, p.21-30, 1994.
- 10 - FOX, S.M. et al. Ununited anconeal process: lag-screw fixation. **Journal of American Animal Hospital Association**, v.32, p.52-56, 1996.
- 11 - JONES, C.J.; BUDSBERG, S.C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids for the management of canine osteoarthritis. **Veterinary Clinical North America Small Animal Practitioners**, v.27, n.4, p.841-862, 1997.
- 12 - CLARCK, T.P. The clinical pharmacology of ciclooxigenase-2-seletive and dual inhibitors. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Praticice**, v.36, p.1061-1085, 2006.
- 13 - LEES, P. et al. PK-PD integration and PK-PD modelling of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: principiplies end applications in veterinary pharmacology. **Journal of Veteterinary Pharmacololy and Therapeutics**, v.27, 491-502, 2004.
- 14 - POLLMEIER, M. et al. Clinical evaluation of firocoxib and carprofen for the treatment of dogs with osteoarthritis. **Veterinary Record.**, v.159, n.21, p.547-551, 2006.
- 15 - STEAGALL, P.V.M. et al. Evaluation of adverse effects of oral firocoxib in healthy dogs. **J. Vet. Pharmacology & Therapeutics**, v.30, n.3, p.218-223, 2007.
- 16 - FILHO, M.M.M.; RAHAL, S.C. O uso de antiinflamatórios inibidores Cox-2 seletivos na osteoartrite canina. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, 407-415, 2008.
- 17 - ROUDEBUSH, P. Pain management for canine osteoarthritis. In: North American Veterinary Conference, Orlando, Flórida. **Proceedings of the North American Veterinary Conference**, v. 20, p.1007-1010, 2006.
- 18 - JOHNSTON, S. A. Osteoartrite: Fisiopatologia e expectativas relacionadas ao tratamento. **Tópicos em Medicina Veterinária para Animais de Companhia**, v.3, n.2, p.16-25, 2001.
- 19 - JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11.ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2008, 524 p.
- 20 - STOCKWELL, R.A. Morphology of cartilage. In: Maroudas, A.; Keuttner, K. **Methods in cartilage research**. San Diego: Academic Press. p.61-63. 1990.
- 21 - PALMER, J. L.; BERTONE, A. L. Joint structure, biochemical disequilibrium in synovitis and equine joint disease. **Equine Veterinary Journal**, v.26, n.4, p.263-277, 1994.
- 22 - BECERRA, J. et al. Articular cartilage: structure and regeneration. **Tissue Engineering**, v.16, n.6, 2010.
- 23 - BILGE, O. et al. The effects of the synovium on chondrocyte growyh: an experimental study. **Knee Surgery, Sports Traumatology & Arthroscopy**, 2011. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/281151716174711/fulltext.pdf>>. Acessado em: 10 fev.

2011.

- 24 - HETTINGA, D.L. Resposta inflamatória das estruturas sinoviais da articulação. In: GOULD, J.A. **Fisioterapia na Ortopedia e na Medicina do Esporte. 2.ed. São Paulo: Manole, 1993.** p. 87-117.
- 25 - RODKEY, W.G.; MCKINNEY, L.A. Revisão da estrutura, função e composição da cartilagem e da sinóvia. In: BOJRAB, M.J.; SMEAK, D.D.; BLOOMBERG, M.S. **Mecanismos da Moléstia na Cirurgia de Pequenos Animais. São Paulo: Manole, 1996.** p.758-765.
- 26 - ABATANGELO, G.; O'REAGAN, M. Hyaluronan: biological role and function in articular joints. **European Journal of Rheumatology and Inflammation**, v.15, p.9-16, 1995.
- 27 - BALAZS, E.A.; DENLINGER, J.L. Viscosupplementation: a new concept in the treatment of osteoarthritis. **The Journal of Rheumatology**, v.20, p.7-9, 1993.
- 28 - BOTHNER, H.; WIK, O. Rheology of hyaluronate. **Acta Oto-laryngologica**, v.442, p.25-30, 1987.
- 29 - VANWANSEELE, B. et al. The effects of immobilization on the characteristics of articular cartilage: current concepts and future directions. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 10, p.408-419, 2002.
- 30 - NARMOEVA, D.A. et al. Altered swelling behavior of femoral cartilage following joint immobilization in a canine model. **Journal of Orthopaedic Research**, v.20, p.83-91, 2002.
- 31 - SATO, T. et al. Chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase 1 is necessary for normal endochondral ossification and aggrecan metabolism. **The Journal of Biological Chemistry (Papers in Press)**, 2010. Disponível em: <<http://jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.M110.159244>>. Acesso em 09 fev. 2011.
- 32 - NALBANT, S. et al. Synovial fluid features and their relations to osteoarthritis severity: new findings from sequential studies. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.11, p.50-54, 2003.
- 33 - SAKKAS, L.I.; PLATSOUKAS, C.D. Role of T cells in the pathogenesis of osteoarthritis. **Arthritis and Rheumatism**, v.46, p.3112-3113, 2002.
- 34 - YUAN, G.H. et al. Immunologic intervention in the pathogenesis of osteoarthritis. **Arthritis and Rheumatism**, v.48, p.602-611, 2003.
- 35 - LAHMAN, A. et al. Articular cartilage degeneration after acute subchondral bone damage. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v.75, n.6, 762-767, 2004.
- 36 - MROSEK, E.H. et al. Subchondral bone trauma causes cartilage matrix degeneration: an immunohistochemical analysis in a canine model. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.14, p.171-178, 2006.
- 37 - KARSDAL, A. et al. Cartilage degradation is fully reversible in the presence of aggrecanase but not matrix metalloproteinase activity, **Arthritis Research & Therapy**, v.10, n.3. 2008. Disponível em: <<http://arthritis-research.com/content/10/3/R63>>. Acesso em: 7 set. 2009.
- 38 - BALAZS, E.A. The physical properties of the synovial fluid and the special role of hyaluronic acid. In: HELFET, A. **Disorders of the knee. 1. ed. Philadelphia: Lippincott, 1974.** p.63-75.
- 39 - PELLETIER, J.P.; MARTEL-PELLETIER, J. The pathophysiology of osteoarthritis and the implication of the use of hyaluronan and hylan as therapeutic agents in viscosupplementation. **The Journal of Rheumatology**, v.20, p.19-24, 1993.
- 40 - KAPOOR, M. et al. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, v.7, 33-42, 2011.
- 41 - OLSSON, S. Pathophysiology, morphology and clinical signs of osteochondrosis in the dog. In: BOJRAB, M.J. **Disease mechanisms in small animal surgery. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.** p.777-796.
- 42 - TRIPPEL, S.B.; MANKIN, H.J. Consolidação da cartilagem articular. In: BOJRAB, M.J. **Mecanismos da moléstia na cirurgia de pequenos animais. 2ed. São Paulo: Manole, 1996.**
- 43 - LAMMI, P.E et al. Strong hyaluronan expression in the full-thickness rat articular cartilage repair tissue. **Histochemistry and Cell Biology**, v.115, n.4, p.301-308, 2001.
- 44 - FOSSUM, T.W. Diseases of the joints. **Small animal surgery. 2ed. St. Louis: Mosby, 2000.**
- 45 - SHAPIRO, F. et al. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.75-A, n.4, p.532-553, 1993.
- 46 - KIM, H.K.W. et al. The potential for regeneration of articular cartilage in defects created by chondral shaving and subchondral abrasion. An experimental investigation in rabbits. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.73-A, n.9, p.1.301-1.315, 1991.
- 47 - WAKITANI, S. et al. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.76-A, n.4, p.579-592, 1994.
- 48 - RIBEIRO, J.L. et al. Estudo macroscópico e histológico de reparos osteocondrais biologicamente aceitáveis. **Acta Ortopédica Brasileira**, v.12, b.1, p.16-21, 2004.
- 49 - LIN, z. et al. The chondrocyte: Biology and clinical application. **Tissue Engineering**, v.12, p.1971-1984, 2006.

- 50 - ZENG, XW. et al. Research of low field intensity joint MR scan in rabbit knee articular cartilage defect repair. **Journal of Sun Yat-Sen University (Medical Sciences)**, v.30, p.57-61, 2009.
- 51 - CHEN, H. et al. MRI and histologic analysis of collagen type II sponge on repairing the cartilage defects of rabbit knee joints. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v.96B, n.2, p.267-275, 2011.
- 52 - CHARD, J.; DIEPPE, P. Glucosamine for osteoarthritis: magic, hype, or confusion? **British Medical Journal**, v.322, p.1 439-1440, 2001.
- 53 - MELO, E.G. et al. Sulfato de condroitina e hialuronato de sódio no tratamento da doença articular degenerativa experimental em cães. Aspectos clínicos e radiológicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.1, p.35-43, 2003.
- 54 - OKUDA, S. et al. Mechanisms of age-related decline in insulin-like growth factor- I dependent proteoglycan synthesis in rat intervertebral disc cells. **Spine**, v.26, p.2421-2426, 2001.
- 55 - SUGAHARA, K.; KITAGAWA, H. Recent advances in the study of the biosynthesis and functions of sulfated glycosaminoglycans. **Current Opinion in Structural Biology**, v.10, p.10:518-527, 2000.
- 56 - HORNER, H.A.; URBAN, J.P. Volvo Award Winner in Basic Science Studies: Effect of nutrient supply on the viability of cells from the nucleus pulposus of the intervertebral disc. **Spine**, v. 26, p.2543-2549, 2001.
- 57 - BLITTERSWIJK, W.J. et al. Glucosamine and chondroitin sulfate supplementation to treat symptomatic disc degeneration: Biochemical rationale and case report. **BioMed Central Complementary and Alternative Medicine**, v.3, n.2, 2003. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1472-6882/3/2>>. Acesso em: 7 set. 2009.
- 58 - SANDY, J.D. et al. Chondrocyte-mediated catabolism of aggrecan: aggrecanase-dependent cleavage induced by interleukin-1 or retinoic acid can be inhibited by glucosamine. **Biochemical Journal**, v.335, p.59-66, 1998.
- 59 - ORTH, M.W. et al. Inhibition of articular cartilage degradation by glucosamine-HCl and chondroitin sulphate. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, v.34, p.224-229, 2002.
- 60 - GOUZE, J.N. et al. Interleukin-1beta downregulates the expression of lucuronosyltransferase I, a key enzyme priming glycosaminoglycan biosynthesis: influence of glucosamine on interleukin-1beta-mediated effects in rat chondrocytes. **Arthritis and Rheumatism**, v.44, p.351-360, 2001.
- 61 - HUA, J. et al. Inhibitory actions of glucosamine, a therapeutic agent for osteoarthritis, on the functions of neutrophils. **Journal of Leucocyte Biology**, v.71, p.632-640, 2002.
- 62 - DE LOS REYES, G.C. et al. Glucosamin and chondroitin sulfates in the treatment of osteoarthritis: a survey. **Progress in Drug Research**, v.55, p.81-103, 2000.
- 63 - OMATA, T. et al. Effects of chondroitin sulfate-C on bradykinin-induced proteoglycan depletion in rats. **Arzneimittel Forschung-Drug Research**, v.49, p.577-581, 1999.
- 64 - LIPPIELLO, L. Glucosamine and chondroitin sulfate: biological response modifiers of chondrocytes under simulated conditions of joint stress. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.11, p.335-342, 2003.
- 65 - YOUNG, A.S.; KOECH, D.K. Biological response modifiers: cytokines in health and disease and their possible therapeutic value. **African Journal of Health Sciences**, v.1, p.6-12, 1994.
- 66 - LIPPIELLO, L. et al. *In vivo* chondroprotection and metabolic synergy of glucosamine and chondroitin sulfate. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v.40, p.381:229, 2000
- 67 - OEGEMA, T.R. et al. Effect of oral glucosamine on cartilage and meniscus in normal and chymopapain-injected knees of young rabbits. **Arthritis and Rheumatism**, vol. 46, p.2495-2503, 2002.
- 68 - UEBELHART, D. et al. Protective effect of exogenous chondroitin 4,6-sulfate in the acute degradation of articular cartilage in the rabbit. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.6, p.6-13, 1998.
- 69 - TAYLOR, T.K.; MELROSE, J.; BURKHARDT, D.; GHOSH, P.; CLAES, L.E.; KETTLER, A.; WILKE, H.J. Spinal biomechanics and aging are major determinants of the proteoglycan metabolism of intervertebral disc cells. **Spine**, v.25, p.3014-3020, 2000.
- 70 - CONTE, A. et al. Biochemical and pharmacokinetic aspects of oral treatment with chondroitin sulfate. **Arzneimittel Forschung-Drug Research**, v.45, p.918-925, 1995. DRAG, M. et al. Firocoxib efficacy preventing urate-induced synovitis, pain, and inflammation in dogs. **Vet. Ther.**, v.8, n.1, p.41-50, 2007.
- 71 - ADEBOWALE, A. et al. The bioavailability and pharmacokinetics of glucosamine hydrochloride and low molecular weight chondroitin sulfate after single and multiple doses to beagle dogs. **Biopharmaceutics Drug Disposition**, v.23, p.217-225, 2002.
- 72 - VOLPI, N. Oral bioavailability of chondroitin sulfate (Condrosulf((R))) and its constituents in healthy male volunteers. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.10, p.768-771, 2002.

- 73 - SETNIKAR, I.; ROVATI, L.C. Absorption, distribution, metabolism and excretion of glucosamine sulfate. A review. **Arzneimittel Forschung-Drug Research**, v.51, p.699-725, 2001.
- 74 - NOYSZEWSKI, E.A. et al. Preferential incorporation of glucosamine into galactosamine moieties of chondroitin sulfates in articular cartilage explants. **Arthritis and Rheumatism**, v.44, p.1089-1095, 2001.
- 75 - LEFFLER, C.T et al. Glucosamine, chondroitin, and manganese ascorbate for degenerative joint disease of the knee, or low back: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. **Military Medicine**, v.164, p.85-91, 1999.
- 76 - BEREN, J. et al. The effect of preloading oral glucosamine/chondroitin sulfate/manganese ascorbate combination on experimental arthritis in rats. **Experimental Biology and Medicine (Maywood)**, v.226, p.144-151, 2001.
- 77 - CLEGG, D.O. et al. Glucosamine, Chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. **The New England Journal of Medicine**, v.354, p.795-808, 2006.
- 78 - MESSIER, S.P. et al. Glucosamine/chondroitin combined with exercise for the treatment of knee osteoarthritis: a preliminary estudy. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.15, n.11, p.1246-1266, 2007.
- 79 - SAWITZKE, A.D. et al. Clinical efficacy and safety of glucosamine, chondroitin sulfate, their combination, celecoxib or placebo taken to treat osteoarthritis of the knee: 2-yr results from GAIT. **Annals of The Rheumatic Diseases**, v.69, p.1459-1464, 2010.
- 80 - MELO, E.G. et al. Sulfato de condroitina e hialuronato de sódio no tratamento da doença articular degenerativa em cães. Estudo histológico da cartilagem articular e membrana sinovial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.83-92, 2008.
- 81 - MILLER, K.L.; CLEGG, D.O. Glucosamine and chondroitin sulfate. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v.37, p.103-118, 2011.

Capítulo II

Sulfato de condroitina e glucosamina na
reparação de defeitos osteocondrais
experimentais em cães – Análises clínica e
radiográfica

Revista para submissão: Revista Ceres

ISSN:0034-737X

**SULFATO DE CONDROITINA E GLUCOSAMINA NA REPARAÇÃO DE
DEFEITOS OSTEOCONDRAIS EXPERIMENTAIS EM CÃES – ANÁLISES
CLÍNICA E RADIOGRÁFICA¹**

**Renato Barros Eleotério², Andréa Pacheco Batista Borges³, Kelly Cristine de Sousa
Pontes⁴, Natália Alves Fernandes⁵, Priscila Ferreira Soares⁴, Mariana Brettas
Silva⁴, Naira Jandafet Sampaio Martins⁴, João Paulo Machado⁶**

RESUMO

Dentre os tratamentos propostos para reparar as lesões da doença articular degenerativa (DAD), os nutracêuticos compostos de substâncias condroprotetoras, como glucosamina e sulfato de condroitina, são amplamente pesquisados por constituírem terapia não invasiva e com propriedades que favorecem a cartilagem. Como são muito utilizados no controle da DAD em humanos, foram disponibilizados para uso veterinário. No entanto, diferente do que ocorre com produtos humanos, que possuem certificação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os nutracêuticos condroprotetores veterinários possuem em seu rótulo somente o registro do Serviço de Inspeção Federal – SIF, que inspeciona o modo de fabricação, mas não exige testes de eficácia e segurança. A ausência destes testes exigidos pelo Ministério da Agricultura para comprovação da

¹Trabalho extraído de dissertação de Mestrado.

²Médico Veterinário. Mestrando do Departamento do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Veterinária (DVT), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Avenida P. H. Rolfs, s/nº, Campus Universitário, CEP – 36570-000, Viçosa, MG. Endereço eletrônico: renato_ufv@hotmail.com. Autor para correspondência.

³ Professora de Cirurgia de Pequenos Animais do DVT/UFV, Viçosa, MG.

⁴ Médica Veterinária, Doutora em Medicina Veterinária. Professora de Cirurgia de Pequenos Animais da União de Ensino Superior de Viçosa (UNIVIÇOSA). Avenida Maria de Paula Santana, nº 3.815, Bairro Silvestre, CEP – 36570-000, Viçosa, MG.

⁵ Graduandas em Medicina Veterinária, DVT/UFV, Viçosa, MG.

⁶ Médico Veterinário. Doutorando do Departamento do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, DVT/UFV, Viçosa, MG.

eficácia e segurança de medicamentos veterinários e a carência de estudos científicos que comprovem seus benefícios, geram dúvidas quanto à eficiência das várias concentrações das substâncias ativas disponíveis e resguarda a administração destes produtos aos animais na forma de suplemento nutricional de comercialização independente de prescrição. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de um nutracêutico condroprotetor veterinário, a base de sulfato de condroitina e glucosamina, na reparação de defeitos osteocondrais no côndilo femoral lateral de cães, por meio de análises clínica e radiográfica. Os resultados mostraram que o produto, na dosagem, formulação e período de administração utilizados, não proporcionou melhora dos sinais clínicos e não influenciou radiograficamente no processo de reparação dos defeitos, visto que os grupos tratado e controle apresentaram aspectos radiográficos idênticos ao término dos tratamentos.

Palavras chave: Doença articular degenerativa, osteoartrite, condroprotetor, sulfato de condroitina, glicosamina, cão.

ABSTRACT

GLUCOSAMINE AND CHONDROITIN SULFATE IN THE REPAIR OF EXPERIMENTAL OSTEOCHONDRAL DEFECTS IN DOGS - CLINICAL AND RADIOGRAPHIC ANALYSIS

Among the proposed treatments to repair lesions of degenerative joint disease (DJD), nutraceutical composed by chondroprotective substances, such as glucosamine and chondroitin sulfate, are widely studied because they constitute a non-invasive therapy with properties that promotes cartilage metabolism. Once widely used in the control of DJD in human, nutraceuticals were available for veterinary use. However, unlike what occurs with human products, which are certified by the National Agency for Sanitary Surveillance, veterinarians chondroprotective nutraceuticals have only a label of the

Federal Inspection Service, which oversees the manufacture of the product but does not require testing for efficacy and safety. The lack of such tests to prove efficacy and safety of veterinary medicines required by the Ministry of Agriculture and the lack of scientific studies proving its benefits raises doubts about the efficiency of the concentrations of active ingredients found in different brands, and shelter the administration of these products in the form of nutritional supplement, with marketing independent of prescription. In this context, the objective of this study was to evaluate the efficacy of a commercial veterinary chondroprotective nutraceutical based on chondroitin sulfate and glucosamine in the repair of osteochondral defects in experimental lateral femoral condyle of dogs, through clinical and radiographic analysis. The results showed that the nutraceutical chondroprotective, dosage, formulation and administration period of time used did not improve clinical signs and did not influence the repair process of the defects, since the treated and control groups showed similar radiographic appearance at the end of the treatments.

Keywords: Degenerative joint disease, osteoarthritis, chondroprotective, chondroitin sulfate, glucosamine, dog.

INTRODUÇÃO

Dentre os tratamentos propostos para reparar as lesões da doença articular degenerativa (DAD), os nutracêuticos compostos de substâncias condroprotetoras, como a glucosamina e o sulfato de condroitina, são amplamente pesquisados por constituírem terapia não invasiva e por possuírem propriedades que favorecem o metabolismo da cartilagem articular (Chard & Dieppe, 2001).

Diversos estudos demonstraram, por meio de análises clínica e radiográfica, que os condroprotetores nutracêuticos são eficazes no controle da dor e no retardo da progressão da DAD (Reginster et al., 2001; Pavelka et al., 2002; Towheed et al., 2005).

Entretanto, Sawtize et al. (2010) questionam a eficácia destes produtos e referem que os benefícios de sua utilização são controversos.

A administração de condroprotetores pela via oral, na forma de nutracêutico, é amplamente utilizada na medicina humana e, aliada à minimização dos fatores de risco como redução de peso e exercícios controlados, constitui uma opção terapêutica e preventiva no tratamento da DAD nos pacientes humanos. Tais produtos destinados ao Homem, que têm como substâncias ativas principais os sulfatos de condroitina e de glucosamina, possuem controle e certificação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA e, portanto, passam por testes de eficácia e segurança que são exigidos pelo Ministério da Saúde para medicamentos humanos.

Uma vez utilizados no controle da DAD em humanos, os nutracêuticos foram disponibilizados para uso veterinário, principalmente para cães idosos e de raças predispostas à DAD (Labrador, Rotweiller, Golden retrievier, Pastores, Daschund, etc.). No entanto, os produtos disponíveis possuem em seu rótulo somente registro do Serviço de Inspeção Federal – SIF, o qual inspeciona o modo de fabricação do produto, mas não exige os testes de eficácia e segurança. A carência destes testes exigidos pelo Ministério da Agricultura para comprovação da eficácia e segurança de medicamentos veterinários gera mais dúvidas quanto à eficiência das variadas concentrações das substâncias ativas disponíveis e resguarda a administração destes produtos aos animais na forma de suplemento nutricional e de comercialização independente de prescrição veterinária.

Desta forma, objetivou-se com este estudo experimental avaliar, clínica e radiograficamente, o efeito de um nutracêutico condroprotetor veterinário comercial, a base de sulfato de condroitina e glucosamina, na reparação de falhas osteocondrais provocadas experimentalmente no côndilo femoral lateral de cães.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 48 cães, sem raça definida, esqueléticamente adultos à

confirmação radiográfica, com peso variando entre 10 e 25 kg, provenientes do canil experimental do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (DVT-UFV). Os animais selecionados foram vacinados com vacina ócupla⁷ e previamente tratados, em baias coletivas isoladas daquelas que passaram o período experimental, com vermífugo⁸ a base de albendazol, praziquantel e pirantel (dose única oral de um comprimido para cada 10 kg de peso), ivermectina⁹ e carrapaticida¹⁰ (fipronil *pour on* na dose de 1ml/10kg). Após esse tratamento prévio, os cães foram alojados em outras baias coletivas, e continuaram recebendo ração comercial específica para cães uma vez ao dia e água *ad libitum*.

O projeto deste estudo experimental foi enviado ao comitê de ética do (DVT-UFV) e obteve parecer favorável, certificado pelo processo nº18/2008. As normas de conduta para o uso de animais no ensino, pesquisa e extensão do DVT/UFV foram rigorosamente seguidas, sob coordenação do médico veterinário Renato Barros Eleotério, CRMV/SP-27971.

Os 48 animais foram distribuídos aleatoriamente entre quatro tratamentos (I, II, III e IV), de acordo com o período de pós-operatório e contendo cada um deles 12 animais. Dentro de cada tratamento, os animais foram separados em dois grupos (GI e GII) de números iguais. Os animais do GI constituíram o grupo tratado, enquanto o GII representou o grupo controle. A Tabela 1 mostra o detalhamento dos tratamentos e grupos experimentais.

⁷ Imuno-Vet[®] – BioVet – Vargem Grande Paulista – SP - Brasil

⁸ Rico Composto[®] - Ouro-Fino – Cravinhos – SP - Brasil

⁹ Ivomec[®] – Merial – Campinas – MG - Brasil

¹⁰ Top Line[®] – Merial – Paulínia – SP - Brasil

Tabela 1. Detalhamento dos grupos experimentais

Tratamento	Número de animais	Período de observação após indução da lesão
TI	12 (6 tratados e 6 controles)	15 dias
TII	12 (6 tratados e 6 controles)	30 dias
TIII	12 (6 tratados e 6 controles)	60 dias
TIV	12 (6 tratados e 6 controles)	90 dias

Para a realização do procedimento cirúrgico, todos os animais foram previamente submetidos a jejum hídrico e sólido de 12 horas. Posteriormente, foram tranquilizados com acepromazina¹¹ (0,1 mg/kg, via intravenosa), induzidos com propofol¹² (7 mg/kg, via intravenosa) e mantidos com isoflurano¹³ diluído em 100% de oxigênio.

Com o animal posicionado em decúbito lateral esquerdo, e campo cirúrgico devidamente preparado com composto iodado e panos de campo esterilizados, foi feita uma incisão cutânea curvilínea craniolateral envolvendo toda a articulação femorotibiopatelar do membro direito, desde a região da diáfise femoral distal até a região da epífise proximal da tibia. Em seguida, foram feitas divulsão do tecido subcutâneo ao longo da mesma linha de incisão cutânea e incisão parapatelar lateral do retináculo e cápsula articular, conforme proposto por Johnson & Dunning (2005) para desvio medial da patela e exposição do sulco troclear em cães e gatos. Desta forma, foi possível demarcar uma área circular, com auxílio de um *punch* dermatológico de 6 mm de diâmetro, no côndilo femoral lateral. Utilizando lâmina de bisturi n° 15, a cartilagem demarcada foi removida e, em seguida, a área foi curetada até obtenção de sangramento, indicando ter atingido o osso subcondral e criação de uma lesão osteocondral (Figura 1). A articulação foi lavada com solução fisiológica a 0,9%, a patela foi reposicionada no sulco troclear e o procedimento foi finalizado com a sutura em padrão "X" utilizando

¹¹ Acepran[®] – Univet – São Paulo – SP - Brasil

¹² Propovan[®] - Cristália – Itapira – SP - Brasil

¹³ Isoforine[®] - Cristália – Itapira – SP - Brasil

fio de náilon monofilamentar 3-0 para o retináculo e cápsula articular e em padrão simples contínuo para tecido subcutâneo e em padrão Wolff para a pele, utilizando-se fio de náilon monofilamentar 4-0.

Foi feita antibioticoterapia durante sete dias com enrofloxacin¹⁴, na dose de 10 mg/kg de peso, a cada 24 horas por via oral, além de medicação analgésica no pós-operatório imediato e por mais dois dias, com 0,3 mg/kg de morfina¹⁵ por via intramuscular a cada 12 horas. Promoveu-se, ainda, a limpeza diária da ferida cirúrgica com solução fisiológica até a retirada dos pontos, que ocorreu no décimo dia após a intervenção cirúrgica.

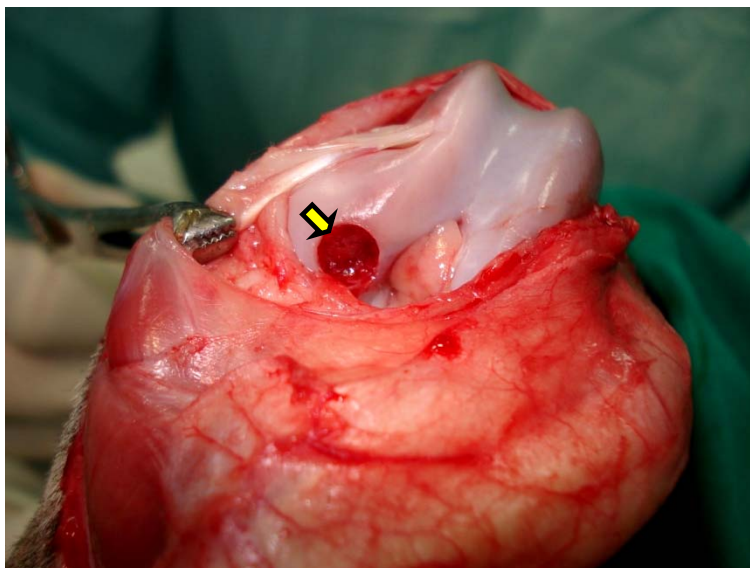


Figura 1. Fotografia de cõndilo femoral lateral direito de cão após a criação de lesão osteocondral. Notar lesão circular sem cartilagem e contendo sangue proveniente do osso subcondral (seta).

O nutracêutico condroprotetor utilizado possuía apresentação em tabletes palatáveis, contendo cada um deles 200 mg de sulfato de condroitina, 300 mg de glucosamina, 24 mg de palatilizante e 1200 mg de veículo q.s.p. Conforme as recomendações do fabricante, foi administrado um tablete a cada 24 horas aos cães com até 10 kg, dois tabletes aos cães com 11 a 20 kg e 4 tabletes aos cães com 21 a 30 kg de peso corporal. Todos os animais pertencentes ao GI receberam o nutracêutico

¹⁴ Enrofloxacin® - Biovet – Vargem Grande PayJulista – SP - Brasil

¹⁵ Dimorf® - Cristália – Itapira – SP - Brasil

diariamente, a partir do primeiro dia de pós-operatório e até completar o período do tratamento.

Para a avaliação clínica, os animais foram observados diariamente nos 15 primeiros dias após a cirurgia e, posteriormente, uma vez a cada sete dias, até completar o período de observação de cada grupo. Foram avaliados, por um mesmo avaliador, o grau da claudicação, a dor, o edema e a presença da infecção da ferida cirúrgica (quando presentes secreção purulenta e/ou deiscência da sutura). O grau da claudicação na marcha foi avaliado conforme proposto por Sena (2006): grau 0 (sem claudicação); grau 1 (apoio do membro com presença de claudicação) ou grau 2 (ausência de apoio).

Para se avaliar a dor e o desconforto, a área operada foi manipulada e a dor classificada em: grau 0 (nenhuma manifestação dolorosa); grau 1 (manifestação dolorosa durante palpação da articulação); grau 2 (manifestação dolorosa durante movimentação da articulação) ou grau 3 (manifestação dolorosa durante a palpação e movimentação da articulação).

A circunferência da região da articulação operada foi medida com auxílio de fita métrica, para determinar se houve mudança no volume da articulação. Este parâmetro também foi medido antes da cirurgia e ao final do período de observação em ambos os membros.

Para a avaliação radiográfica, foram obtidas radiografias da articulação fêmoro-tíbio patelar nos planos de incidência mediolateral, craniocaudal e tangencial (“sky-line”). A técnica radiográfica foi padronizada quanto à distância do aparelho ao filme, quilovoltagem e tempo de exposição para cada animal.

Com exceção das radiografias do pós-operatório imediato, que foram obtidas com o animal ainda anestesiado, todos os outros exames radiográficos foram realizados com os animais sedados com acepromazina (0,1 mg/kg, via intravenosa) anteriormente o procedimento cirúrgico e depois conforme o agrupamento dos animais: TI - exame

radiográfico aos 15 dias após a cirurgia; TII - exame radiográfico aos 15 e aos 30 dias após a cirurgia; TIII - exame radiográfico aos 15, 30 e 60 dias após a cirurgia; TIV - exame radiográfico aos 15, 30, 60 e 90 dias após a cirurgia.

As radiografias foram analisadas observando-se a radiopacidade do defeito em comparação com a do tecido normal adjacente, classificando-a como menor, igual ou maior que a radiopacidade do tecido normal. Adicionalmente, a falha foi analisada nas radiografias quanto ao aspecto de suas bordas, no que diz respeito à regularidade (falha circular) ou não (falha irregular).

A claudicação e a dor foram avaliadas pelo teste qui quadrado. Foram considerados nesta análise os momentos de início do tratamento (1º dia de pós-operatório), o 5º, o 10º e o 15º dia de pós-operatório, uma vez que a variação destes parâmetros se deu neste período, de forma que a partir do 15º dia a classificação das variáveis era semelhante entre os grupos. A análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas foi utilizada para verificar se houve alteração tanto do volume do membro operado quanto do membro não operado. Adicionalmente, verificou-se se houve existência de interação nos resultados do volume do membro, sendo que nas situações em que no teste foi encontrado efeito de interação significativa, foram realizadas comparações múltiplas através do teste de Bonferroni. No caso da variável volume da região operada também não foi possível realizar comparações através da ANOVA considerando todos momentos da avaliação clínica. Como a circunferência do membro a partir do 15º dia de pós operatório tornou-se constante durante algumas avaliações seguintes, optou-se por avaliar todos esses 15 momentos apenas graficamente e, para análise por meio de testes, foram considerados apenas 4 momentos (início de tratamento, 5º, 10º e 15º dia).

Para detectar se houve alteração da circunferência do membro operado entre o início e ao final do tratamento, também foi utilizada a análise de variância (ANOVA)

com medidas repetidas, da mesma forma como descrito anteriormente, no entanto, foram considerados os momentos de início do tratamento e de último dia de avaliação.

Foi feita ainda uma última análise estatística referente à variável correspondente ao volume da articulação femorotibiopatelar. O objetivo desta análise foi comparar a variação da circunferência do início para o final do tratamento para verificar se ocorreu alteração do volume da articulação de forma concomitante nos dois membros. O teste estatístico utilizado foi o não paramétrico de Mann-Whitney, levando em consideração as variações entre os momentos de início do tratamento e de último dia de avaliação, tanto do membro operado quanto do contralateral.

Em toda a análise estatística realizada no presente trabalho, o valor de p maior que 0,05 não foi considerado significante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O acesso cirúrgico parapatelar lateral possibilitou a visibilização do côndilo femoral lateral, permitindo delimitar o local exato de indução da lesão utilizando-se o *punch*. A utilização da lâmina de bisturi número 15 permitiu a excisão do fragmento de cartilagem anteriormente delimitado de forma satisfatória. Já a curetagem não se mostrou um método eficaz para a finalização do defeito osteocondral, uma vez que ela deveria ser promovida até a obtenção de sangramento e foi constatada variação na quantidade de osso a ser curetado para ser observada esta hemorragia. Além disso, notou-se que o plano anestésico influenciava diretamente na obtenção do sangramento, de forma que demorava-se mais a obtê-lo quando o animal estava em plano anestésico profundo, sugerindo, portanto, que o método não foi eficaz para execução de defeitos padronizados.

Com exceção de um animal, todos que compunham o GI dos tratamentos I, II, III e IV ingeriram o nutracêutico de forma forçada, o que indica que o produto não foi

palatável à maioria dos cães envolvidos no estudo. A baixa palatabilidade pode estar relacionada ao sabor adocicado do produto, que, geralmente, desperta menos interesse aos animais em relação a substâncias salgadas.

Em todos os animais operados houve cicatrização completa da ferida cirúrgica de forma satisfatória e não foram observadas secreção patológica ou deiscência.

No TI, dor e claudicação foram observadas a partir do primeiro dia de pós-operatório, sendo que a claudicação foi considerada inicialmente grau 2 em três animais do GI e em um do GII. Nos demais animais a claudicação foi classificada grau 1. Ao final do tratamento, somente dois animais ainda apresentavam claudicação grau 1, um deles do GI e o outro do GII, de forma que os demais animais não apresentaram mais claudicação (grau 0). A sensibilidade dolorosa, por sua vez, foi classificada em grau 3 no primeiro dia de pós-operatório, e continuou nesta graduação para todos os animais até o final do período de observação, com exceção de um animal do GI que apresentou sensibilidade grau 1. Considerando-se os momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório, não houve diferença significativa entre os grupos para as variáveis claudicação (Tabela 2) e dor (Tabela 3), quando foi possível calcular o teste qui quadrado.

Em relação ao volume da articulação operada, pôde-se observar uma diminuição nos valores desta variável de acordo com o período de pós-operatório, de forma que, a partir do 12º dia, o valor da circunferência do membro tendeu a ficar estável até o 15º dia (Tabela 4). Pelo teste de ANOVA com medidas repetidas, e considerando-se apenas os momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório, constatou-se que houve diferença significativa ($p=0,01$) entre os dias para o parâmetro avaliado independente do grupo (Tabela 5). Os testes de comparações múltiplas, por sua vez, revelaram que houve diferença significativa ($p=0,01$) apenas entre o início do tratamento e o 15º dia de pós-operatório (Tabela 6), sendo que no início do tratamento o

valor da circunferência da articulação operada foi maior, independente do grupo estudado.

Tabela 2. Valores dos escores de funcionalidade do membro (0 - sem claudicação; 1 - apoio do membro com presença de claudicação; 2 - ausência de apoio), obtidos dos grupos tratado e controle de TI, TII, TIII e TIV, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório

Tratamento	Dia	Claudicação	Grupo				Valor de p
			GI		GII		
			n	%	n	%	
TI	Início do tratamento	1	4	66,7%	4	66,7%	***
		2	2	33,3%	2	33,3%	
	5º dia	0	2	33,3%	-	-	0,50
		1	3	50,0%	6	100,0%	
	10º dia	2	1	16,7%	-	-	***
		0	3	50,0%	3	50,0%	
	15º dia	1	3	50,0%	3	50,0%	***
		0	5	83,3%	5	83,3%	
		1	1	16,7%	1	16,7%	
		2	-	-	1	16,7%	
TII	Início do tratamento	0	-	-	1	16,7%	0,27
		1	5	83,3%	5	83,3%	
		2	1	16,7%	-	-	
	5º dia	0	-	-	2	33,3%	0,45
		1	6	100,0%	4	66,70%	
	10º dia	0	1	16,7%	3	50,0%	0,22
		1	5	83,30%	3	50,0%	
	15º dia	0	3	50,0%	5	83,3%	0,22
		1	2	33,3%	1	16,7%	
		2	1	16,70%	-	-	
0		2	33,3%	1	16,7%		
TIII	Início do tratamento	0	2	33,3%	1	16,7%	0,00
		1	4	66,7%	2	33,3%	
		2	-	-	3	50,0%	
	5º dia	0	4	66,7%	1	16,7%	0,09
		1	2	33,3%	4	66,7%	
	10º dia	2	-	-	1	16,7%	>0,99
		0	5	83,3%	4	66,7%	
	15º dia	1	1	16,7%	2	33,3%	>0,99
		0	6	100,0%	5	83,3%	
		1	-	-	1	16,7%	
2		1	16,7%	1	16,7%		
TIV	Início do tratamento	0	1	16,7%	1	16,7%	0,19
		1	2	33,3%	5	83,3%	
		2	3	50,0%	-	-	
	5º dia	0	3	50,0%	3	50,0%	***
		1	3	50,0%	3	50,0%	
	10º dia	0	4	66,7%	3	50,0%	0,56
		1	2	33,3%	3	50,0%	
	15º dia	0	4	66,7%	5	83,3%	0,50
		1	2	33,3%	1	16,7%	
		2	2	33,3%	1	16,7%	

Não houve diferença significativa entre os grupos durante os dias observados ($p>0,05$), pelo teste qui-quadrado;

n: número de animais referente ao grau de claudicação dentro de cada grupo;

%: porcentagem de animais referente ao grau de claudicação dentro de cada grupo;

***impossível calcular o teste qui quadrado (GI e GII possuem número igual de animais com o mesmo escore de funcionalidade do membro).

Tabela 3. Valores dos escores de sensibilidade dolorosa (0 - nenhuma manifestação dolorosa; 1 - manifestação dolorosa durante palpação da articulação; 2 - manifestação dolorosa durante movimentação da articulação; 3 - manifestação dolorosa durante a palpação e movimentação da articulação), obtidos dos grupos tratado e controle de TI, TII, TIII e TIV, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório

Tratamento	Dia	Dor	Grupo				Valor de p
			GI		GII		
			n	%	n	%	
TI	Início do tratamento	3	6	100,0%	6	100,0%	***
	5º dia	3	6	100,0%	6	100,0%	***
	10º dia	1	1	16,7%	-	-	0,5
		3	5	83,3%	6	100,0%	
	15º dia	1	1	16,7%	-	-	0,5
		3	5	83,3%	6	100,0%	
TII	Início do tratamento	3	6	100,0%	6	100,0%	***
	5º dia	3	6	100,0%	6	100,0%	***
	10º dia	1	-	-	1	16,7%	0,54
		3	6	100,0%	5	83,3%	
	15º dia	1	-	-	2	33,3%	0,22
		3	6	100,0%	4	66,7%	
TIII	Início do tratamento	3	6	100,0%	6	100,0%	***
	5º dia	3	6	100,0%	6	100,0%	***
	10º dia	1	1	16,7%	-	-	>0,99
		3	5	83,3%	6	100,0%	
	15º dia	1	3	50,0%	1	16,7%	0,54
		3	3	50,0%	5	83,3%	
TIV	Início do tratamento	1	-	-	1	16,7%	>0,99
		3	6	100,0%	5	83,3%	
	5º dia	1	2	33,3%	1	16,7%	>0,99
		3	4	66,7%	5	83,3%	
	10º dia	1	2	33,3%	1	16,7%	
		2	1	16,7%	-	-	0,27
15º dia	3	3	50,0%	5	83,3%		
	1	2	33,3%	1	16,7%		
15º dia	2	1	16,7%	-	-	0,27	
	3	3	50,0%	5	83,3%		

Não houve diferença significativa entre os grupos durante os dias observados ($p > 0,05$), pelo teste qui-quadrado;

n: número de animais referente ao grau de claudicação dentro de cada grupo;

%: porcentagem de animais referente ao grau de claudicação dentro de cada grupo;

***impossível calcular o teste qui quadrado (GI e GII possuem número igual de animais com o mesmo escore de funcionalidade do membro).

Tabela 4. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tíbio-patelar direita, obtidos dos grupos do TI, em função do período de pós-operatório

Grupo	Dias														
	Início do tratamento	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	15°
GI	Média	22,8	22,4	22,7	22,4	22,4	22,2	22,2	22,1	22,1	21,9	21,8	21,8	21,8	21,8
	Mediana	23,0	22,3	23,0	22,5	22,5	22,3	22,3	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0
	Desvio padrão	2,4	2,4	2,4	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,4	2,5	2,5	2,5	2,5
	Mínimo	19,5	19,0	19,0	18,5	18,5	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0
	Máximo	26,0	25,5	25,5	25,5	25,5	25,0	25,0	25,0	25,0	24,5	24,5	24,5	24,5	24,5
GII	Média	20,8	20,8	20,6	20,6	20,4	20,3	20,3	20,3	20,3	20,3	20,2	20,1	20,0	20,0
	Mediana	20,3	20,3	20,3	20,3	20,0	20,0	20,0	20,0	19,8	19,8	19,5	19,5	19,5	19,5
	Desvio padrão	2,3	2,3	2,31	2,31	2,44	2,29	2,21	2,21	1,83	1,75	1,78	1,63	1,67	1,67
	Mínimo	18,5	18,5	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
	Máximo	24	24	24	24	24	23,5	23,5	23,5	23	23	23	22,5	22,5	22,5

Tabela 5. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tíbio-patelar direita, obtidos dos grupos do TI, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório

Grupo		Dias			
		Início do tratamento	5º dia	10º dia	15º dia
GI	Média	22,8	22,4	21,9	21,8
	Mediana	23	22,5	22	22
	Desvio padrão	2,36	2,58	2,42	2,46
	Mínimo	19,5	18,5	18	18
	Máximo	26	25,5	24,5	24,5
GII	Média	20,8	20,4	20,3	20,0
	Mediana	20,25	20	19,75	19,5
	Desvio padrão	2,3	2,44	1,75	1,67
	Mínimo	18,5	18	18	18
	Máximo	24	24	23	22,5
	Efeito de interação		0,85		
Valor de p	Efeito de dias		0,01*		
	Efeito de grupo		0,26		

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas.

Tabela 6. Resultados dos testes de comparações múltiplas indicando diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores médios da circunferência dos membros operados do TI entre o início do tratamento e o 15º dia de pós-operatório

Dia de referência	Dia de comparação	Valor de p
Início do tratamento	5º dia	0,9
Início do tratamento	10º dia	0,05
Início do tratamento	15º dia	0,01
5º dia	10º dia	>0,999
5º dia	15º dia	0,35
10º dia	15º dia	>0,999

Considerando-se apenas os momentos de pré-operatório e de última avaliação clínica do TI, o volume do membro esquerdo (não operado) de ambos os grupos não sofreu nenhuma variação, diferente do que ocorreu com o membro contralateral (Tabelas 7 e 8). No entanto, a variação que ocorreu nos membros operados de GI e GII foram estatisticamente iguais ($p=0,06$), pelo teste não paramétrico de Mann-whitney.

Tabela 7. Valores médios da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tíbio-patelar, obtidos dos grupos do TI, no período pré-operatório e na última avaliação clínica

Grupo		Dia			
		Antes da cirurgia		Última avaliação	
		Membro operado	Membro não operado	Membro operado	Membro não operado
GI	Média	20	20	21,83	20
	Mediana	19,75	19,75	22	19,75
	Desvio padrão	2,47	2,47	2,46	2,47
	Mínimo	17	17	18	17
	Máximo	23,5	23,5	24,5	23,5
GII	Média	18,08	18,42	20	18,42
	Mediana	17,75	18,5	19,5	18,5
	Desvio padrão	1,88	1,72	1,67	1,72
	Mínimo	16	16	18	16
	Máximo	20,5	20,5	22,5	20,5

Tabela 8. Valores médios da variação do volume da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tíbio-patelar, obtidos dos grupos do TI, no período pré-operatório e na última avaliação clínica

Grupo		Varição na circunferência do membro operado	Varição na circunferência do membro não operado
GI	Média	1,83	0
	Mediana	1,75	0
	Desvio padrão	0,82	0
	Mínimo	1	0
	Máximo	3	0
GII	Média	1,92	0
	Mediana	2	0
	Desvio padrão	0,66	0
	Mínimo	1	0
	Máximo	3	0

No TII, com exceção de um animal do GII que não manifestou claudicação (grau 0), todos os outros animais manifestaram claudicação grau 1 e sensibilidade dolorosa grau 3 a partir do primeiro dia de pós-operatório. A evolução da claudicação foi semelhante para ambos os grupos, de forma que dois animais do GI e um do GII permaneceram com claudicação grau 3 ao final do tratamento, e os demais animais foram classificados em grau 0 de claudicação. A sensibilidade dolorosa permaneceu grau 3 em cinco animais do G1, sendo que o outro animal deste grupo não apresentou sinais de dor (grau 0) ao final do tratamento. No G2, a sensibilidade dolorosa ao final do tratamento foi classificada grau 3 em dois animais, grau 1 em outros dois e grau 0 nos demais integrantes do grupo. Considerando-se os momentos de início do tratamento, 5º,

10º e 15ª dias de pós-operatório, não houve diferença significativa entre os grupos para as variáveis claudicação (Tabela 2) e dor (Tabela 3), quando foi possível calcular o teste qui quadrado. Foram observadas pequenas alterações durante os 15 primeiros dias do período de pós-operatório no volume da articulação operada (Tabela 9). No entanto, pelo teste de ANOVA com medidas repetidas, e, considerando-se apenas os momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós operatório, constatou-se que não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os dias, e nem entre os grupos, para o parâmetro avaliado (Tabela 10).

Assim como em TI, embora tenha ocorrido alteração no volume do membro operado dos animais do TII entre os momentos de pré-operatório e de última avaliação clínica (Tabelas 11 e 12), o teste de Mann-Whitney evidenciou que a variação não foi significativa entre GI e GII. Quanto ao membro esquerdo (não operado), constatou-se que sua medida à altura da articulação fêmoro-tibio-patelar não sofreu nenhuma variação durante o período de tratamento em ambos os grupos, diferente do que ocorreu com o membro contralateral (Tabelas 11 e 12).

Tabela 9. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tíbio-patelar direita, obtidos dos grupos do TII, em função dos 15 primeiros dias do período de pós-operatório

Grupo	Dias															
	Início do tratamento	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	15°	
GI	Média	21,6	21,6	21,4	21,4	21,4	21,8	21,5	21,5	21,5	21,4	21,4	21,7	21,7	21,8	21,8
	Mediana	21,8	21,8	21,5	21,5	21,5	22,0	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,0
	Desvio padrão	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,7	2,7	2,7	2,7	2,6	2,6	2,8	2,8	3,0	3,0
	Mínimo	18	18	18	18	18	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5
	Máximo	24,4	24,5	24,5	24,5	24,5	26	26	26	26	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
GII	Média	21,7	21,8	21,7	21,3	21,3	21,2	21,1	21,1	21,1	19,3	20,8	20,8	20,7	20,5	19,6
	Mediana	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,3	21,3	21,3	21,3	19,0	20,8	20,5	20,5	20,0	20,0
	Desvio padrão	2,7	2,6	2,5	3,0	3,0	3,1	3,0	3,0	3,0	2,4	3,2	3,1	3,3	3,3	2,1
	Mínimo	18,5	19	19	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	16	17,5	17,5	17	17	16,5
	Máximo	26	26	26	26	26	26	26	26	26	22	26	26	26	26	22

Tabela 10. Valores médios da circunferência dos membros operados(cm), na altura da articulação fêmoro-tíbio-patelar direita, obtidos dos grupos do TII, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório

Grupo		Dias			
		Início do tratamento	5º	10º	15º
GI	Média	21,6	21,4	21,4	21,8
	Mediana	21,8	21,5	21,3	21,0
	Desvio padrão	2,1	2,1	2,6	3,0
	Mínimo	18	18	17,5	17,5
	Máximo	24,4	24,5	25,5	25,5
GII	Média	21,7	21,3	19,3	19,6
	Mediana	21,5	21,5	19,0	20,0
	Desvio padrão	2,7	3,0	2,4	2,1
	Mínimo	18,5	17,5	16	16,5
	Máximo	26	26	22	22
	Efeito de interação		0,09		
Valor de p	Efeito de dias		0,11		
	Efeito de grupo		0,55		

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas.

Assim como em TI e TII, embora tenha ocorrido alteração no volume do membro operado dos animais do TIII entre os momentos de pré-operatório e de última avaliação clínica (Tabs. 13 e 14), o teste de Mann-Whitney evidenciou que a variação não foi significativa entre GI e GII. Quanto ao membro esquerdo (não operado), constatou-se que sua medida à altura da articulação femorotibiopatelar não sofreu nenhuma variação durante o período de tratamento em ambos os grupos, diferentemente do que ocorreu com o membro contralateral (Tabs. 13 e 14).

Tabela 11. Valores médios da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tibio-patelar, obtidos dos grupos do TII, no período pré-operatório e na última avaliação clínica

Grupo	Dia				
	Antes da cirurgia		Última avaliação		
	Membro operado	Membro não operado	Membro operado	Membro não operado	
GI	Média	19,5	19,5	21,17	19,5
	Mediana	19,5	19,5	21	19,5
	Desvio padrão	2,26	2,26	2,27	2,26
	Mínimo	16	16	17,5	16
	Máximo	23	23	24	23
GII	Média	19	19	20,33	19
	Mediana	18,25	18,25	20	18,25
	Desvio padrão	3,05	3,05	3,46	3,05
	Mínimo	16	16	16,5	16
	Máximo	24	24	26	24

Tabela 12. Valores médios da variação do volume da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tibio-patelar, obtidos dos grupos do TII, no período pré-operatório e na última avaliação clínica

Grupo	Varição na circunferência do membro operado	Varição na circunferência do membro não operado	
GI	Média	1,67	0
	Mediana	1,5	0
	Desvio padrão	0,68	0
	Mínimo	1	0
	Máximo	3	0
GII	Média	1,33	0
	Mediana	1,25	0
	Desvio padrão	0,61	0
	Mínimo	0,5	0
	Máximo	2	0

No TIII, ao primeiro dia de pós-operatório, três animais do GII manifestaram claudicação grau 2, enquanto para os demais este parâmetro foi classificado grau 1. Ao final do tratamento, nenhum dos 12 animais do TIII manifestou claudicação (grau 0) ao exame clínico. A sensibilidade dolorosa foi classificada em grau 3 no primeiro dia de pós-operatório em todos os animais. Ao final do tratamento, dois animais do GI permaneceram com sensibilidade dolorosa grau 3, enquanto os outros quatro não manifestaram mais sensibilidade dolorosa (grau 0). No GII, por sua vez, um animal permaneceu com sensibilidade dolorosa grau 3 e dois com grau 1, e os outros três não manifestavam mais dor (grau 0) ao final do tratamento. Considerando-se os momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15ª dias de pós-operatório, não houve diferença

significativa entre os grupos para as variáveis claudicação (Tabela 2) e dor (Tabela 3), quando foi possível calcular o teste qui quadrado. O volume da articulação fêmoro-tibio-patelar operada tendeu a decrescer durante os 15 primeiros dias de pós-operatório (Tabela 13). Pelo teste de ANOVA com medidas repetidas, e, considerando-se apenas os momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós operatório, constatou-se que houve diferença significativa ($p=0,006$) entre os dias para o parâmetro avaliado independentemente do grupo (Tabela 14). Os testes de comparações múltiplas, por sua vez, revelaram que houve diferença significativa apenas entre o 15º dia de pós-operatório e os momentos de início do tratamento ($p=0,01$) e 5º dia de pós-operatório ($p=0,04$) (Tabela 15), evidenciando que no 15º dia o valor da circunferência da articulação operada é, em média, menor do que nos outros dois momentos, independentemente do grupo.

Tabela 13. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tíbio-patelar direita, obtidos dos grupos do TIII, em função do período de pós-operatório

Grupo	Dias														
	Início do tratamento	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	15°
GI	Média	21,0	21,7	21,6	21,5	21,3	21,3	21,3	21,3	21,2	21,2	21,2	21,2	20,8	20,5
	Mediana	20,8	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,0	21,0	21,0	21,0	20,5	20,0
	Desvio padrão	1,82	1,25	1,32	1,14	1,08	1,08	1,08	1,08	0,98	0,98	0,98	0,98	1,13	1,22
	Mínimo	19	20,5	20,5	20,5	20	20	20	20	20	20	20	20	19,5	19,5
	Máximo	24	24	24	23,5	23	23	23	23	22,5	22,5	22,5	22,5	22,5	22,5
GII	Média	22,7	22,8	22,3	22,1	21,9	21,9	21,9	21,5	21,3	21,2	21,2	21,0	20,8	20,7
	Mediana	22,8	22,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,5	21,3	21,3	21,3	21,3	21,0	21,0
	Desvio padrão	1,42	1,44	1,21	0,94	0,97	0,97	0,97	0,71	0,82	0,82	0,82	1,14	1,03	1,4
	Mínimo	21	21	21	21	21	21	21	20,5	20,5	20	20	19	19	18
	Máximo	24,4	24,5	24	23,4	23,5	23,5	23,5	22,5	22,5	22	22	22	22	22

Tabela 14. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, obtidos dos grupos do TIII, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório

Grupo		Dias			
		Início do tratamento	5º	10º	15º
GI	Média	21,0	21,3	21,2	20,5
	Mediana	20,8	21,3	21,0	20
	Desvio padrão	1,82	1,08	0,98	1,22
	Mínimo	19	20	20	19,5
	Máximo	24	23	22,5	22,5
GII	Média	22,7	21,9	21,2	20,7
	Mediana	22,75	21,75	21,25	21
	Desvio padrão	1,42	0,97	0,82	1,4
	Mínimo	21	21	20	18
	Máximo	24,4	23,5	22	22
	Efeito de interação		0,84		
Valor de p	Efeito de dias		0,006*		
	Efeito de grupo		0,51		

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas.

Tabela 15. Resultados dos testes de comparações múltiplas indicando diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores médios da circunferência dos membros operados do TIII entre o 15º dia de pós-operatório e os momentos de início do tratamento e 5º dia de pós-operatório

Dia de referência	Dia de comparação	Valor de p
Início do tratamento	5º dia	>0,999
Início do tratamento	10º dia	0,34
Início do tratamento	15º dia	0,01
5º dia	10º dia	>0,999
5º dia	15º dia	0,04
10º dia	15º dia	>0,66

Quanto ao membro esquerdo (não operado), constatou-se variação no volume à altura da articulação do joelho em ambos os grupos, considerando os momentos de pré-operatório e última avaliação clínica (Tabela 16), diferentemente do que ocorreu em TI e TII. Pelo teste de ANOVA com medidas repetidas confirmou-se a variação de volume em ambos os membros ($p = 0,001$), tanto em GI quanto em GII (Tabela 17), de forma que o membro operado apresentou aumento de volume do início para o final do tratamento, enquanto o membro não operado manifestou redução nos valores desta medida.

Tabela 16. Valores médios da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tíbio-patelar, obtidos dos grupos do TIII, no período pré-operatório e na última avaliação clínica

Grupo		Dia			
		Antes da cirurgia		Última avaliação	
		Membro operado	Membro não operado	Membro operado	Membro não operado
GI	Média	18,58	18,58	19,17	18,42
	Mediana	18,25	18,25	19,5	18,75
	Desvio padrão	1,77	1,77	1,66	1,88
	Mínimo	17	17	17	16
	Máximo	21,5	21,5	21,5	21
GII	Média	19,42	19,42	19,92	19
	Mediana	19,75	19,75	20	19
	Desvio padrão	1,07	1,07	0,66	0,55
	Mínimo	17,5	17,5	19	18
	Máximo	20,5	20,5	21	19,5

Tabela 17. Valores médios da variação do volume da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tíbio-patelar, obtidos dos grupos do TIII, no período pré-operatório e na última avaliação clínica

Grupo	Varição na circunferência do membro operado	Varição na circunferência do membro não operado	
GI	Média	0,58	-0,17
	Mediana	0	-1
	Desvio padrão	1,86	1,72
	Mínimo	-2	-2
	Máximo	3	2
GII	Média	0,5	-0,42
	Mediana	0,25	-0,5
	Desvio padrão	0,63	0,8
	Mínimo	0	-1,5
	Máximo	1,5	0,5
	Efeito de interação	0,58	
Valor de p	Efeito de membro	0,001*	
	Efeito de grupo	0,83	

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas.

No TIV, por sua vez, ao primeiro dia de pós-operatório, três animais do GI e um do GII manifestaram claudicação grau 2; dois animais do GI e cinco do GII foram classificados em grau 1, e o restante (um animal de cada grupo) recebeu classificação grau 0. Ao final do tratamento, nenhum dos 12 animais do TIV manifestou claudicação (grau 0) ao exame clínico. A sensibilidade dolorosa foi classificada em grau 3 no primeiro dia de pós-operatório em todos os animais do TIV, com exceção de um animal

do GII que recebeu classificação grau 1. Ao final do tratamento, dois animais do GI permaneceram com sensibilidade dolorosa, sendo que um foi classificado em grau 3 e o outro em grau 2. No GII, por sua vez, um animal permaneceu com sensibilidade dolorosa grau 2 e os demais não manifestaram mais dor (grau 0) ao final do tratamento.

Considerando-se os momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15ª dias de pós-operatório, não houve diferença significativa entre os grupos para as variáveis claudicação (Tabela 2) e dor (Tabela 3), quando foi possível calcular o teste qui quadrado. Assim como nos tratamentos anteriores, o volume da articulação fêmoro-tibio-patelar operada tendeu a decrescer durante os 15 primeiros dias de pós-operatório (Tabela 18). Pelo teste de ANOVA com medidas repetidas, e, considerando-se apenas os momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório, constatou-se que houve diferença significativa ($p < 0,001$) entre os dias para o parâmetro avaliado independentemente do grupo (Tabela 19), de forma semelhante ao que ocorreu em TI e TIII. Os testes de comparações múltiplas, por sua vez, revelaram que houve diferença significativa entre o 15º dia de pós-operatório e os momentos de início do tratamento ($p < 0,001$), o 5º ($p < 0,01$) e o 10º dia e pós-operatório ($p = 0,03$) (Tabela 20), evidenciando que no 15º dia o valor da circunferência da articulação operada é, em média, menor do que nos outros três momentos, independentemente do grupo. Os testes revelaram ainda diferença significativa ($p = 0,02$) entre os momentos de início do tratamento e 10º dia de pós-operatório (Tabela 20), de forma que no início do tratamento o valor da circunferência da articulação operada é, em média, maior, independente do grupo.

Tabela 18. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tíbio-patelar direita, obtidos dos grupos do TIV, em função do período de pós-operatório

Grupo	Dias															
	Início do tratamento	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	15°	
GI	Média	23,3	23,3	23,3	22,8	22,8	23,2	23,0	22,8	22,7	22,7	22,5	22,5	21,9	21,8	21,8
	Mediana	23,3	23,0	23,0	22,5	22,5	23,0	23,0	22,5	22,5	22,5	22,5	22,5	22,0	22,0	21,8
	Desvio padrão	1,08	1,08	1,08	1,47	1,47	1,72	1,9	1,94	1,86	1,86	1,64	1,84	1,8	1,72	1,67
	Mínimo	22	22	22	21	21	21	21	21	21	21	21	20,5	20	20	20
	Máximo	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	24	24,5	24	24	24
GII	Média	22,4	22,2	21,8	22,3	21,9	21,8	21,9	21,8	21,4	21,2	20,8	20,4	20,4	20,3	20,3
	Mediana	22,5	22,3	22,0	22,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,3	20,5	20,8	20,8	20,8
	Desvio padrão	1,11	1,37	1,03	1,47	1,66	1,81	1,91	1,72	1,63	1,57	1,57	1,53	1,63	1,57	1,44
	Mínimo	21	20	20	20	19,5	19	19	19	19	19	19	18,5	18,5	18,5	18,5
	Máximo	24	24	23	24	24	24	24	24	24	23	23	22,5	22,5	22,5	22

Tabela 19. Valores médios da circunferência dos membros (cm), na altura da articulação fêmoro-tíbio-patelar direita, obtidos dos grupos do TIV, em função dos momentos de início do tratamento, 5º, 10º e 15º dias de pós-operatório

Grupo		Dias			
		Início do tratamento	5º	10º	15º
GI	Média	23,33	22,83	22,67	21,75
	Mediana	23,25	22,5	22,5	21,75
	Desvio padrão	1,08	1,47	1,86	1,67
	Mínimo	22	21	21	20
	Máximo	25	25	25	24
GII	Média	22,42	21,92	21,17	20,25
	Mediana	22,5	21,75	21,75	20,75
	Desvio padrão	1,11	1,66	1,57	1,44
	Mínimo	21	19,5	19	18,5
	Máximo	24	24	23	22
	Efeito de interação		0,6		
Valor de p	Efeito de dias		<0,001*		
	Efeito de grupo		0,34		

*Houve diferença significativa ($p<0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas.

Tabela 20. Resultados dos testes de comparações múltiplas indicando diferença significativa ($p<0,05$) nos valores médios da circunferência dos membros operados do TIV entre o 15º dia de pós-operatório e os momentos de início do tratamento, 5º e 10º dia e pós-operatório e entre os momentos de início do tratamento e 10º dia e pós-operatório

Dia de referência	Dia de comparação	Valor de p
Início do tratamento	5º dia	0,63
Início do tratamento	10º dia	0,02
Início do tratamento	15º dia	<0,001
5º dia	10º dia	0,82
5º dia	15º dia	<0,001
10º dia	15º dia	0,03

Semelhante ao que ocorreu em TIII, constatou-se redução da volume do membro esquerdo (não operado) e aumento na do operado, em ambos os grupos do TIV, considerando-se os momentos de pré-operatório e última avaliação (Tabelas 21 e 22). No entanto, a variação não foi confirmada pelo teste de ANOVA com medidas repetidas, não havendo diferença significativa entre o volume dos membros operado e não operado, independentemente do grupo (Tabela 22).

Tabela 21. Valores médios da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tíbio-patelar, obtidos dos grupos do TIV, no período pré-operatório e na última avaliação clínica

Grupo	Dia				
	Antes da cirurgia		Última avaliação		
	Membro operado	Membro não operado	Membro operado	Membro não operado	
GI	Média	19,83	19,83	21,25	20,75
	Mediana	20	20	21,75	20,5
	Desvio padrão	1,47	1,47	1,75	1,6
	Mínimo	17	17	18,5	18,5
	Máximo	21	21	23	23
GII	Média	19,83	18,83	19,58	18,83
	Mediana	19,75	19,75	19,25	19
	Desvio padrão	1,51	3,56	1,69	2,14
	Mínimo	18	12	18	16
	Máximo	22	22	22	21

Tabela 22. Valores médios da variação do volume da circunferência (cm) dos membros direito (operado) e esquerdo (não operado), na altura das articulações fêmoro-tíbio-patelar, obtidos dos grupos do TIV, no período pré-operatório e na última avaliação clínica

Grupo	Varição na circunferência do membro operado	Varição na circunferência do membro não operado	
GI	Média	1,42	0,92
	Mediana	1,5	0,75
	Desvio padrão	1,24	1,5
	Mínimo	0	-1
	Máximo	3	3
GII	Média	-0,25	0
	Mediana	0	-0,5
	Desvio padrão	0,88	3,15
	Mínimo	-1,5	-2,5
	Máximo	1	6
	Efeito de interação	0,56	
Valor de p	Efeito de membro	0,84	0,18
	Efeito de grupo		

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas.

Apesar de Herontin et al. (2005) afirmar que a utilização de sulfato de condroitina e glucosamina como condroprotetores promove melhora de sintomas como claudicação e dor, no presente estudo não houve diferença significativa entre os grupos tratado e controle quanto aos graus de claudicação e sensibilidade dolorosa, o que também foi observado por Biasi et al. (2005) no tratamento com 240 mg de sulfato de condroitina, por via subcutânea, em cães com joelhos instáveis e por Clegg et al. (2006)

quando tratou osteoartrite em humanos utilizando as mesmas substâncias.

A melhora na locomoção foi verificada por Canaap et al. (1999) a partir de 12 dias de tratamento pela via oral com sulfato de condroitina e glucosamina em sinovite induzida quimicamente na articulação radiocárpica de cão. Souza (1999), por sua vez, promoveu abrasão cartilaginosa do sulco troclear de cães e também referiu melhora na função do membro após 15 dias de tratamento com precursores glicosaminoglicanos administrados pela via oral. A disparidade entre os resultados deste trabalho e os dados disponíveis na literatura confirmam a suposição de Herontin et al. (2005), de que todos os resultados positivos associados ao tratamento com sulfato de condroitina e glucosamina são obtidos a partir de preparações farmacêuticas particulares não padronizadas, onde não existem garantias sobre a sua composição, farmacocinética e farmacodinâmica e, portanto, os resultados não podem ser extrapolados para qualquer formulação de condroprotetor. Além disso, a interpretação da sensibilidade dolorosa é considerada subjetiva, o que gera mais controvérsias em relação aos resultados dos tratamentos com glicosaminoglicanos.

De acordo com os resultados, percebe-se que as alterações no volume da articulação do membro operado se manifestaram de forma semelhante nos quatro tratamentos e, quando ocorreu diferença significativa, elas se deram somente entre os momentos avaliados, independentemente do grupo. Em todos os animais, o aumento de volume a partir do primeiro dia de pós-operatório foi associado ao edema decorrente da manipulação dos tecidos durante a cirurgia. As observações seguintes revelaram redução gradativa no volume até o 15º dia de pós-operatório, em virtude da evolução do processo de reparação, quando, segundo Woodard (2000), ocorre organização do hematoma inicial e formação do tecido de granulação. A partir do 15º dia foram observadas pequenas reduções no valor da circunferência da articulação. No entanto, a média desta variável ao final dos tratamentos indica que o volume do membro operado, na maioria dos casos,

não regrediu até ao valor observado no momento pré-operatório, o que pode ser associado com o processo de cicatrização e regeneração dos tecidos moles, principalmente em decorrência da manipulação cirúrgica da cápsula articular, o que está de acordo com os relatos de Johnson et al. (1997) e Serrato et al. (2007).

Foi constatado diminuição no volume da articulação não operada nos animais de TIII e TIV entre o início e término do tratamento, entretanto, quando ocorreu diferença significativa, ela foi independente do grupo. Este achado pode estar associado ao maior período de confinamento ao qual os animais de TIII e TIV foram submetidos para coleta dos dados, havendo restrição de atividade física e conseqüente redução do tônus muscular. Resultados semelhantes foram relatados por Hoelzer et al. (2004) e Serrato et al. (2007).

A projeção radiográfica que proporcionou menor sobreposição de estruturas e melhor visibilização do defeito foi a mediolateral. Também foi a projeção de maior facilidade de execução, já que as outras necessitavam de hiperextensão ou flexão do joelho, causando desconforto aos animais e dificultando a realização da técnica. O exame radiográfico pré-operatório revelou que todos os animais eram adultos e não apresentavam nenhuma alteração radiográfica na articulação do joelho (Figura 2A).

Nas radiografias do pós-operatório imediato de indução da lesão, observou-se, em todos os animais, uma área circular de diminuição de radiopacidade (grau 1) no côndilo femoral lateral. Esta alteração está relacionada à curetagem do osso subcondral com conseqüente substituição de tecido radiopaco (tecido ósseo) por tecido radiotransparente (coágulo). A área circular de diminuição de radiopacidade na região do côndilo femoral lateral observada nas radiografias do pós-operatório imediato continuou visível ao término dos tratamentos (Figuras 2B, 2C, 2D, 2E e 2F), independente do grupo.

Não foram observadas alterações radiográficas compatíveis com DAD em

nenhum dos animais, contrariando as observações de Pearson (1971), Heffron & Campbell (1979), Vasseur & Berry (1992) e Biasi et al. (2005), que notaram a presença de osteófitos, entesiófitos e erosão do osso subcondral em cães com DAD, que foram mais acentuadas nos animais não tratados com sulfato de condroitina (Biasi et al., 2005). A discrepância entre os dados explica-se pelo fato de que, neste estudo, optou-se por provocar uma lesão aguda, caracterizada pela retirada de um fragmento de cartilagem articular, enquanto que os autores citados induziram a instabilidade articular do joelho, o que culmina numa lesão crônica que, por sua vez, degenera progressivamente a cartilagem e gera os sinais radiográficos compatíveis com DAD.

Ressalta-se que, muitas vezes, a radiografia não possibilita a identificação de lesões características de DAD (Dahlberg, 1994), principalmente em seu estágio inicial, caracterizando este método como de baixa eficiência para o diagnóstico precoce da doença (Listrat et al., 1997; Miller & Clegg, 2011). Embora a radiografia seja um método de baixo custo e de ampla acessibilidade pelos médicos veterinários, sua sensibilidade no diagnóstico da DAD é inferior em comparação às técnicas como artroscopia (Arias et al., 2003), tomografia computadorizada e imagem por ressonância magnética (Mrosek et al., 2006; Martel-Pelletier et al., 2008). Estas técnicas possibilitam a visualização das estruturas intrarticulares sem sobreposição de outros tecidos, sendo que, no caso da imagem por ressonância magnética, é possível ainda avaliar a cartilagem e suas possíveis fissuras de forma quantitativa (Martel-Pelletier et al., 2008; Crema et al., 2011).

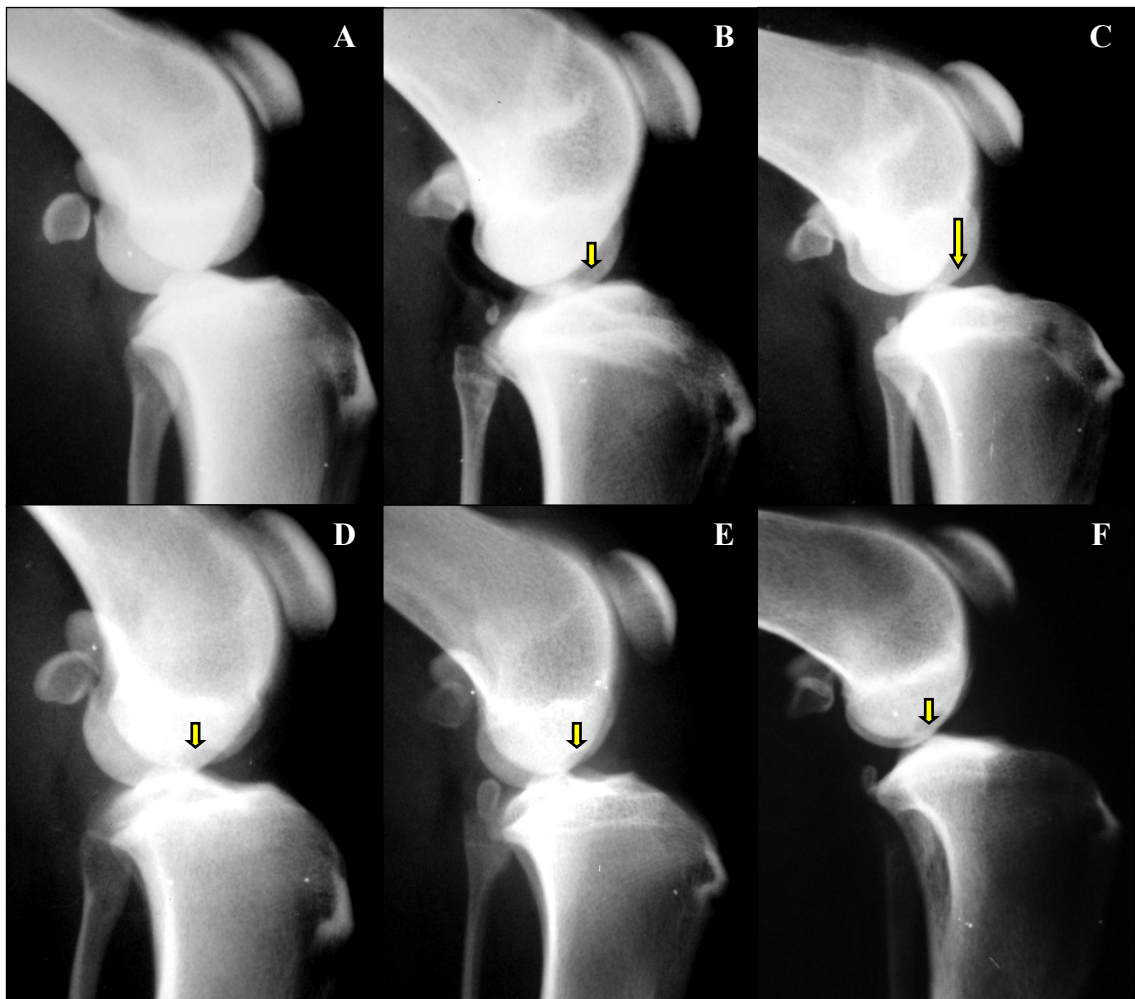


Figura 2. Projeções radiográficas médio-laterais do joelho de cães submetidos à cirurgia de indução de defeito osteocondral na região do côndilo lateral femoral, para realização de estudo sobre influência de nutracêutico condroprotetor na reparação da cartilagem articular. A – Exame radiográfico pré-operatório evidenciando padrão radiográfico normal da articulação do joelho; B – Área circular de diminuição de radiopacidade (seta) imediatamente após ao término do procedimento cirúrgico; C – Área circular de diminuição de radiopacidade (seta) aos 15 dias de pós-operatório; D – Área circular de diminuição de radiopacidade (seta) aos 30 dias de pós-operatório; E – Área circular de diminuição de radiopacidade (seta) aos 60 dias de pós-operatório; F – Área circular de diminuição de radiopacidade (seta) aos 90 dias de pós operatório.

Os resultados deste estudo, portanto, suportam a afirmação de Wandel et al. (2010), de que o efeito dos condroprotetores nutracêuticos no controle da dor, melhora na função dos membros e retardo dos sinais radiográficos da DAD é mínimo na melhor das hipóteses.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados deste estudo e na forma em que ele foi conduzido, concluí-se que o condroprotetor, na dosagem, formulação e período de administração utilizados, não proporcionou melhora dos sinais clínicos e não influenciou no processo

de reparação dos defeitos osteocondrais, visto que os grupos tratado e controle apresentaram aspecto radiográfico idêntico ao término dos tratamentos.

REFERÊNCIAS

Arias SSA, Rezende CMF, Melo EG, Nunes VA & Correa JC (2003). Avaliação radiológica e artroscópica e histologia da membrana sinovial do joelho de cães tratados com sulfato de condroitina e hialuronato de sódio, após doença articular degenerativa induzida experimentalmente (2003). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 55:421-429.

Biasi F, Rahal SC & Volpi JL (2005). Reconstrução do ligamento cruzado em cães, associado ou não ao sulfato de condroitina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 57: 442-447.

Canapp SOJ, Mclaughlin RMJ, Hoskinson JJ, Roush JK, Butine MD (1999). Scintigraphic evaluation of dogs with acute synovitis after treatment with glucosamine hydrochloride and chondroitin sulfate. *American Journal of Veterinary Research*, 60:1552-1557.

Chard J & Dieppe P (2001). Glucosamine for osteoarthritis: magic, hype or confusion? *British Medical Journal*, 322:1439-1440.

Clegg DO, Reda DJ, Harris CL, Klein MA, O'Dell JR, Hooper M, Bradley JD, Bingham III CO, Weisman MH, Jackson, CG Lane NE, Cush JJ, Moreland LW, Schumacher HRJ, Oddis CV, Wolfe F, Molitor JA, Yocum DE, Schnitzer TJ, Furst DE, Sawitzke AD, Shi H, Brandt KD, Moskowitz RW & Williams HJJ (2006).

Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *The New England Journal of Medicine*, 354:795-808.

Crema MD, Roemer FW, Marra MD, Burstein D, Gold GE, Eckstein F, Baum T, Mosher TJ, Carrino JA & Guermazi A (2011). Current MR imaging techniques and applications in clinical practice and research¹. *Radiographics*, 31:37-61.

Dahlberg L (1994). Intraarticular injections of hyaluronan in patients with cartilage abnormalities and knee pain: A one year double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis and Rheumatism*, 37:521-528.

Heffron LE & Campbell JR (1979). Osteophyte formation in the canine stifle joint following treatment for rupture of the cranial cruciate ligament. *Journal of Small Animal Practitioners*, 20:603-611.

Henrotin Y, Sanchez C & Balligand M (2005). Pharmaceutical e nutraceutical management of canine osteoarthritis: present and future perspectives. *The Veterinary Journal*, 170:113-123.

Hoelzer MG, Milis DL, Francis DA & Weigel JP (2004). Results of arthroscopic versus open arthrotomy for surgical management of cranial cruciate ligament-deficient in dogs. *Veterinary Surgery*, 33:146-153.

Johnson AL & Dunning DD (2005). *Atlas of Orthopedic Surgical Procedures of the Dog and Cat*. Philadelphia: Saunders. p.52.

- Johnson JM, Johnson AL, Pijanowski GJ, Kneller SK, Schaeffer JM & Eurell JA (1997). Rehabilitation of dogs with surgically treated cranial cruciate ligament-deficient stifles by use of electrical simulation of muscles. *American Journal of Veterinary Research*, 58:1473-1478.
- Listrat V, Ayrat X & Partanello F (1997). Evaluación artroscópica de un potencial efecto modificador por el hialuronato de la estructura en artrosis de rodilla. *Osteoarthritis and Cartilage*, 153-160.
- Martell-Pelletier J, Boileau C, Pelletier JP & Roughley PJ (2008). Cartilage in normal and osteoarthritis conditions. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 22:351–384.
- Miller KL & Clegg DO (2011). Glucosamine and chondroitin sulfate. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 37:103-118.
- Mrosek EH, Lahm A, Erggelet C, Uhl M, Kurz H, Eissner B & Schagemann JC (2006). Subchondral bone trauma causes cartilage matrix degeneration: an immunohistochemical analysis in a canine model. *Osteoarthritis and Cartilage*, 14:171-178.
- Pavelka K, Gatterová J, Olejarová, Machacek S, Giacobelli G & Rovati LC (2002). Glucosamine sulfate use and delay of progression of knee osteoarthritis: a 3-year, randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Archives of Internal Medicine*, 162:2113-2123.

Pearson PT (1971). Ligamentous and meniscal injuries of the stifle joint. *Veterinary Clinical North America Small Animal Practitioners*, 1:489-498.

Reginster JY, Derosity R, Rovati LC, Lee RL, Lejeune E, Bruyere O, Giacobelli G, Henrotin Y, Dacre, JE & Gosset C (2001). Long-term effects of glucosamine sulphate on osteoarthritis progression: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Lancet*, 357:251-256.

Sawitzke AD, She H, Finco MF, Dunlop DD, Harris CL, Singer NG, Bradley JD, Silver D, Jackson CG, Lane NE, Oddis CV, Wolfe F, Lisse J, Furst DE, Bingham CO, Reda DJ, Moskowitz RW, Willians HJ & Clegg DO (2010). Clinical efficacy and safety of glucosamine, chondroitin sulfate, their combination, celecoxib or placebo taken to treat osteoarthritis of the knee: 2-yr results from GAIT. *Annals of The Rheumatic Diseases*, 69:1459-1464.

Sena MP (2006). Fratura Tibial e Fibular de Cão Tratada com Grampo de Aço Associado à Cerclagem Completa Comparado à Fixação com Placa de Neutralização. *Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 68p.*

Serrato AAS, Rezende CMF & Melo EG (2007). Desempenho clínico de perros com enfermedad articular degenerativa de rodilla tratados con ácido hialurônico y sulfato de condroitina. *Veterinária México*, 38:331-345.

Souza RL (1999). Precursores de glicosaminoglicanos na reparação articular após trauma iatrogênico em joelhos de cães. *Clínica veterinária*, 23:33-38.

Towheed T, Maxwell L, Anastassiades TP, Shea B, Houput JB, Welch V, Hochberg MC & Wells GA (2005). Glucosamine therapy for treating osteoarthritis. Cochrane Database of Systematic Reviews. Disponível em: <http://hopesciencevet.com/wordpress/wpcontent/uploads/2010/08/Cochrane_glucosamine_reviw.pdf>. Acessado em: 09/02/2011.

53

Vasseur PB & Berry CR (1992). Progression of stifle osteoarthritis following reconstruction of the cranial cruciate ligament in 21 dogs. Journal of the American Animal Hospital Association, 28:129-136.

Wandel S, Juni P, Tendal B, Nüesch E, Villiger PM, Welton NJ, Reichenback S & Trelle S (2010). Effects of glucosamine, chondroitin, or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: network meta-analysis. British Medical Journal

Woodard JC (2000). Sistema esquelético. Patologia Veterinária. São Paulo: Manole. p.913-961.

Capítulo III

Sulfato de condroitina e glucosamina na
reparação de defeitos osteocondrais
experimentais em cães – Análises
macroscópica, histológica e morfométrica

**Revista para submissão: Arquivo Brasileiro de medicina
Veterinária e Zootecnia**

ISSN:0102-0935

Sulfato de condroitina e glucosamina na reparação de defeitos osteocondrais experimentais em cães – Análises macroscópica, histológica e morfométrica

Glucosamine and chondroitin sulfate in the repair of experimental osteochondral defects in dogs - Macroscopic, histological and morphometric analysis

Renato Barros Eleotério¹⁶, Andréa Pacheco Batista Borges¹⁷, Kelly Cristine de Sousa Pontes¹⁸, João Paulo Machado¹⁹, Priscila Ferreira Soares²⁰, Mariana Brettas Silva²⁰, Naira Jandafet Sampaio Martins²⁰, Natália Alves Fernandes²⁰

RESUMO

As afecções da cartilagem articular são associadas a prognóstico reservado, pela dificuldade de regeneração e evolução para doença degenerativa. Na tentativa de prevenir lesões e reduzir uso de antiinflamatórios não esteroidais, substâncias como glucosamina e sulfato de condroitina foram classificadas como condroprotetoras. Sabe-se que tais substâncias administradas pela via oral podem alcançar a cartilagem. Porém, os detalhes bioquímicos deste processo não estão completamente entendidos e novas investigações são necessárias, pois ainda não se conseguiu retardar a degeneração de forma satisfatória. Além disso, os nutracêuticos veterinários possuem somente registro do Serviço de Inspeção Federal, o qual inspeciona o modo de fabricação, mas não exige testes de eficácia e segurança. A carência destes testes exigidos pelo Ministério da Agricultura para comprovação da eficácia e segurança de medicamentos veterinários gera mais dúvidas quanto à eficiência destes produtos. Neste contexto, objetivou-se avaliar a eficácia de um suplemento nutricional veterinário a base de sulfato de condroitina e glucosamina na reparação de defeitos osteocondrais experimentais no côndilo lateral femoral de cães, através de análises macroscópica, histológica e morfométrica. Os resultados mostraram que o condroprotetor, na dosagem, formulação e período de administração utilizados, não influenciou a proliferação de condrócitos e nem a regeneração da arquitetura hialina.

¹⁶Médico Veterinário. Mestrando do Departamento do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Veterinária (DVT), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG. Telefone: (11) 8789-7756. Endereço eletrônico: renato_ufv@hotmail.com. Autor para correspondência.

¹⁷ Professora de Cirurgia do DVT/UFV, Viçosa, MG.

¹⁸Médica Veterinária, Doutora em Medicina Veterinária. Professora da União de Ensino Superior de Viçosa (UNIVIÇOSA).

¹⁹ Médico Veterinário. Doutorando do Departamento do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, DVT/UFV, Viçosa, MG.

²⁰Graduandas em Medicina Veterinária, DVT/UFV, Viçosa, MG.

Palavras chave: Doença articular degenerativa, osteoartrite, condroprotetor, sulfato de condroitina, glicosamina, cão.

ABSTRACT

The diseases of articular cartilage have poor prognosis due to its difficult regeneration and great possibility of progression to degenerative disease. In an attempt to prevent injury and reduce the use of anti-inflammatory drugs, substances such as glucosamine and chondroitin sulfate were studied and classified as chondroprotective. It is known that such substances administered as nutraceuticals can pass through the gastrointestinal tract and reach the cartilage, however, more research is needed, because it is not possible yet to stop or slow the degenerative process satisfactorily. In addition, veterinary nutraceuticals have only record in the Federal Inspection Service, which oversees the manufacturing but does not certify their safety and efficacy. The lack of testing required by the Ministry of Agriculture to certify safety and efficacy of veterinary medicines raises more doubts about the effectiveness of these products. In this context, this study aimed to evaluate the efficacy of a veterinary nutraceutical chondroprotective based on chondroitin sulfate and glucosamine in the repair of osteochondral defects in the femoral condyle of dogs, through macroscopic, histology and morphology analysis. The results showed that the chondroprotective, dosage, formulation and administration period of time used did not influence the proliferation of chondrocytes nor the regeneration of hyaline architecture.

Keywords: Degenerative joint disease, osteoarthritis, chondroprotective, chondroitin sulfate, glucosamine, dog.

INTRODUÇÃO

As afecções da cartilagem articular são associadas a prognóstico reservado, devido à dificuldade de regeneração da cartilagem hialina e à elevada probabilidade de evolução para doença articular degenerativa (DAD), resultando em hipofunção da articulação e comprometendo o desempenho e o bem estar do animal (OLSSON, 1993).

Na tentativa de prevenir o surgimento de lesões, de retardar a progressão da DAD e de reduzir o uso de antiinflamatórios não esteroidais (AINES) no tratamento desta doença, diversas substâncias foram estudadas e classificadas como condroprotetoras.

Os condroprotetores são produtos compostos por agentes semelhantes aos componentes da matriz cartilaginosa e têm sido muito empregados no tratamento da DAD na medicina veterinária. Eles possuem ação antiinflamatória e são capazes de

reduzir a perda de proteoglicanos e colágeno pela inibição de enzimas degradativas da cartilagem, além de terem ação estimulatória sobre a síntese de proteoglicanos e colágeno, promovendo aumento na proliferação de condrócitos e da matriz (CLARK, 1991). Tais efeitos sugerem que os condroprotetores podem ser importantes no controle das alterações patológicas da cartilagem e podem complementar o tratamento da DAD (CLARK, 1991; BIASI et al., 2005). Dentre as substâncias com propriedades condroprotetoras, destacam-se a glucosamina e o sulfato de condroitina (VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997).

Estudos farmacocinéticos realizados em animais e humanos mostraram que 70% do sulfato de condroitina é absorvido quando administrado pela via oral (CONTE et al., 1995), e que sua biodisponibilidade absoluta (quantidade da fórmula farmacêutica que efetivamente chega à circulação sistêmica) está em torno de 5 a 15% (ADEBOWALE et al., 2002). Esta substância é administrada com um peso molecular relativamente baixo, o que é importante para sua absorção intestinal (CONTE et al., 1995), e, posteriormente, é despolimerizada, mas não totalmente degradada (VOLPI, 2002). A glucosamina por sua vez é melhor absorvida, aproximadamente em 90%, proporcionando biodisponibilidade absoluta de 12 a 44% (ADEBOWALE et al., 2002). A glucosamina é parcialmente degradada e persistentemente incorporada à cartilagem articular (SETNIKAR & ROVATI, 2001).

A associação de glucosamina e sulfato de condroitina é mais efetiva do que seu uso isolado em modelos experimentais de DAD (OMATA, et al., 1999), sendo que os ensaios clínicos em animais (BEREN et al., 2001) e humanos (LEFFLER et al., 1999) indicaram que a terapia combinada é efetiva e permite reduzir o uso de antiinflamatórios não esteroidais em pacientes com DAD.

Estudos *in vivo* em coelhos indicam que a glucosamina e o sulfato de condroitina são candidatos à classificação de agentes modificadores da DAD. Em um destes estudos, dieta suplementada com glucosamina e sulfato de condroitina proporcionou preservação da matriz e diminuição da progressão de alterações degenerativas em coelhos com DAD induzida por modelo de instabilidade. Tais achados caracterizaram resposta benéfica que foi atribuída ao efeito dessas substâncias. Testes *in vitro* confirmaram que a glucosamina e o sulfato de condroitina exógenos (radioativamente marcados) são, de fato, usados pelos condrócitos na construção da matriz extracelular (NOYSZEWSKI et al., 2001). Portanto, a administração de glucosamina em quantidade suficiente pode impulsionar a síntese de glicosaminoglicanos em condrócitos degenerados se a glucosamina endógena for um fator limitante (OEGEMA et al., 2002) e/ou se a glicosil e/ou sulfotransferases,

enzimas que adicionam unidades de açúcar e grupos sulfatados às cadeias de glicosaminoglicanos em crescimento, estiverem em baixos níveis (GOUZE et al., 2001). Adicionalmente, Blitterswijk et al. (2003) especulam que o sulfato de condroitina, com grupos sulfatado já anexados, pode ajudar a restaurar a sulfatação de glicosaminoglicanos degenerados. Uma condição é que suas unidades de N-acetilgalactosamina-sulfato sejam liberadas na célula e, em seguida, sirvam como substrato para a glicosiltransferase no complexo de Golgi, hipótese que os mesmos autores referem necessitar de outros testes experimentais.

Pode-se dizer que a glucosamina e o sulfato de condroitina administrados pela via oral podem passar pelo trato gastrointestinal e alcançar a cartilagem articular. No entanto, os detalhes bioquímicos desta opção terapêutica ainda não estão completamente entendidos e novas investigações são necessárias (BLITTERSWIJK et al., 2003), uma vez que ainda não se conseguiu impedir ou retardar o processo degenerativo de forma satisfatória (MELO et al., 2008a).

Além disso, diferentemente do que ocorre com os produtos humanos, que possuem certificação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os nutracêuticos condroprotetores veterinários possuem em seu rótulo somente o registro do Serviço de Inspeção Federal – SIF, o qual inspeciona o modo de fabricação do produto, mas não exige testes de eficácia e segurança. A carência destes testes exigidos pelo Ministério da Agricultura para comprovação da eficácia e segurança de medicamentos veterinários gera mais dúvidas quanto à eficiência das diferentes concentrações das substâncias ativas encontradas nas diferentes marcas, e resguarda a administração destes produtos aos animais na forma de suplemento nutricional e de comercialização independente de prescrição veterinária.

Neste contexto, objetivou-se com este estudo experimental avaliar a eficácia de um suplemento nutricional veterinário comercial, a base de sulfato de condroitina e glucosamina, na reparação de defeitos osteocondrais provocados experimentalmente no côndilo lateral femoral de cães, utilizando-se as análises macroscópica, histológica e morfométrica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 48 cães, sem raça definida, esqueleticamente adultos à confirmação radiográfica, com peso variando entre 10 e 25 kg, provenientes do canil experimental do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (DVT-

UFV). Os animais selecionados foram vacinados com vacina ócupla²¹ e previamente tratados, em baias coletivas isoladas daquelas que passaram o período experimental, com vermífugo²² a base de albendazol, praziquantel e pirantel (dose única oral de um comprimido para cada 10 kg de peso), ivermectina²³ e carrapaticida²⁴ (fipronil *pour on* na dose de 1ml/10kg). Após esse tratamento prévio, os cães foram alojados em outras baias coletivas, e continuaram recebendo ração comercial específica para cães uma vez ao dia e água *ad libitum*.

O projeto deste estudo experimental foi enviado ao comitê de ética do (DVT-UFV) e obteve parecer favorável, certificado pelo processo nº18/2008. As normas de conduta para o uso de animais no ensino, pesquisa e extensão do DVT/UFV foram rigorosamente seguidas, sob coordenação do médico veterinário Renato Barros Eleotério, CRMV/SP-27971.

Os 48 animais foram distribuídos aleatoriamente entre quatro tratamentos (I, II, III e IV), de acordo com o período de pós-operatório e contendo cada um deles 12 animais. Dentro de cada tratamento, os animais foram separados em dois grupos (GI e GII) de números iguais. Os animais do GI constituíram o grupo tratado, enquanto o GII representou o grupo controle. A Tabela 1 mostra o detalhamento dos tratamentos e grupos experimentais.

Tabela 1. Detalhamento dos grupos experimentais

Tratamento	Número de animais	Período de observação após indução da lesão
TI	12 (6 tratados e 6 controles)	15 dias
TII	12 (6 tratados e 6 controles)	30 dias
TIII	12 (6 tratados e 6 controles)	60 dias
TIV	12 (6 tratados e 6 controles)	90 dias

Para a confecção do defeito osteocondral, utilizou-se o acesso recomendado por Johnson & Dunning (2005) para desvio medial da patela e exposição do sulco troclear em cães e gatos, tornando possível delimitar o fragmento de cartilagem, por meio de *punch* de 6mm de diâmetro, o qual, em seguida, foi retirado com lâmina de bisturi número 15. Em seguida, a região delimitada foi curetada até obtenção de sangramento, o que indica ter atingido o osso subcondral e criação do defeito osteocondral (Figura 1),

²¹ Imuno-Vet[®] – BioVet – Vargem Grande Paulista – SP - Brasil

²² Rico Composto[®] - Ouro-Fino – Cravinhos – SP - Brasil

²³ Ivomec[®] – Merial – Campinas – MG - Brasil

²⁴ Top Line[®] – Merial – Paulínia – SP - Brasil

conforme as recomendações de Eleotério (2011)²⁵.

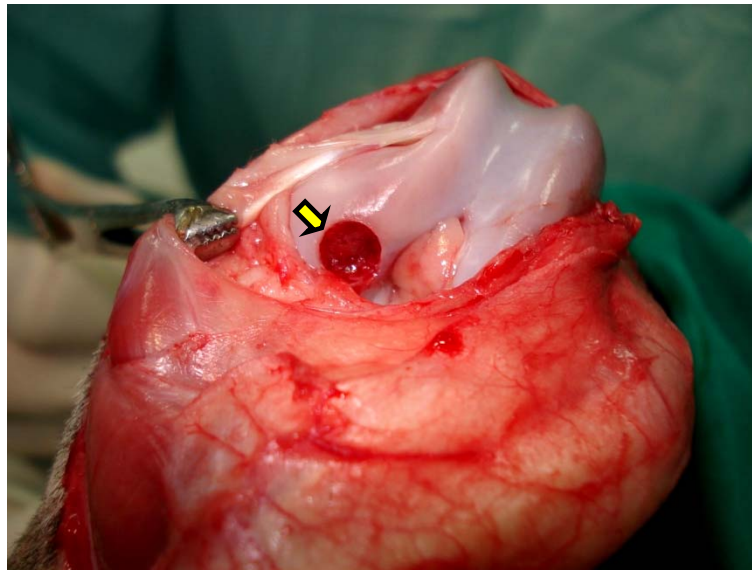


Figura 1. Fotografia de cõndilo femoral lateral direito de cão após a criação de lesão osteocondral. Notar lesão circular sem cartilagem e contendo sangue proveniente do osso subcondral (seta).

O nutracêutico condroprotetor utilizado possuía apresentação em tabletes palatáveis, contendo cada um deles 200 mg de sulfato de condroitina, 300 mg de glucosamina, 24 mg de palatilizante e 1200 mg de veículo q.s.p. Conforme as recomendações do fabricante, foi administrado um tablete a cada 24 horas aos cães com até 10 kg, dois tabletes aos cães com 11 a 20 kg e 4 tabletes aos cães com 21 a 30 kg de peso corporal. Todos os animais pertencentes ao GI receberam o nutracêutico diariamente, a partir do primeiro dia de pós-operatório e até completar o período do tratamento.

As biópsias contendo os defeitos osteocondrais foram realizadas ao término do período de observação de cada grupo experimental, ou seja: TI - biópsia aos 15 dias de pós-operatório; TII - biópsia aos 30 dias de pós-operatório; TIII - biópsia aos 60 dias de pós-operatório; TIV - biópsia aos 90 dias de pós-operatório. Para a obtenção destas amostras foi utilizado o mesmo acesso cirúrgico descrito para a realização do defeito osteocondral. Com auxílio de broca trefina de 8 mm de diâmetro (Figura 2A) acoplada à micro-retífica (Figura 2B), foi delimitado um fragmento cilíndrico contendo a área lesionada. Uma vez delimitado (Figura 2C), o fragmento foi retirado (Figura 2D) por meio de alavanca de instrumental odontológico. Durante a delimitação do fragmento, o tecido foi irrigado com solução fisiológica 0,9% para reduzir o aquecimento da

²⁵ Comunicação pessoal (Renato Barros Eleotério, 28 de fevereiro de 2011, Defesa de dissertação de Mestrado, Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa).

superfície óssea e evitar consequentes alterações no tecido neoformado. As amostras contendo a região correspondente ao defeito foram observadas macroscopicamente quanto ao seu preenchimento (tanto em altura quanto em extensão) e quanto ao aspecto do tecido presente e, em seguida, foram fixadas em formol tamponado 10%, por 24 horas, e armazenadas em álcool 70%.

Para a avaliação histológica, as amostras foram descalcificadas em ácido fórmico 10%, tamponado com citrato de sódio, em pH 4,5 e sob vácuo moderado. Posteriormente, foram incluídas em parafina, seccionadas em fragmentos de 5 µm de espessura e coradas pelos métodos de Hematolixilina & Eosina (HE), visando a análise histológica em microscópio óptico. Os resultados histológicos obtidos foram interpretados qualitativamente por análise descritiva, avaliando-se o padrão de regeneração tecidual com base nos graus de proliferação e diferenciação celular no tecido cicatricial e da neoformação cartilaginosa.

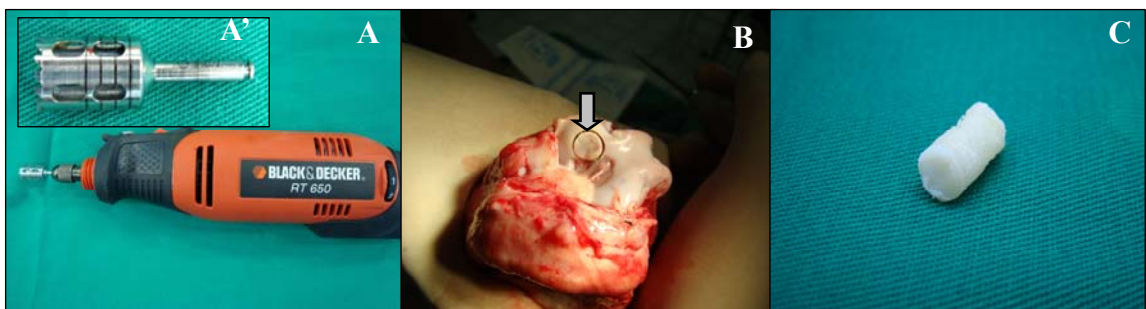


Figura 2. Procedimento de biópsia em côndilo lateral femoral contendo o defeito osteocondral. A - Motor de micro retifica com broca trefina acoplada; A' - Detalhe desmostrando a broca trefina; B - Lesão delimitada pelo equipamento de micro retifica (seta); C - Fragmento cilíndrico contendo o defeito, retirado por meio de alavanca, já fixado em formol tamponado 10%.

A obtenção de imagens fotográficas das amostras de todos os animais foi feita utilizando microscópio óptico acoplado à câmera digital própria para microscopia. O procedimento foi realizado de forma padronizada, respeitando-se sempre o mesmo aumento (400X) e as mesmas três áreas de captura de imagem, obtendo-se, portanto, três fotomicrografias de cada animal. A quantificação do tipo de tecido e células formadas foi possível por meio da utilização do *software* Image Pró Plus, o qual permitiu a inserção de três grades com 100 pontos de intersecção sobre cada fotomicrografia. Para esta análise quantitativa foram considerados somente o tipo de tecido ou célula correspondente a cada ponto de intersecção da grade, sendo que no total foram quantificados 900 pontos para cada amostra, uma vez que cada uma delas gerou três fotomicrografias e, em cada uma delas, colocaram-se três grades de 100 pontos. A partir da contagem dos 900 pontos gerou-se a porcentagem correspondente a cada tipo de

tecido, tornando possível submeter os dados ao teste estatístico não paramétrico de Mann-Whitney a 5% de nível de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O acesso cirúrgico parapatelar lateral possibilitou a visibilização do côndilo femoral lateral, permitindo delimitar o local exato de indução da lesão utilizando-se o *punch*. A utilização da lâmina de bisturi número 15 permitiu a excisão do fragmento cartilaginoso anteriormente delimitado de forma satisfatória. Já a curetagem não se mostrou um método eficaz para a finalização do defeito osteocondral, uma vez que ela deveria ser promovida até a obtenção de sangramento e foi constatada variação na quantidade de osso a ser curetado para ser observada esta hemorragia. Além disso, notou-se que o plano anestésico influenciava diretamente na obtenção do sangramento, de forma que demorava-se mais a obtê-lo quando o animal estava em plano anestésico profundo, sugerindo, portanto, que o método não foi eficaz para execução de defeitos padronizados.

O método utilizado para obtenção das biópsias foi eficiente para avaliar o processo de reparação do defeito osteocondral, no entanto, a avaliação da cartilagem adjacente não lesionada foi impossibilitada. Este fato pode ser explicado porque a broca trefina tinha apenas 8 mm de diâmetro, não permitindo coletar um fragmento muito maior do que os 6 mm correspondentes ao diâmetro da falha osteocondral.

Durante a cirurgia para obtenção do fragmento de biópsia, notou-se espessamento da cápsula articular (Figura 3), associado ao processo de cicatrização e regeneração decorrentes da manipulação cirúrgica. Este espessamento foi visível ao final do TI, mantendo-se até os 90 dias de pós-operatório.

No ato de coleta dos fragmentos dos animais do TI, observou-se que os defeitos osteocondrais estavam macroscopicamente preenchidos por um tecido de coloração rósea a avermelhada. O tecido possuía menor consistência do que a da cartilagem não lesionada ao toque digital, tanto em GI quanto em GII. Além disso, as bordas da cartilagem adjacente ao defeito apresentaram irregularidades e fendas (Figura 4A). Ao exame histológico, notou-se o preenchimento parcial do defeito por um tecido conjuntivo frouxo (Figura 5A), caracterizado por fibras orientadas paralelamente à superfície articular e infiltrado por células (Figura 5B) provenientes da medula óssea. Ao fundo do defeito, observaram-se vasos sanguíneos, células mesenquimais com características de condrócitos e numerosos osteoclastos (Figura 5C). Em um dos animais do GII, o tecido conjuntivo apresentou um crescimento menor e irregular na superfície

(Figuras 6A e 6B). Além disso, neste mesmo animal, na região mais profunda do defeito, havia maior área de resquícios de osso sofrendo ação de osteoclastos em comparação com os demais animais do TI (Figura 6C).

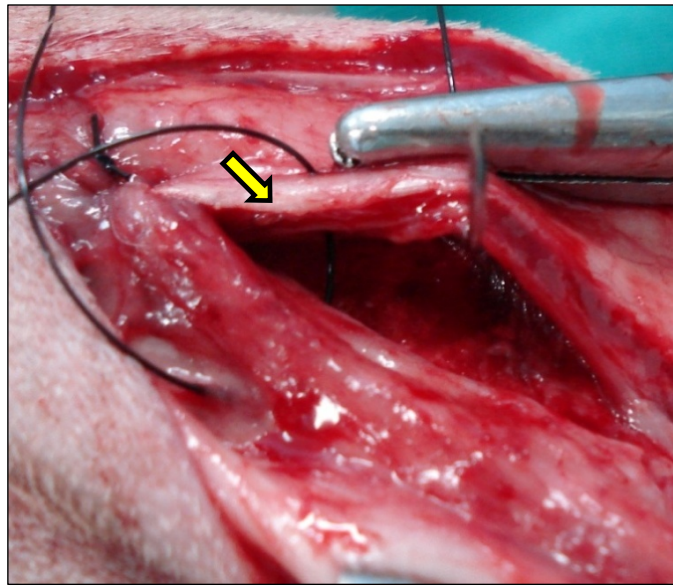


Figura 3. Fotografia de cápsula articular fibrosada de cão (seta), 15 dias após o procedimento cirúrgico de indução da lesão osteocondral.

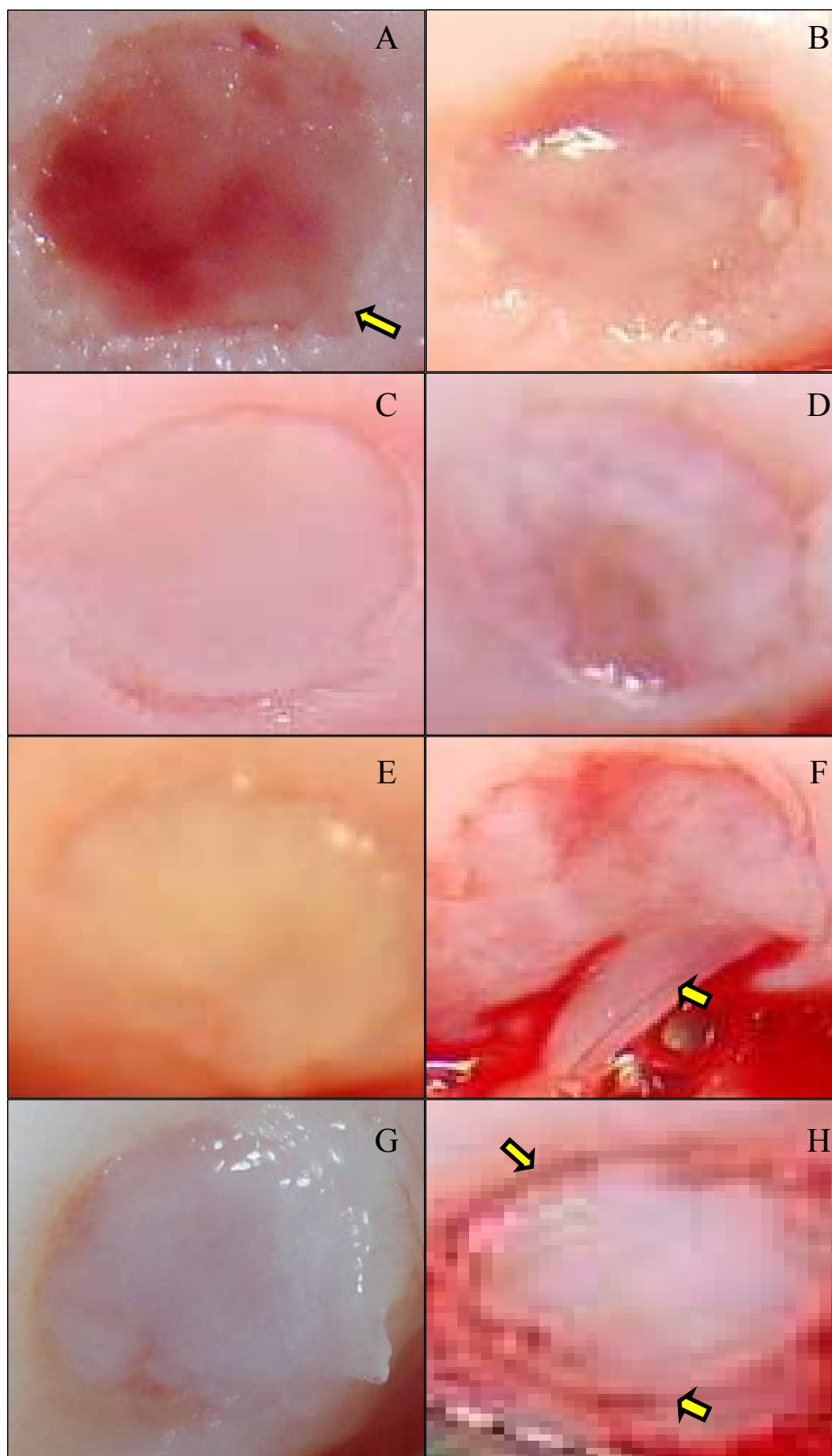


Figura 4. Fotografias de aspectos macroscópicos do defeito osteocondral em cômulo lateral femoral de cães. A – TI. Preenchimento por tecido róseo-avermelhado e presença de irregularidades na periferia da lesão (seta). B – TII. Preenchimento parcial por tecido esbranquiçado e presença de irregularidade das bordas do defeito, que ocorreram em ambos os grupos. C – TII. Animal do GI em que houve preenchimento total da área correspondente ao defeito, onde o tecido de reparação esbranquiçado se desenvolveu e se igualou à altura da cartilagem vizinha. Observar a presença da linha circular que delimita as margens do tecido de reparação. D – TIII. Preenchimento parcial por tecido esbranquiçado que ocorreu em ambos os grupos. E – TIII. Animal do GII em que houve preenchimento total da área correspondente ao defeito, onde o tecido de reparação esbranquiçado se desenvolveu e se igualou à altura da cartilagem vizinha. F – TIII. Animal do GI que apresentou aderência da membrana sinovial à superfície do tecido de reparação (seta). G – TIV. Preenchimento parcial por tecido esbranquiçado. H – TIV. Animal do GII em que houve preenchimento total da área correspondente ao defeito. Notar que mesmo quando houve preenchimento total, ainda era possível delimitar as margens do defeito (setas) ao final do tratamento.

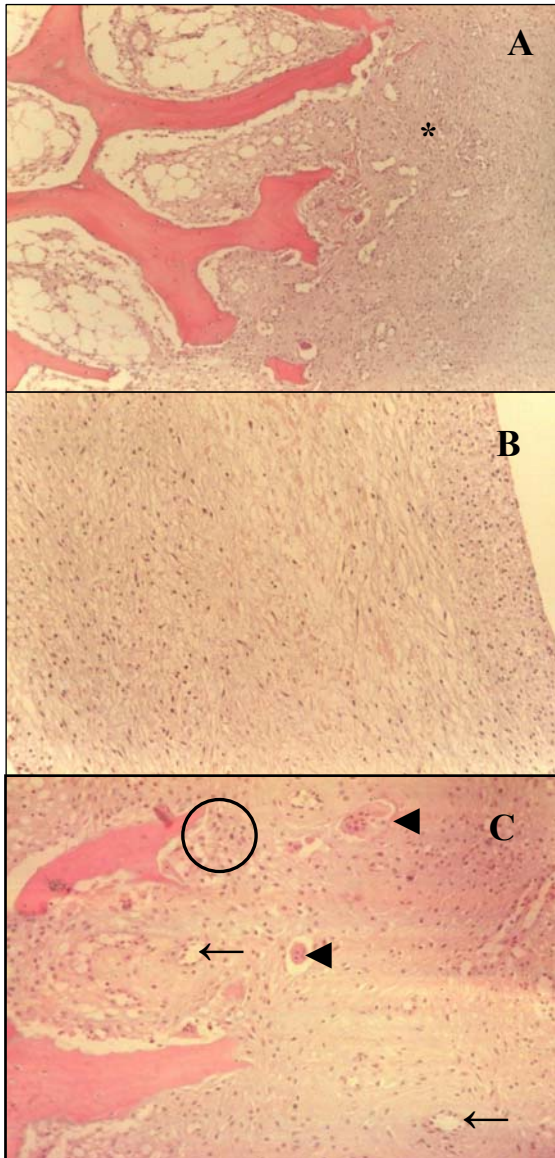


Figura 5. Fotomicrografias do tecido de reparação do defeito osteocondral em cômulo femoral lateral de cão ao término do T1. A - Preenchimento por tecido conjuntivo frouxo (*). H&E. 100X. B - Detalhe do tecido conjuntivo preenchendo o defeito dos animais do T1. H&E. 200X. C - Ao fundo do defeito, observa-se a presença de vasos sanguíneos (←), células mesenquimais condrocíticas (círculo) e osteoclastos (◄). H&E. 200X.

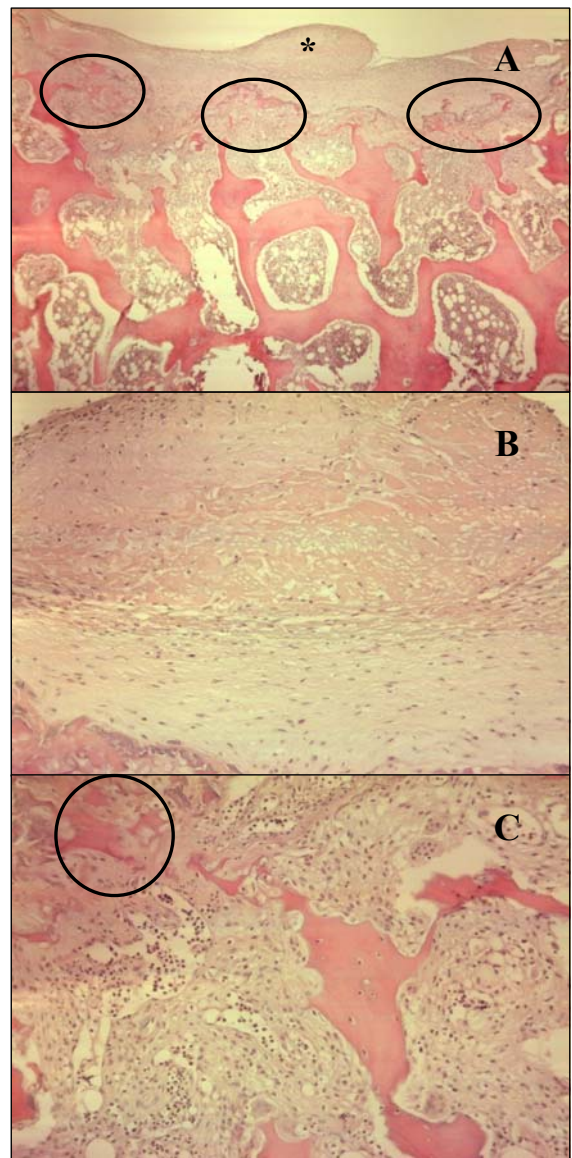


Figura 6. Fotomicrografias do tecido de reparação do defeito osteocondral em cômulo femoral lateral de um dos animais do GII ao término do T1. A - Menor crescimento do tecido de reparação que aquele observado nos outros animais, irregularidade na superfície do tecido conjuntivo frouxo (*) e com presença de maior área de resquícios (círculos) de cartilagem calcificada em comparação com os outros animais do T1. H&E. 40X. B - Detalhe do crescimento que ocorreu, particularmente, de forma mais desorganizada neste animal do GII. H&E. 200X. C - Detalhe da região mais profunda do defeito, com presença de resquícios (círculo) de cartilagem calcificada. H&E. 200X.

Na análise macroscópica ao término do TII, observou-se preenchimento do centro do defeito por um tecido de coloração esbranquiçada, além da presença de irregularidade e fendas nas bordas da lesão, tanto nos animais do GI quanto do GII. O

preenchimento foi considerado parcial em ambos os grupos, uma vez que o novo tecido ocupou o fundo do defeito, mas não se igualou à altura da cartilagem adjacente não lesionada (Figura 4B). Somente em um animal do GI houve o preenchimento total da área correspondente ao defeito, onde o tecido esbranquiçado neoformado se desenvolveu e se igualou à altura da cartilagem vizinha. Mesmo neste caso de preenchimento total ainda foi possível observar macroscopicamente uma linha circular que delimitava as margens da área lesionada (Figura 4C).

Microscopicamente, foi observado que o tecido de reparação que preenchia os defeitos criados nos animais do TII era constituído de fibrocartilagem (Figura 7A), cujas fibras da matriz extracelular se distribuíam paralelamente à superfície articular (Figura 7B). Na região correspondente ao fundo do defeito, observou-se a formação de osso subcondral pela diferenciação de células mesenquimais de aspecto condrocítico e grupos isógenos próximos aos vasos sanguíneos, com consequente início de formação de novo osso subcondral (Figuras 7C e 7D). Em um animal do GI e em três do GII, notou-se a presença de alterações degenerativas caracterizadas pela ocorrência de fendas na fibrocartilagem de reparação (Figura 8).

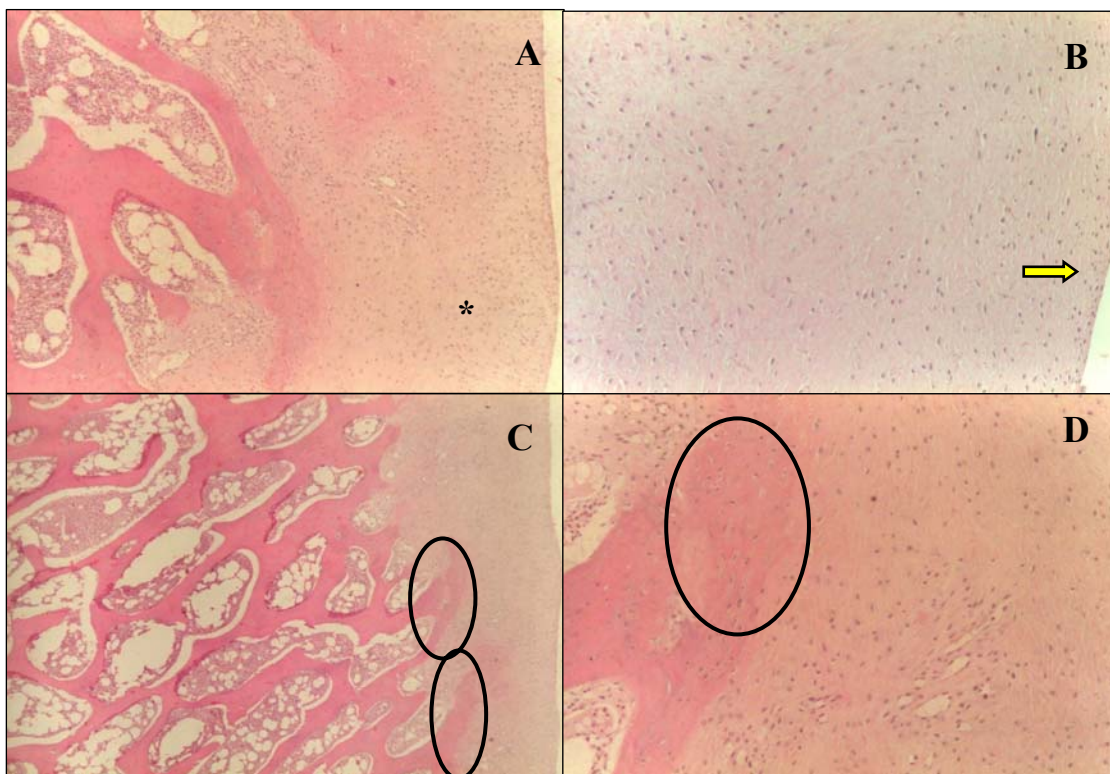


Figura 7. Fotomicrografias do tecido de reparação do defeito osteocondral em cômulo femoral lateral de cão ao término do TII. A – Tecido de reparação constituído de fibrocartilagem (*), que se desenvolveu na maioria dos animais do GI e do GII. H&E. 100X. B – Detalhe em maior aumento do tecido fibrocartilaginoso demonstrado em A, evidenciando a presença de condrócitos envolvidos por fibras da matriz extracelular dispostas paralelamente à superfície articular (seta). H&E. 200X. C – Formação de osso subcondral na região próxima aos vasos sanguíneos na região mais profunda do defeito (círculos). H&E. 40X. D – Detalhe em maior aumento do processo de neoformação de osso subcondral (círculo) que ocorreu de forma semelhante na maioria dos animais do TII. H&E. 200X.

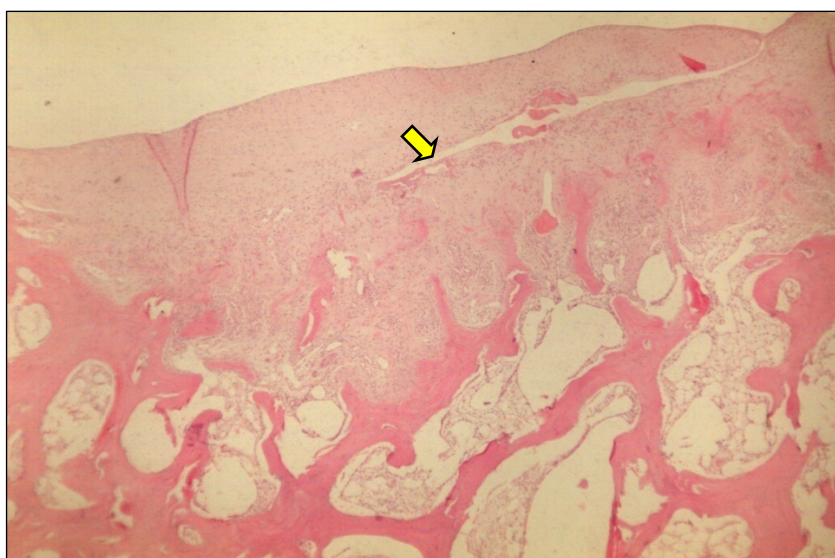


Figura 8. Fotomicrografia evidenciando presença de fenda (seta) no tecido de reparação do defeito osteocondral de cães, que ocorreu de forma semelhante em três animais do GII e em um do GI ao término do TII. H&E. 40X.

Macroscopicamente, foi observado que o tecido que preenchia a falha ao término do TIII também apresentava coloração esbranquiçada (Figura 4D), semelhante ao encontrado no TII. Embora não tendo atingido a altura da cartilagem adjacente não lesionada, este tecido se apresentou com maior crescimento e com consistência mais firme ao toque digital do que o observado nas biópsias do TII, dando aspecto semelhante ao de cartilagem hialina nas amostras do TIII. Em apenas um animal, que pertencia ao GII, o tecido de reparação se desenvolveu e atingiu a altura da cartilagem adjacente, e nele também foi possível delimitar as margens do defeito (Figura 4E).

Ainda na análise macroscópica, observou-se a aderência da membrana sinovial ao tecido de reparação em um animal do GI (Figura 4F), que também foi relatada por Souza et al. (2001) e Filgueiras (2008). Este fato está relacionado à projeção da membrana sobre a lesão, no intuito de recobrir a superfície e permitir que as células mesenquimais invadam o tecido, promovendo a reparação.

Embora fossem macroscopicamente semelhantes à cartilagem hialina, a análise histológica revelou que os defeitos foram predominantemente preenchidos por tecido fibrocartilaginoso tanto no GI quanto no GII (Figura 9A). As células condrocíticas e grupos isógenos, em sua maior parte, sofreram ossificação na região mais profunda do defeito (Figura 9B), proporcionando melhor padrão de organização das trabéculas de osso subcondral em comparação com o encontrado no TII. Outros achados em meio ao tecido de reparação incluem a presença de fibrócitos, vasos sanguíneos e condrocitos degenerados. Ainda que em ambos os grupos existisse a formação de novo osso subcondral, notou-se que no GI (Figura 10A) a neoformação ocorreu em maior área do que no GII (Figura 10B). Isto sugere que os animais do GI obtiveram um padrão de organização do osso subcondral superior àquele observado nos animais do GII. Notou-se, ainda, a presença de alterações degenerativas caracterizadas pela presença de fendas

na fibrocartilagem de um animal (Figura 10C) e superfície irregular em outro (Figura 10D), ambos do GII.

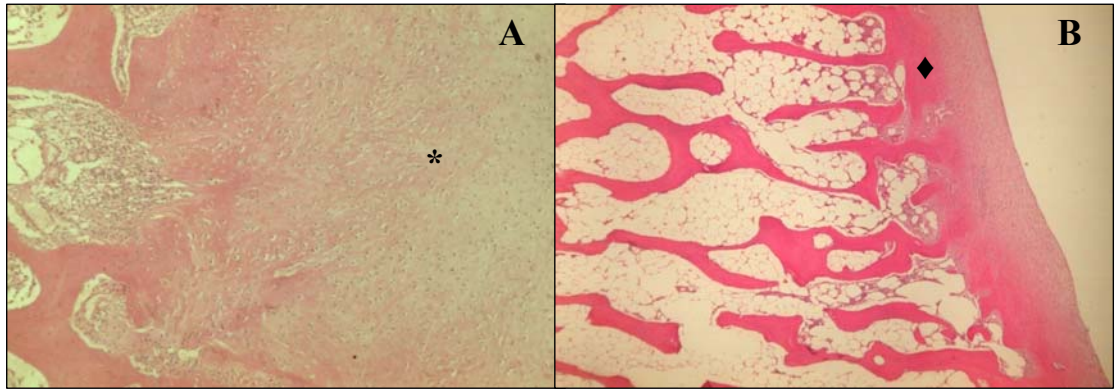


Figura 9. Fotomicrografias do tecido de reparação do defeito osteocondral em cômulo femoral lateral de cão ao término do TIII. A – Tecido de reparação constituído de fibrocartilagem (*). H&E. 100X. B – Ao fundo do defeito, células condrocíticas e grupos isógenos em sua maior parte sofreram ossificação (◆), proporcionando melhor padrão de reorganização de osso. H&E. 40X.

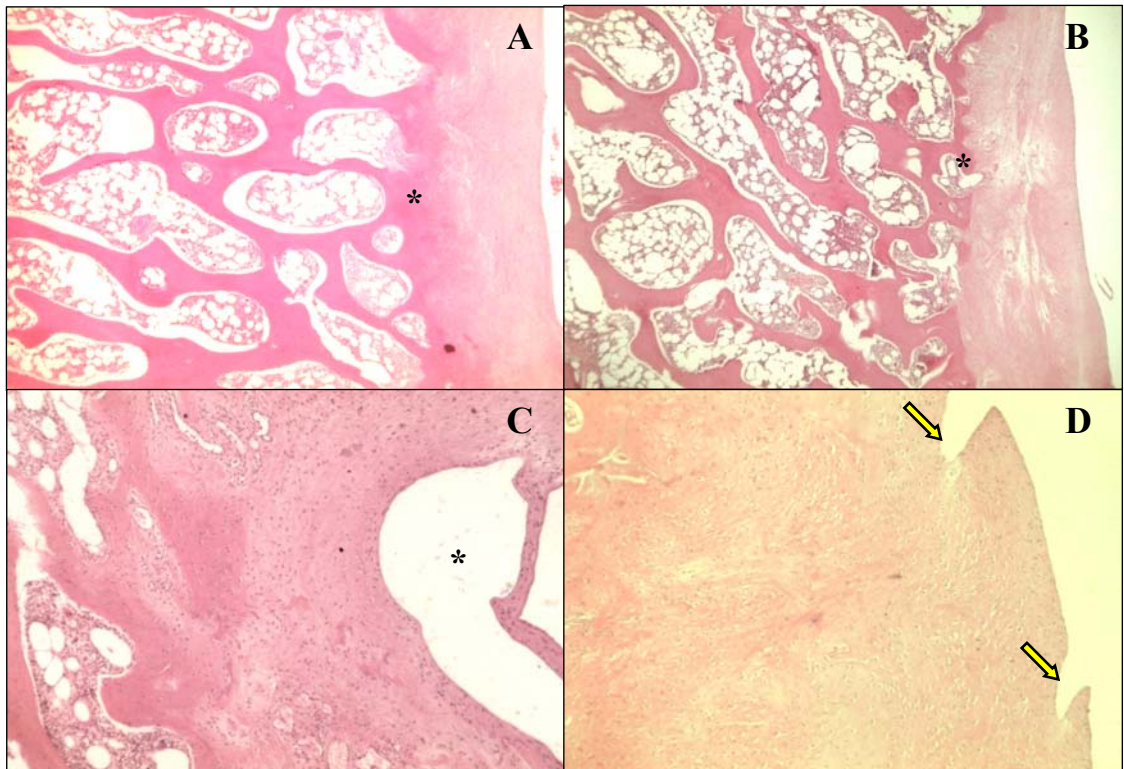


Figura 10. Fotomicrografias do tecido de reparação do defeito osteocondral em cômulo femoral lateral de cão ao término do TIII. A – Tecido de reparação (*) que se desenvolveu nos animais do GI. H&E. 40X. B – Tecido de reparação (*) que se desenvolveu nos animais do GII. H&E. 40X. Notar menor área aparente de neoformação de osso subcondral do que em A. C - Presença de fendas que se desenvolveram na superfície da fibrocartilagem em animal do GII (*). H&E. 100X. D – Tecido de reparação com superfície irregular, observado em animal do GII (seta). H&E. 100X.

No ato de coleta das biópsias do TIV, foi observado, tanto em GI quanto em GII, preenchimento do defeito por um tecido de coloração que variou de esbranquiçada a amarelada (Figura 4G), com consistência semelhante à da cartilagem hialina adjacente não lesionada ao toque digital. Em cinco animais do GI, este tecido de reparação se desenvolveu e atingiu a altura da cartilagem adjacente (Figura 4H), o que só foi observado em dois animais do GII. Assim como nos tratamentos anteriores, ainda foi possível delimitar as margens do defeito (Figura 4H).

A análise histológica das biópsias contendo o defeito revelou que a superfície do tecido de reparação dos animais do TIV era constituída predominantemente por fibrocartilagem (Figura 11A), que se desenvolveu tanto em GI quanto em GII. Na região mais profunda, houve formação de novo osso subcondral, o qual apresentou padrão de organização superior ao observado nos tratamentos anteriores, de forma que foi possível notar uma área contínua de osso subcondral já formado (Figura 11B). Entretanto, em maior aumento notou-se que a neoformação do osso subcondral não havia sido concluída, pois ainda era possível observar regiões a sofrer ossificação em meio ao tecido ósseo já formado (Figura 11C). A presença de linha de maré não contínua (Figura 12A) e de células com núcleos grandes e arredondados (condrócitos) na estrutura trabecular (Figura 12B), indicam não ter ocorrido deposição de cálcio sobre o molde de cartilagem que antecede à formação do osso. Isto confirma a hipótese de que a formação e reorganização do osso subcondral ainda não fora completada aos 90 dias de pós-operatório em ambos os grupos do TIV.

Ainda em relação à análise histológica do TIV, foi observado desenvolvimento de fibrocartilagem na superfície e de cartilagem hialina ao centro do defeito em um animal do GI. No entanto, este tecido hialino apresentou aspectos de degeneração, como picnose nuclear e lacunas vazias (Figura 12C). No GII, por sua vez, foi identificada fragmentação da camada mais superficial da fibrocartilagem de reparação (Figura 12D) em três animais.

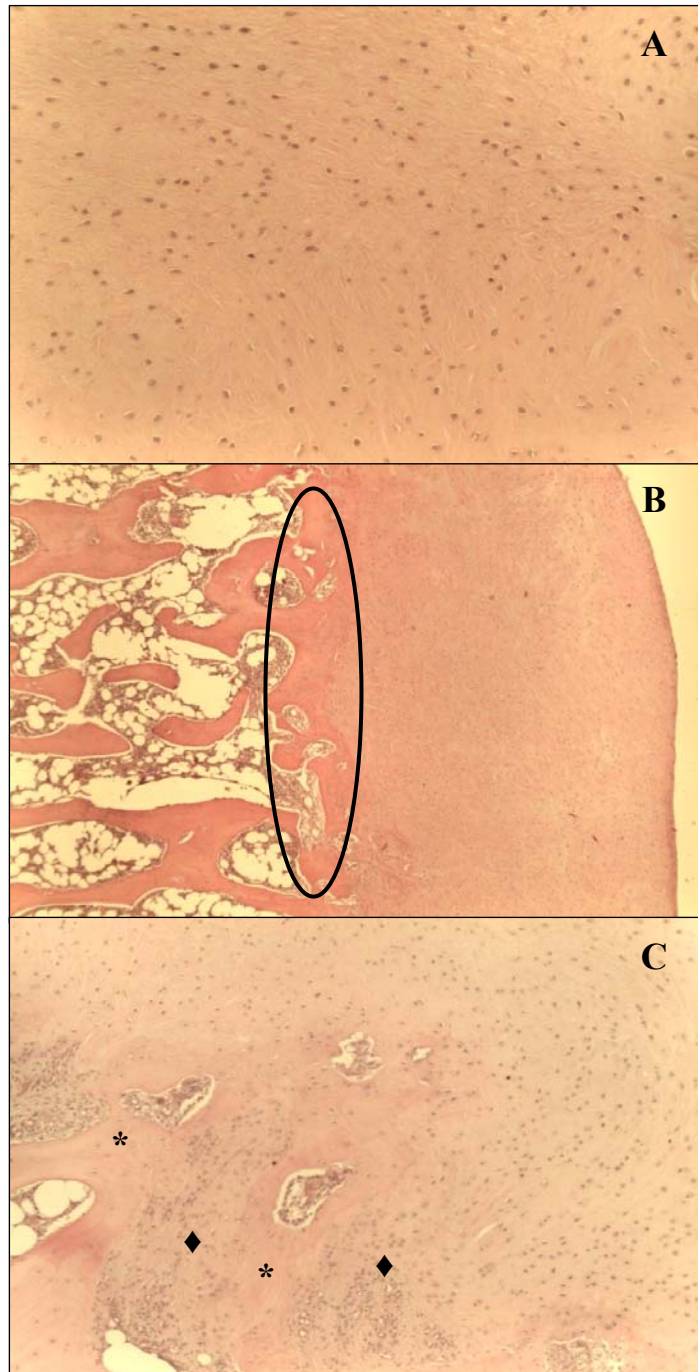


Figura 11. Fotomicrografias do tecido de reparação do defeito osteocondral em côndilo femoral lateral de cão ao término do TIV. A – Tecido de reparação constituído de fibrocartilagem. H&E. 200X. B – Neoformação de osso subcondral de forma contínua (área circulada). H&E. 40X. C - Presença de regiões a sofrer ossificação (♦) em meio ao tecido ósseo já neoformado (*). H&E. 100X.

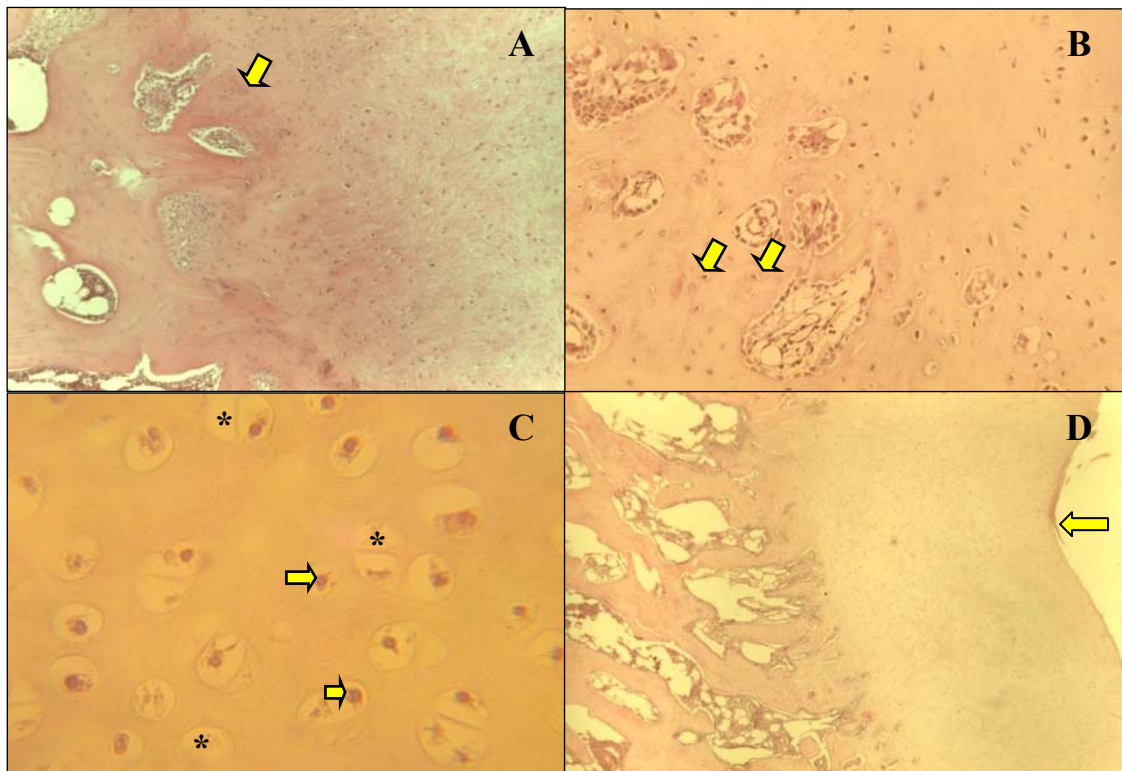


Figura 12. Fotomicrografias do tecido de reparação do defeito osteocondral em cômulo femoral lateral de cães ao término do TIV. A - Descontinuidade da linha de maré (seta). H&E. 100X. B - Presença de células com núcleos grandes e arredondados (condrócitos) na região das trabéculas (setas). H&E. 200X. C - Presença de foco de tecido hialino em meio à fibrocartilagem de reparação. Notar a presença de picnose nuclear dos condrócitos (setas) e lacunas vazias (*). H&E. 400X. D - Fragmentação da camada mais superficial do tecido de reparação (seta). H&E.40X.

Observou-se, portanto, que os achados macroscópicos dos defeitos osteocondrais de ambos os grupos ao final do TI estão de acordo com o relato de Souza et al. (2000), que notaram preenchimento parcial do defeito por tecido de reparação róseo-avermelhado aos 15 dias após a indução da lesão no sulco troclear de coelhos. Aos 30 dias de pós-operatório (TII), o preenchimento parcial por tecido de coloração branca correspondeu ao encontrado por Filgueiras (2008) aos 45 dias após realização de defeito osteocondral também em coelhos. Já Hurtig et al. (1988) referem que quando estas mesmas lesões foram induzidas no carpo de equinos, houve poucas alterações aos 30 dias de pós-operatório. Os relatos sugerem que o processo de reparação de defeitos osteocondrais é mais lento em algumas espécies animais, e o fato de Kim et al. (1991), Shapiro et al. (1993) e Souza et al. (2001) terem constatado preenchimento completo da área lesionada de coelhos aos 30 dias de pós-operatório apóia ainda mais a hipótese de que a reparação de defeitos osteocondrais nesta espécie ocorre de forma mais rápida do que em cães.

Ao término de TIII e TIV, o tecido de reparação se apresentou

macroscopicamente com o mesmo aspecto de TII, porém com maior consistência ao toque digital, semelhante à de cartilagem hialina.

Em TIII, o tecido se desenvolveu até o nível da superfície articular somente em um animal do GII, enquanto no TIV este padrão de preenchimento foi observado em cinco animais do GI e em dois animais do GII. Novos estudos, maior número de animais, maior tempo de tratamento e técnicas de maior acurácia de mensuração do tecido de reparação, são necessários para esclarecer se o tratamento com sulfato de condroitina e glucosamina influenciou no padrão de preenchimento dos defeitos. Outro achado macroscópico de relevância foi a presença de uma linha circular que delimitava as margens do tecido de reparação, a qual estava presente mesmo naqueles casos em que houve preenchimento total do defeito por tecido semelhante ao hialino e que correspondia ao diâmetro do “punch” utilizado na criação da falha. Souza et al. (1999) também relataram a evidência macroscópica das margens da lesão osteocondral até sete semanas de pós-operatório, o que pode ser interpretado como um sinal macroscópico de ausência de continuidade entre a cartilagem adjacente e o tecido de reparação (WAKITANI et al., 1994).

Os achados histológicos do presente estudo confirmam os relatos disponíveis na literatura de que quando a falha atinge o osso esponjoso, há, inicialmente, formação do coágulo sanguíneo, que posteriormente é substituído por uma rede de fibrina, com proliferação de capilares a partir da medula óssea adjacente e infiltração de células mesenquimais na periferia do coágulo. Superficialmente, ocorre formação de uma camada fibrosa, com fibras colágenas orientadas paralelamente à superfície articular, e mais profundamente as células mesenquimais se diferenciam em condroblastos. À medida que se processa a diferenciação celular, o tecido de reparação se apresenta na maioria das vezes com aspecto de fibrocartilagem, e na região mais profunda do tecido de reparação ocorre formação de osso novo subcondral. Tais achados estão de acordo com os relatos de Mitchel & Shepard (1976), Hurtig et al. (1988), French et al. (1989), Shamis et al. (1989), Kim et al. (1991), Shapiro et al. (1993), Souza et al. (1999) e Souza et al. (2000), os quais ainda citam que a restauração da arquitetura tecidual da superfície articular é um evento raro, ocorrendo em um número reduzido de defeitos osteocondrais, fato confirmado neste estudo, uma vez que não houve restauração da arquitetura tecidual em nenhum dos 48 animais utilizados.

A menor área aparente ocupada por tecido de granulação em um animal do TI e a superfície irregular verificadas no tecido de reparação de animais do TI e TII, associadas à presença de maior área de resquílios de osso sofrendo ação de osteoclastos na região

profunda do defeito, indicam que nestes animais a curetagem não removeu quantidade suficiente de cartilagem calcificada. Pois, quando a camada de cartilagem que fica em continuidade com o osso subcondral (zona de cartilagem calcificada) não é atingida, os vasos sanguíneos e as células inflamatórias não atingem a área lesionada, ocorrendo degeneração desta camada e formação de irregularidades e fendas na superfície, o que corrobora com o relato de Kim et al. (1991).

As alterações degenerativas da superfície de reparação dos animais do GII do TIII podem estar relacionadas com o menor padrão de reposição do osso subcondral observado nos animais deste grupo, pois, segundo Martel-Pelletier et al. (2008), as citocinas, fatores de crescimento e eicosanóides produzidos localmente pelo osso subcondral passam facilmente através das microfraturas e provocam alterações degenerativas no tecido cartilaginoso. Esta mesma teoria também explica a ocorrência de alterações degenerativas descritas na superfície do tecido de reparação observados no TIV, bem como a existência de condrócitos degenerados em TII, TIII e TIV, uma vez que o osso subcondral ainda não havia sido reorganizado completamente em nenhum dos tratamentos. Estudos que envolveram lesão de osso subcondral sem afetar inicialmente a cartilagem, como os realizados por Lahman et al. (2004) e Mrosek et al. (2006), revelaram a ocorrência de degeneração da cartilagem meses após a indução da lesão subcondral, confirmando a hipótese de envolvimento do osso subcondral na degeneração da cartilagem e podendo justificar as alterações degenerativas relatadas neste estudo.

Adicionalmente, a análise histológica permitiu caracterizar a composição do tecido de reparação para, em seguida, estimar a porcentagem de cada um dos constituintes por meio da análise morfométrica. No TI, estimaram-se as porcentagens de estruturas como fibroblastos jovens e maduros (fibrócitos), vasos sanguíneos, células mesenquimais de aspecto condrocítico, osteoclastos, fibras de tecido conjuntivo frouxo e áreas de reabsorção de osso subcondral, de forma que o teste não paramétrico Mann-Whitney não indicou diferença significativa nas porcentagens das mesmas entre GI e GII. Em TII, as estruturas quantificadas foram fibroblastos jovens e maduros (fibrócitos), vasos sanguíneos, osteoclastos, matriz extracelular do tecido fibrocartilaginoso, áreas de formação de osso subcondral e condrócitos viáveis e degenerados. Neste tratamento houve diferença significativa entre os grupos somente em relação a porcentagem de condrócitos viáveis ($p=0,03$), evidenciando que o grupo de animais tratados (GI) apresentou, em média, menor valor percentual de condrócitos do que o grupo controle (GII).

Já em TIII, estimaram-se as porcentagens de vasos sanguíneos, condrócitos,

matriz extracelular do tecido fibrocartilaginoso, formação de osso novo subcondral e condrócitos degenerados. Houve diferença significativa entre os grupos somente em relação a porcentagem de osso novo subcondral ($p=0,04$), indicando que o grupo de animais do GI apresentou, em média, maior valor percentual de osso subcondral neoformado do que os do GII. Este dado confirmou que o grupo tratado pareceu ter, microscopicamente, melhor padrão de organização do osso subcondral do que o grupo controle. Provavelmente, esta variação se deu ao acaso, visto que Guarnieiro et al. (2007) não observaram aumento da área de calo ósseo, melhora na densidade mineral ou aumento na rigidez de calo ósseo na reparação de fraturas de ratos tratados com sulfato de condroitina e glucosamina.

No TIV, as estruturas estimadas foram as mesmas descritas para o TIII e não houve diferença significativa quanto à porcentagem das estruturas entre os grupos. Este resultado indica que a diferença observada nos valores percentuais médios de condrócitos entre GI e GII do TII se deu, provavelmente, também ao acaso, pois caso a administração do nutracêutico estivesse relacionada à redução no número de condrócitos viáveis, supõe-se que isso se perpetuaria em TIII e TIV.

Embora estudos tenham comprovado que o sulfato de condroitina estimula o metabolismo de condrócitos e diminui a progressão da degeneração da cartilagem articular em modelos de DAD induzida por instabilidade (MELO et al., 2008a; MELO et al., 2008b), os resultados do presente estudo mostram que o sulfato de condroitina em associação com glicosamina não promoveu o mesmo estímulo na reparação dos defeitos osteocondrais.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e nas condições em que o presente estudo foi realizado, foi possível concluir que o nutracêutico condroprotetor, na dosagem, formulação e período de administração utilizados, não teve efeito significativo sobre a proliferação de condrócitos e nem sobre a regeneração da arquitetura hialina típica da cartilagem articular de cães. Como os defeitos osteocondrais não estavam completamente reparados até os 90 dias de pós-operatório, novas pesquisas devem prosseguir com períodos de tratamento mais prolongados para avaliar o desfecho do processo reparativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEBOWALE, A. et al. The bioavailability and pharmacokinetics of glucosamine hydrochloride and low molecular weight chondroitin sulfate after single and multiple doses to beagle dogs. *Biopharmaceutics Drug Disposition*, v.23, p.217-225, 2002.
- BEREN, J. et al. The effect of preloading oral glucosamine/chondroitin sulfate/manganese ascorbate combination on experimental arthritis in rats. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, v.226, p.144-151, 2001.
- BIASI, F. et al. Reconstrução do ligamento cruzado em cães, associado ou não ao sulfato de condroitina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.57, p.442-447, 2005.
- BLITTERSWIJK, W.J. et al. Glucosamine and chondroitin sulfate supplementation to treat symptomatic disc degeneration: Biochemical rationale and case report. *BioMed Central Complementary and Alternative Medicine*, v.3, n.2, 2003. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1472-6882/3/2>>. Acesso em: 7 set. 2009.
- CLARK, D.M. Current concepts int the treatment of degenerative joint disease. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v.13, p.1439-1446, 1991.
- CONTE, A. et al. Biochemical and pharmacokinetic aspects of oral treatment with chondroitin sulfate. *Arzneimittel Forschung-Drug Research*, v.45, p.918-925, 1995.
- FILGUEIRAS, R.R. *Uso de Condrócitos Heterólogos Cultivados na Reparação de Falhas Osteocondrais Produzidas no Joelho de Cães*. 2008. 68 f. Tese (Doutorado) - Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- FRENCH, D.A. et al. The effect of exercise on the lealing of articular cartilage defects in the equine carpus. *Veterinary Surgery*, v.18, n.4, p.312-321, 1989.
- GUARNIEIRO, R. et al. Avaliação do efeito da glicosamina e condroitina na consolidação de fratura: estudo experimental em ratos. *Revista Brasileira de Ortopedia*, v.42, n.7, p.201-205, 2007.

GOUZE, J.N. et al. Interleukin-1beta downregulates the expression of lucuronosyltransferase I, a key enzyme priming glycosaminoglycan biosynthesis: influence of glucosamine on interleukin-1beta-mediated effects in rat chondrocytes. *Arthritis and Rheumatism*, v.44, p.351-360, 2001.

HURTIG, E.A. et al. Effects of lesion size and location on equine articular cartilage repair. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v.52, n.1, p.137-146, 1988.

JOHNSON, A.L.; DUNNING, D.D. *Atlas of Orthopedic Surgical Procedures of the Dog and Cat*. Philadelphia: Saunders, 2005. p.52.

KIM, H.K.W. et al. The potential for regeneration of articular cartilage in defects created by chondral shaving and subcondral abrasion. An experimental investigation in rabbits. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, v.73-A, n.9, p.1.301-1.315, 1991.

LAHMAN, A. et al. Articular cartilage degeneration after acute subchondral bone damage. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, v.75, n.6, 762-767, 2004.

LEFFLER, C.T. et al. Glucosamine, chondroitin, and manganese ascorbate for degenerative joint disease of the knee, or low back: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Military Medicine*, v.164, p.85-91, 1999.

MARTELL-PELLETIER, J. et al. Cartilage in normal and osteoarthritis conditions. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, v.22, n.2, p.351-384, 2008.

MELO, E.G. et al. Sulfato de condroitina e hialuronato de sódio no tratamento da doença articular degenerativa em cães. Estudo histológico da cartilagem articular e membrana sinovial. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.1, p.83-92, 2008a.

MELO, E.G. et al. Effect of chondroitin sulfate and sodium hyaluronate on chondrocytes and extracellular matrix of articular cartilage in dogs with degenerative joint disease. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.1, p.93-102, 2008b.

MITCHELL, N.; SHEPARD, N. The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subcondral bone. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, v.58-A, n.2, p.230-233, 1976.

MROSEK, E.H. et al. Subchondral bone trauma causes cartilage matrix degeneration: an immunohistochemical analysis in a canine model. *Osteoarthritis and Cartilage*, v.14, p.171-178, 2006.

NOYSZEWSKI, E.A. et al. Preferential incorporation of glucosamine into galactosamine moieties of chondroitin sulfates in articular cartilage explants. *Arthritis and Rheumatism*, v.44, p.1089-1095, 2001.

OEGEMA, T.R. et al. Effect of oral glucosamine on cartilage and meniscus in normal and chymopapain-injected knees of young rabbits. *Arthritis and Rheumatism*, vol. 46, p.2495-2503, 2002.

OLSSON, S. Pathophysiology, morphology and clinical signs of osteochondrosis in the dog. In: BOJRAB, M.J. *Disease mechanisms in small animal surgery*. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.777-796.

OMATA, T. et al. Effects of chondroitin sulfate-C on bradykinin-induced proteoglycan depletion in rats. *Arzneimittel Forschung-Drug Research*, v.49, p.577-581, 1999.

SETNIKAR, I.; ROVATI, L.C. Absorption, distribution, metabolism and excretion of glucosamine sulfate. A review. *Arzneimittel Forschung-Drug Research*, v.51, p.699-725, 2001.

SHAMIS, L.D. et al. Effect of subchondral drilling on repair of partial-thickness cartilage defects of third carpal bones in horses. *American Journal of Veterinary Research*, v.50, n.2, p.290-295, 1989.

SHAPIRO, F. et al. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, v.75-A, n.4, p.532-553, 1993.

SOUZA, R. L. et al. Precusores de glicosaminoglicanos na reparação articular após trauma iatrogênico em joelhos de cães. *Clínica veterinária*, v.23, p.33-38, 1999.

SOUZA, T.D. et al. Avaliação histológica do processo de reparação da superfície articular de coelhos. *Ciência Rural*, v. 30. n. 3. P.439-444. 2000.

SOUZA, T.D. et al. Electrotherapy on the healing process in the articular surface of rabbits. *Ciência Rural*, v.30, p.439-444, 2001.

VAUGHAN-SCOTT, T.; TAYLOR, J.H. The pathophysiology an medical manegement of canine osteoarthritis. *Journal of the South African Veterinary Association*, v.68, p.21-25, 1997.

VOLPI, N. Oral bioavailability of chondroitin sulfata (Condrosulf((R)) and its constituents in healthy male volunteers. *Osteoarthritis and Cartilage*, v.10, p.768-771, 2002.

WAKITANI, S. et al. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, v.76-A, n.4, p.579-592, 1994.

Capítulo IV

Exames hematológicos e bioquímicos
séricos de cães tratados com sulfato de
condroitina e glucosamina

Revista para submissão: Ciência Rural

ISSN:0103-8478

Exames hematológicos e bioquímicos séricos de cães tratados com sulfato de condroitina e glucosamina

Serum biochemical and hematological tests in dogs treated with chondroitin sulfate and glucosamine

Renato Barros Eleotério²⁶, Andréa Pacheco Batista Borges²⁷, Kelly Cristine de Sousa Pontes²⁸, João Paulo Machado²⁹, Naira Jandafet Sampaio Martins³⁰, Mariana Brettas Silva³⁰, Priscila Ferreira Soares³⁰, Natália Alves Fernandes³⁰

RESUMO

Os condroprotetores são produtos compostos por agentes semelhantes aos componentes da matriz cartilaginosa e têm sido muito empregados no tratamento da doença articular degenerativa (DAD) em cães. Eles possuem ação antiinflamatória e são capazes de reduzir a perda de proteoglicanos e colágeno através da inibição de enzimas degradativas da cartilagem, além de exercerem ação estimulatória sobre a sua síntese, promovendo aumento na proliferação de condrócitos e da matriz. Dentre as substâncias com propriedades condroprotetoras, destacam-se a glucosamina e o sulfato de condroitina. Os nutracêuticos compostos por estas substâncias são amplamente pesquisados por constituírem uma terapia não invasiva e com propriedades que favorecem o metabolismo da cartilagem articular. No entanto, embora alguns estudos relatem que estas substâncias não estão relacionadas a efeitos adversos significativos, outros referem a possibilidade de um efeito heparinóide, caracterizado, principalmente, por anorexia e diarreia

²⁶Médico Veterinário. Mestrando do Departamento do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Veterinária (DVT), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG. Endereço eletrônico: renato_ufv@hotmail.com. Autor para correspondência.

²⁷ Professora de Cirurgia do DVT/UFV, Viçosa, MG.

²⁸Médica Veterinária, Doutora em Medicina Veterinária. Professora da União de Ensino Superior de Viçosa (UNIVIÇOSA).

²⁹ Médico Veterinário. Doutorando do Departamento do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, DVT/UFV, Viçosa, MG.

³⁰Graduandas em Medicina Veterinária, DVT/UFV, Viçosa, MG.

sanguinolenta. A disparidade entre os relatos disponíveis na literatura acerca da possibilidade de efeitos adversos, associada à carência dos testes exigidos pelo Ministério da Agricultura para comprovação da segurança de medicamentos veterinários, tornam controversa a utilização de nutracêuticos condroprotetores em animais. Neste contexto, objetivou-se com este estudo testar a segurança de um nutracêutico condroprotetor comercial em cães, por meio dos exames de glicemia, hemograma, funções hepática e renal, tromboplastina parcial ativada e tempo de protombina. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o nutracêutico condroprotetor, na formulação, dosagem e período de administração utilizados, não ocasionou efeitos adversos em cães.

Palavras chave: Doença articular degenerativa, osteoartrite, condroprotetor, sulfato de condroitina, glicosamina, cão.

ABSTRACT

The chondroprotective agents are products composed of substances similar to the components of cartilage matrix and have been widely used in the treatment of degenerative joint disease (DJD) in veterinary medicine. They have anti-inflammatory effect and are able to reduce the loss of proteoglycan and collagen through the inhibition of cartilage degrading enzymes, and have still a stimulatory action on the synthesis of proteoglycans and collagen, increasing the proliferation of chondrocytes and matrix. Among the substances with chondroprotective, stand out mainly glucosamine and chondroitin sulfate. Nutraceutical compounds of these substances are widely studied because they constitute a non-invasive tool and with properties that are known to favor the metabolism of articular cartilage. However, although some studies report that these substances are not related to significant adverse effects, other researchers refer to the possibility of an effect of heparinoid, mainly characterized by bloody diarrhea and

anorexia. The disparity between the reports available in literature about the possibility of adverse effects related to chondroitin sulfate and glucosamine linked to lack of testing required by the Ministry of Agriculture to assure the safety of veterinary drugs become controversial use of chondroprotective nutraceuticals in animals. In this context, the objective of this study was to test the safety of a commercial nutraceutical chondroprotective in dogs by means of tests of blood glucose, blood count, liver and kidney function, activated partial thromboplastin and prothrombin times. The results of this study showed that the nutraceutical chondroprotective in the formulation, dosage and administration period used, did not cause any adverse effects in dogs.

Keywords: Degenerative joint disease, osteoarthritis, chondroprotective, chondroitin sulfate, glucosamine, dog.

INTRODUÇÃO

Os condroprotetores são produtos compostos por agentes semelhantes aos componentes da matriz cartilaginosa e têm sido muito empregados no tratamento da doença articular degenerativa (DAD) na medicina veterinária. Eles possuem ação antiinflamatória e são capazes de reduzir a perda de proteoglicanos e colágeno através da inibição de enzimas degradativas da cartilagem, além de terem ação estimulatória sobre a síntese de proteoglicanos e colágeno (CLARK, 1991), promovendo aumento na proliferação de condrócitos e da matriz (MELO et al., 2008a; MELO et al., 2008b). Tais efeitos sugerem que os condroprotetores podem ser importantes no controle das alterações patológicas da cartilagem e podem complementar o tratamento da DAD (CLARK, 1991; BIASI et al., 2005). Dentre as substâncias com propriedades condroprotetoras, destacam-se a glucosamina e o sulfato de condroitina (VAUGHAN-SCOTT & TAYLOR, 1997).

Os nutracêuticos, compostos principalmente de substâncias condroprotetoras

como sulfato de condroitina e glucosamina, são amplamente pesquisados por constituírem uma terapia não invasiva e com propriedades que favorecem o metabolismo da cartilagem articular. No entanto, embora alguns estudos tenham relatado que estas substâncias não estão relacionadas a efeitos adversos significativos, sejam eles clínicos, hematológicos ou hemostáticos (CHARD & DIEPPE, 2001), outros pesquisadores (TODHUNTER, 1994; MCNAMARA, 199; MELO et al., 2003) referem a possibilidade de efeito heparinóide, caracterizado, principalmente, por anorexia e diarreia sanguinolenta.

O fato de esses produtos serem disponibilizados para consumo na forma de suplemento nutricional torna dispensável sua submissão a testes de segurança. Desta forma, os nutracêuticos condroprotetores possuem em seu rótulo somente registro do Serviço de Inspeção Federal – SIF, o qual inspeciona o modo de fabricação do produto, mas não certifica a segurança de seus princípios ativos.

A carência dos testes exigidos pelo Ministério da Agricultura, para comprovação da segurança de medicamentos veterinários, e a disparidade entre os relatos disponíveis na literatura acerca da possibilidade de efeitos adversos, relacionados ao sulfato de condroitina e à glucosamina, tornam controversa a utilização de nutracêuticos condroprotetores em animais.

Nesse contexto, objetivou-se com este estudo experimental testar a segurança de um nutracêutico condroprotetor comercial em cães, por meio dos exames de glicemia, hemograma, funções hepática e renal, tromboplastina parcial ativada e tempo de protombina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 48 cães, sem raça definida, esquelicamente adultos à confirmação radiográfica e pesando entre 10 e 25 kg, provenientes do canil experimental

do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (DVT-UFV). Os animais selecionados foram vacinados com vacina óctupla³¹ e previamente tratados, em baias coletivas isoladas daquelas que passaram o período experimental, com vermífugo³² a base de albendazol, praziquantel e pirantel (dose única oral de um comprimido para cada 10 kg de peso), ivermectina³³ e carrapaticida³⁴ (fipronil *pour on* na dose de 1ml/10kg). Após esse tratamento prévio, os cães foram alojados em outras baias coletivas, e continuaram recebendo ração comercial específica para cães uma vez ao dia e água *ad libitum*.

O projeto para desenvolvimento deste trabalho foi enviado ao comitê de ética do DVT-UFV e obteve parecer favorável, certificado pelo processo nº18/2008. As normas de conduta para o uso de animais no ensino, pesquisa e extensão do DVT-UFV foram rigorosamente seguidas, sob coordenação do médico veterinário Renato Barros Eleotério, CRMV/SP-27971.

Os 48 animais foram distribuídos aleatoriamente entre quatro tratamentos (I, II, III e IV), de acordo com o período de pós-operatório e contendo cada um deles 12 animais. Dentro de cada tratamento, os animais foram separados em dois grupos (GI e GII) de números iguais. Os animais do GI constituíram o grupo tratado, enquanto o GII representou o grupo controle. A Tabela 1 mostra o detalhamento dos tratamentos e grupos experimentais.

Tabela 1. Detalhamento dos grupos experimentais

Tratamento	Número de animais	Período de observação após indução da lesão
TI	12 (6 tratados e 6 controles)	15 dias
III	12 (6 tratados e 6 controles)	30 dias
TIII	12 (6 tratados e 6 controles)	60 dias
TIV	12 (6 tratados e 6 controles)	90 dias

Os animais foram submetidos à procedimento cirúrgico para indução de defeito

³¹ Imuno-Vet[®] – BioVet – Vargem Grande Paulista – SP - Brasil

³² Rico Composto[®] - Ouro-Fino – Cravinhos – SP - Brasil

³³ Ivomec[®] – Merial – Campinas – MG - Brasil

³⁴ Top Line[®] – Merial– Paulínia – SP - Brasil

osteocondral no côndilo femoral lateral, visto que alguns autores referem que a suplementação nutricional com sulfato de condroitina e glucosamina não tem efeito aparente sobre o metabolismo da cartilagem normal (LIPPIELLO et al., 2000), o que pode sugerir um tropismo dos agentes pela cartilagem em seu estado reativo (TAYLOR et al., 2000). Para a confecção do defeito, seguiu-se as recomendações de JOHNSON & DUNNING (2005) para desvio medial da patela e exposição do sulco troclear em cães e gatos. Em seguida, delimitou-se o fragmento de cartilagem, por meio de *punch* de 6mm de diâmetro, o qual foi posteriormente retirado com lâmina de bisturi numero 15. A região delimitada foi então curetada até obtenção de sangramento, o que indica ter atingido o osso subcondral e criação do defeito osteocondral (Figura 1), conforme as recomendações de ELEOTÉRIO (2011 – Informe verbal).

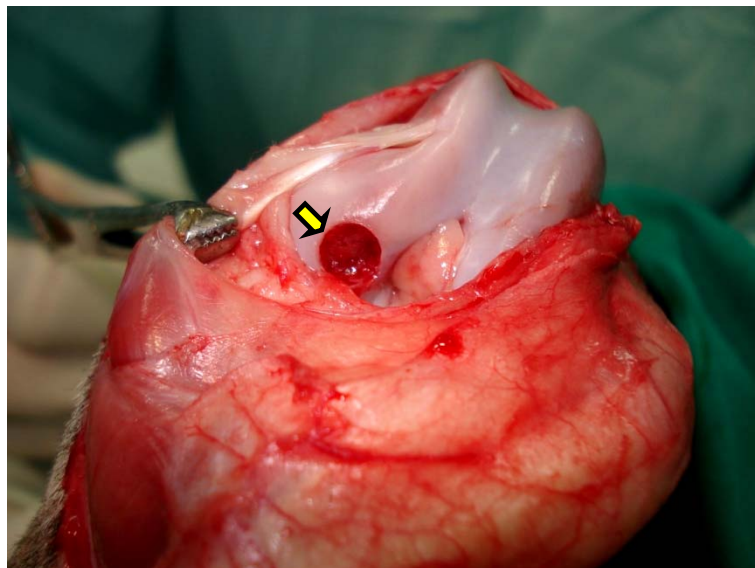


Figura 1. Fotografia de côndilo femoral lateral direito de cão após a criação de lesão osteocondral. Notar lesão circular sem cartilagem e contendo sangue proveniente do osso subcondral (seta).

O nutracêutico condroprotetor utilizado possuía apresentação em tabletes palatáveis, contendo cada um deles 200 mg de sulfato de condroitina, 300 mg de glucosamina, 24 mg de palatilizante e 1200 mg de veículo q.s.p. Conforme as recomendações do fabricante, foi administrado um tablete a cada 24 horas aos cães com

até 10 kg, dois tabletes aos cães com 11 a 20 kg e 4 tabletes aos cães com 21 a 30 kg de peso corporal. Todos os animais pertencentes ao GI receberam o nutracêutico diariamente, a partir do primeiro dia de pós-operatório e até completar o período do tratamento.

As coletas das amostras para os exames hematológicos e bioquímicos séricos de segurança foram feitas nos momentos de pré-operatório (MI) e ao término do período dos tratamentos (MII). Após contenção manual e posicionamento dos cães em decúbito lateral, foram feitas tricotomia e antissepsia da região cervical para realização da venipunção jugular, obtendo-se as amostras para realizar os seguintes exames no Laboratório Clínico do DVT-UFV:

- Hemograma e leucograma: coleta de sangue em tubos com anticoagulante (EDTA) e contagem das células sanguíneas (neutrófilos bastonetes - BAST, neutrófilos segmentados - SEGM, eosinófilos - EOS, monócitos - MONO, plaquetas – PLAQ e hemácias – HEMA), além de mensuração do hematócrito (HT) hemoglobina (HEMO) e proteínas plasmáticas totais (PROT), utilizando equipamento automático;
- Glicemia: sangue coletado em tubos isentos de anticoagulante e submetido à centrifugação para obtenção do soro, com posterior mensuração da glicose por meio de kits comerciais e aparelho mensurador semi-automático;
- Enzimas hepáticas: obtenção do soro, como no item anterior, para realização dos testes de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA) por meio de kits comerciais associados a aparelho mensurador semi-automático;
- Função renal: dosagem dos níveis plasmáticos de uréia e creatinina (CREAT) utilizando kits comerciais e aparelho mensurador semi-automático, a partir do sangue coletado em tubos sem anticoagulante e submetido à centrifugação.

O sangue também foi coletado em tubos contendo citrato de sódio para realização

dos exames de tempo trombolastina parcial ativada (TTPA), tempo de protombina (TPA) e mensuração do fibrinogênio (FIBR). Esses testes foram realizados de acordo com técnicas rotineiras em um laboratório particular da cidade de Viçosa (ViçosaLab Ltda.).

Os resultados dos testes foram interpretados de acordo com os valores de referência disponíveis na literatura e as comparações entre os grupos de cada tratamento foram feitas por meio da análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes bioquímicos séricos do TI, indicaram que houve apenas diferença significativa para os valores de AST e CREAT, pelo teste de ANOVA com medidas repetidas (Tabela 2). No caso de AST, o teste revelou efeito de interação ($p=0,01$) e, portanto, foram realizados testes de comparações múltiplas. Nas comparações entre os momentos considerados, separadamente para cada grupo, constatou-se que houve diferença significativa ($p=0,02$) nos valores de AST apenas para GII (Tabela 3), de forma que para este grupo o valor em MI foi maior do que aquele encontrado em MII. Já nas comparações entre os grupos, separadamente para cada momento avaliado, detectou-se diferença significativa ($p=0,02$) entre os grupos apenas em MI (Tabela 4), evidenciando que neste momento o GII apresentou, em média, maior valor de AST do que GI. Já no caso do exame de creatinina, observou-se diferença significativa apenas entre os grupos ($p=0,01$), independentemente do momento avaliado (Tabela 2). Os dados evidenciam que GI apresentou, em média, maiores valores de creatinina do que o controle (GII). Por sua vez, os resultados médios dos exames hematológicos, os quais complementam o teste de segurança, são apresentados na Tabela 5. Pelo teste de ANOVA com medidas repetidas, observa-se que houve diferença

significativa apenas entre os momentos avaliados para os valores de EOS ($p=0,04$) e SEGM ($p=0,03$), independentemente do grupo e, portanto, os valores de EOS e SEGM foram, em média, maiores em MI do que em MII.

Tabela 2. Valores médios dos exames bioquímicos séricos de segurança (glicose, ALT, ATS, FA, GGT, TTPA, TPA, fibrinogênio (FIBR), creatinina (CREAT) e uréia) dos animais do GI e GII do TI, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII)

Grupo	GLICOSE (mg/dL)		ALT (U/L)		AST (U/L)		FA (U/L)		GGT (U/L)		TTPA (segundos)		TPA (segundos)		FIBR (mg/dL)		URÉIA (mg/dL)		CREAT (mg/dL)		
	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	
GI	Média	93,7	78,3	26,1	31	29	37,8	154,5	166,3	4,8	4,8	16,7	12,9	6,5	6,8	331,7	306,7	31,6	36,1	1	1
	Mediana	94,8	79,4	25,5	24	28	32	141,5	164,5	4	5	13,5	12,9	6,5	6,9	275	300	31,4	35,3	1	1
	Desvio padrão	16,4	16	5,1	15,8	8	19,9	75,1	59,2	2,4	2,7	10,7	2	0,5	0,3	128,9	84	3,1	5,7	0,2	0,2
	Mínimo	74,3	55,7	20	19	17	20	54	78	2	2	9,6	10	6	6,4	220	200	27,5	30,1	0,8	0,8
	Máximo	116,6	103,9	33	57	41	66	270	259	9	9	38,3	16	7	7,1	500	430	36,7	46,8	1,2	1,3
GII	Média	85,7	79,7	43,7	22,7	47	28,7	249,2	169,5	5,2	4,3	13,1	13,4	6,5	6,5	250	336,7	40,9	31,1	0,8	0,8
	Mediana	81,5	80,5	33	23	50,5	28,5	237,5	172,5	4	4	13,2	13,4	6,5	6,3	250	335	35,6	31,4	0,7	0,8
	Desvio padrão	12,5	6,3	27,3	4,3	13	5,2	110,3	25,8	2	1,5	2	2	0,4	0,5	72,1	63,1	21,3	7,4	0,1	0,1
	Mínimo	75,5	70,7	23	17	26	22	113	124	4	2	9,6	11	6	6	150	250	24,2	18,5	0,7	0,6
	Máximo	107,7	86,1	97	29	61	35	432	195	9	6	15,4	16	7,1	7,1	340	420	80	40	0,9	1
Valor de p	Efeito de interação	0,39		0,08		0,01*		0,21		0,59		0,37		0,18		0,37		0,18		0,88	
	Efeito de dia	0,06		0,25		0,36		0,35		0,91		0,45		0,33		0,22		0,69		0,64	
	Efeito de grupo	0,57		0,49		0,43		0,07		0,69		0,54		0,46		0,59		0,56		0,01*	

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas;

Nota: ALT: alanina aminotransferase, AST: aspartato aminotransferase, GGT: gama glutamiltransferase, FA: fosfatase alcalina, TTPA: tempo de tromboplastina parcial ativada, TPA: tempo de protombina.

Tabela 3. Resultados dos testes de comparações múltiplas entre os momentos considerados, separadamente para cada grupo do TI, indicando diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores médios de AST apenas para o grupo controle (GII)

Grupo	Comparação de interesse	Valor de p
GI	MI X MII	0,23
GII	MI X MII	0,02

Nota: MI: período pré-operatório, MII: término do período de tratamento, GI: grupo trado, GII: grupo controle.

Tabela 4. Resultados dos testes de comparações múltiplas entre os grupos, separadamente para cada momento avaliado do TI, indicando diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos para os valores de AST apenas em MI (pré-operatório)

Momento	Comparação de interesse	Valor de p
MI	GIXGII	0,02
MII	GIXGII	0,3

Nota: MI: período pré-operatório, MII: término do período de tratamento, GI: grupo trado, GII: grupo controle.

Tabela 5. Valores médios dos exames hematológicos de segurança (neutrófilos bastonetes (BAST), neutrófilos segmentados (SEGM), eosinófilos (EOS), monócitos (MONO), plaquetas (PLAQ), hemácias (HEMA), hematócrito (HT), hemoglobina (HEMO) e proteínas (PROT)) dos animais do GI e GII do TI, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII)

Grupo	BAST (cél/mm ³)		SEGM (cél/mm ³)		EOS (cél/mm ³)		LINF (cél/mm ³)		MONO (cél/mm ³)		PLAQ (cél/mm ³)		HEMA (cél/mm ³)		HT (%)		HEMO (g/dL)		PROT (g/dL)		
	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	
GI	Média	349,8	270,8	9144	3900,3	1068,8	617,8	2780,8	2400,7	1439,8	680,1	188333,3	169600	5450000	4416000	35,3	28,7	11,7	9,7	7,5	7,2
	Mediana	325	183	10751,5	4040	946	619,5	2386	1922	991,5	644	181000	142800	5555000	4293000	37,6	29	12,4	9,6	7,6	7,4
	Desvio padrão	269,5	299,2	4698,4	912	774,9	329,6	1716,3	1838,2	1485,6	304,6	76860	88024,1	1443939	626246	9,3	3,4	2,54	1	0,7	0,8
	Mínimo	70	0	2170	2592	0	180	1125	621	333	324	76000	78000	3710000	3700000	20,9	24	7,7	8,8	6,6	5,8
	Máximo	777	810	13968	5002	2328	988	5472	5124	4332	1098	285000	293000	7100000	5530000	44	33,6	14,2	11,4	8,4	8
GII	Média	370,8	359,2	7953,8	6774,8	1026,7	527,3	1770,8	2186,5	1216,5	513,3	208000	213500	4491667	4491667	32,1	30,2	10,9	10,9	7,5	7,1
	Mediana	403	383	7018	6718	988	478,5	1623	1887,5	1161,5	502,5	197500	195000	4500000	4595000	32,2	31,2	11,1	11,5	7,5	7,1
	Desvio padrão	149,7	78,6	4159,3	2351,7	706,6	344,2	1172,6	754,1	748,6	121,7	95682,8	44773,9	1073916	558692	5,3	3,6	1,93	1,7	0,7	0,5
	Mínimo	138	240	3737	3240	0	180	432	1574	392	334	52000	172000	3100000	3570000	23,5	23,2	7,6	7,9	6,6	6,2
	Máximo	576	457	15265	10245	2160	926	3831	3572	2365	684	325000	283000	6270000	5190000	40,1	33,5	12,8	12,5	8,6	7,8
Valor de p	Efeito de interação	0,65		0,14		0,91		0,39		0,94		0,64		0,18		0,31		0,18		0,7	
	Efeito de dia	0,54		0,03*		0,04*		0,97		0,07		0,79		0,18		0,08		0,16		0,17	
	Efeito de grupo	0,61		0,58		0,81		0,4		0,55		0,42		0,34		0,75		0,82		0,91	

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas.

As Tabelas 6 e 7 demonstram, respectivamente, os valores médios dos resultados dos exames bioquímicos séricos e hematológicos do TII. Os dados evidenciam que houve apenas diferença significativa para os valores de TPA e SEGM, pelo teste de ANOVA com medidas repetidas a 5% de nível de significância. Em relação ao TPA, houve apenas diferença entre os momentos avaliados ($p=0,02$), independentemente do grupo, de forma que os valores de TPA em MI foram, em média, menores do que no término em MII. Em relação aos valores de SEGM, pode-se observar que houve apenas diferença entre os grupos ($p=0,04$), independentemente do momento avaliado, evidenciando que GI apresentou, em média, menores valores de SEGM que GII.

Tabela 6. Valores médios dos exames bioquímicos séricos de segurança (glicose, ALT, ATS, FA, GGT, TTPA, TPA, fibrinogênio (FIBR), creatinina (CREAT) e uréia) dos animais do GI e GII do TII, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII)

Grupo	GLICOSE (mg/dL)		ALT (U/L)		AST (U/L)		FA (U/L)		GGT (U/L)		TTPA (segundos)		TPA (segundos)		FIBR (mg/dL)		URÉIA (mg/dL)		CREAT (mg/dL)		
	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	
GI	Média	64,1	82,1	97,5	33,3	49	29,3	404,2	145	5,3	3	16,3	16,2	6	6,4	366,7	373,3	30,5	28,6	0,9	0,7
	Mediana	62	79,2	47,5	36	51,5	26,5	258,5	136	3	3	12,9	14,4	6	6,3	390	385	25,5	28,1	0,9	0,7
	Desvio padrão	6,7	21,5	116,6	13,6	17,8	12	477,6	79,3	4,6	1,1	9,4	4,9	0,1	0,5	77,6	126	14,7	10,9	0,2	0,1
	Mínimo	58,3	55,7	22	12	22	20	8	59	2	2	11	13,2	6	6	230	210	14,4	18,3	0,7	0,5
	Máximo	74,7	118,9	331	47	71	52	1323	259	13	4	35,6	26	6,2	7,4	440	540	52,4	40,6	1,2	0,9
GII	Média	74,7	74,2	28,2	73,3	41,7	67,2	125,5	109,8	3,7	4	13,5	17	6,2	6,5	318,3	256,7	26,1	35,8	0,8	0,8
	Mediana	73,5	75,1	27,5	29	38,5	41,5	108,5	103	4	4	13	16,8	6,1	6,5	300	265	26,8	31,7	0,8	0,8
	Desvio padrão	4,9	4,8	8,8	98,7	13,6	67,3	69,4	58,2	1,5	1,8	2,2	2,4	0,2	0,3	78,6	25	7,7	11,4	0,2	0,1
	Mínimo	70,7	68,5	15	20	24	34	40	45	2	2	10,8	14,3	6	6,1	240	210	14,4	28,8	0,5	0,7
	Máximo	84,1	79,7	41	272	61	204	216	187	6	6	16,3	21,2	6,6	6,8	470	280	35,3	58,9	1	0,9
Valor de p	Efeito de interação	0,12		0,07		0,15		0,24		0,24		0,47		0,65		0,27		0,07		0,15	
	Efeito de dia	0,13		0,75		0,85		0,19		0,38		0,5		0,02*		0,38		0,22		0,21	
	Efeito de grupo	0,74		0,67		0,32		0,16		0,76		0,63		0,48		0,06		0,82		0,9	

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas;

Nota: ALT: alanina aminotransferase, AST: aspartato aminotransferase, GGT: gama glutamiltransferase, FA: fosfatase alcalina, TTPA: tempo de tromboplastina parcial ativada, TPA: tempo de protombina.

Tabela 7. Valores médios dos exames hematológicos de segurança (neutrófilos bastonetes (BAST), neutrófilos segmentados (SEGM), eosinófilos (EOS), monócitos (MONO), plaquetas (PLAQ), hemácias (HEMA), hematócrito (HT), hemoglobina (HEMO) e proteínas (PROT)) dos animais do GI e GII do TII, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII)

Grupo		BAST (cél/mm ³)		SEGM (cél/mm ³)		EOS (cél/mm ³)		LINF (cél/mm ³)		MONO (cél/mm ³)		PLAQ (cél/mm ³)		HEMA (cél/mm ³)		HT (%)		HEMO (g/dL)		PROT (g/dL)	
		MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII
GI	Média	349,8	270,8	9144	3900,3	1068,8	617,8	2780,8	2400,7	1439,8	680,1	188333,3	169600	5450000	4416000	35,3	28,7	11,7	9,7	7,5	7,2
	Mediana	325	183	10751,5	4040	946	619,5	2386	1922	991,5	644	181000	142800	5555000	4293000	37,6	29	12,4	9,6	7,6	7,4
	Desvio padrão	269,5	299,2	4698,4	912	774,9	329,6	1716,3	1838,2	1485,6	304,6	76860	88024,1	1443939	626246	9,3	3,4	2,54	1	0,7	0,8
	Mínimo	70	0	2170	2592	0	180	1125	621	333	324	76000	78000	3710000	3700000	20,9	24	7,7	8,8	6,6	5,8
	Máximo	777	810	13968	5002	2328	988	5472	5124	4332	1098	285000	293000	7100000	5530000	44	33,6	14,2	11,4	8,4	8
GII	Média	370,8	359,2	7953,8	6774,8	1026,7	527,3	1770,8	2186,5	1216,5	513,3	208000	213500	4491667	4491667	32,1	30,2	10,9	10,9	7,5	7,1
	Mediana	403	383	7018	6718	988	478,5	1623	1887,5	1161,5	502,5	197500	195000	4500000	4595000	32,2	31,2	11,1	11,5	7,5	7,1
	Desvio padrão	149,7	78,6	4159,3	2351,7	706,6	344,2	1172,6	754,1	748,6	121,7	95682,8	44773,9	1073916	558692	5,3	3,6	1,93	1,7	0,7	0,5
	Mínimo	138	240	3737	3240	0	180	432	1574	392	334	52000	172000	3100000	3570000	23,5	23,2	7,6	7,9	6,6	6,2
	Máximo	576	457	15265	10245	2160	926	3831	3572	2365	684	325000	283000	6270000	5190000	40,1	33,5	12,8	12,5	8,6	7,8
Valor de p	Efeito de interação	0,65		0,14		0,91		0,39		0,94		0,64		0,18		0,31		0,18		0,7	
	Efeito de dia	0,54		0,03*		0,04*		0,97		0,07		0,79		0,18		0,08		0,16		0,17	
	Efeito de grupo	0,61		0,58		0,81		0,4		0,55		0,42		0,34		0,75		0,82		0,91	

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas.

Os valores médios dos exames bioquímicos séricos do TIII estão representados na Tabela 8 e indicam que houve diferença significativa apenas para os valores de FA ($p=0,04$), TPA ($p=0$) e uréia ($p=0,02$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas. Em todos os casos houve diferença significativa entre os momentos avaliados, independentemente do grupo, de forma que os valores de FA e TPA no momento pré-operatório (MI) foram, em média, menores do que no término do período de avaliação (MII), enquanto os valores de uréia em MI foram, em média, maiores do que em MII. Os valores médios dos resultados dos exames hematológicos do TIII estão dispostos na Tabela 9. Pelo teste de ANOVA com medidas repetidas, detectou-se diferença significativa para os valores de LINF ($p=0,02$) e MONO ($p=0,04$) e, em ambas as situações, a diferença ocorreu somente entre os momentos considerados.

Tabela 8. Valores médios dos exames hematológicos de segurança (neutrófilos bastonetes (BAST), neutrófilos segmentados (SEGM), eosinófilos (EOS), monócitos (MONO), plaquetas (PLAQ), hemácias (HEMA), hematócrito (HT), hemoglobina (HEMO) e proteínas (PROT)) dos animais do GI e GII do TIII, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII)

Grupo	GLICOSE (mg/dL)		ALT (U/L)		AST (U/L)		FA (U/L)		GGT (U/L)		TTPA (segundos)		TPA (segundos)		FIBR (mg/dL)		URÉIA (mg/dL)		CREAT (mg/dL)		
	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	
GI	Média	76,1	81,3	32,5	45,3	34,3	50,5	86	163,3	5,8	5,2	14,1	13,7	6,4	6,6	301,7	288,3	51,3	36,9	0,6	0,7
	Mediana	75,9	69,7	31	32,5	32,5	44,5	74	82,5	6	5	13,1	13,3	6,2	6,6	310	300	51	40,2	0,6	0,6
	Desvio padrão	7,4	31,1	6,7	34,3	11,3	26	37,9	146,3	3	2,4	3	1,32	0,5	0,5	63,7	83	15,9	13	0,1	0,2
	Mínimo	67,4	62,7	27	17	24	20	55	55	2	2	11,9	12,3	6	6	200	160	28,6	21,4	0,5	0,5
	Máximo	87,5	144,1	45	111	52	87	154	408	11	9	20	16	7,3	7,4	390	390	69,8	50,1	0,8	1
GII	Média	73,6	89,5	25,5	37,7	34,3	35,8	55,7	120	4,7	5	17,6	16,4	6,3	6,6	311,7	286,7	52,5	43,2	0,7	0,8
	Mediana	69	88,4	27,5	41	32,5	30,5	49	96	5	5	16	15,9	6,2	6,7	295	295	57,2	40,2	0,7	0,8
	Desvio padrão	13,8	24,2	8	7	5,4	11,4	25,4	72,6	1,6	1,1	7,2	2,3	0,4	0,4	80,8	79,7	10,8	9,7	0,1	0,3
	Mínimo	61,6	63,2	13	27	31	27	33	38	2	4	10,4	14,4	6	6	230	190	35,8	32,2	0,6	0,5
	Máximo	98,9	132,2	34	45	45	52	99	215	6	6	31,6	20,9	7	7,1	440	390	60,8	59,1	0,9	1,2
Valor de p	Efeito de interação	0,59		0,96		0,33		0,84		0,47		0,81		>0,99		0,8		0,59		>0,99	
	Efeito de dia	0,3		0,08		0,25		0,04*		0,81		0,68		0*		0,41		0,02*		0,44	
	Efeito de grupo	0,71		0,4		0,19		0,35		0,54		0,08		0,89		0,92		0,52		0,1	

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas;

Nota: ALT: alanina aminotransferase, AST: aspartato aminotransferase, GGT: gama glutamiltransferase, FA: fosfatase alcalina, TTPA: tempo de tromboplastina parcial ativada, TPA: tempo de protombina.

Tabela 9. Valores médios dos exames hematológicos de segurança (neutrófilos bastonetes (BAST), neutrófilos segmentados (SEGM), eosinófilos (EOS), monócitos (MONO), plaquetas (PLAQ), hemácias (HEMA), hematócrito (HT), hemoglobina (HEMO) e proteínas (PROT)) dos animais do GI e GII do TIII, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII)

Grupo		BAST (cél/mm ³)		SEGM (cél/mm ³)		EOS (cél/mm ³)		LINF (cél/mm ³)		MONO (cél/mm ³)		PLAQ (cél/mm ³)		HEMA (cél/mm ³)		HT (%)		HEMO (g/dL)		PROT (g/dL)	
		MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII
GI	Média	351,2	361,3	5554,5	6350	463,2	551,9	2230,8	1479,7	1052,8	753,8	103333,3	141833,3	4516667	4960000	32,3	31,9	10,8	10,2	7,4	7,7
	Mediana	225	297	4214	5720	416	353	2436	1576	929	307,5	110500	126000	4635000	4965000	27	33,9	9,3	10,8	7,3	7,5
	Desvio padrão	468,7	301,1	2704,8	2441,2	294,9	785,3	1109,2	640,8	839,4	812,7	25327,2	114890,2	422453	995269	13,3	6,2	4,1	1,8	1	1,5
	Mínimo	0	81	3280	3567	77	0	884	528	77	95	60000	16000	4000000	3350000	24	22,8	8	7,1	6,2	6
	Máximo	1288	944	10187	10205	936	2090	3772	2242	2520	1957	127000	307000	5010000	6310000	59,2	37,5	19,1	11,8	8,8	9,8
GII	Média	242	1328,8	6519,2	6967,3	818,7	760,8	3406,5	1606,3	1566,2	310,5	94000	87833,3	5996667	5236667	36,9	33,5	12,3	10,7	7	7,5
	Mediana	239,5	104	5843,5	4039,5	635,5	230	3211,5	1483,5	1395	282	61000	54500	5095000	5205000	35,2	32	12	10,3	6,9	7,6
	Desvio padrão	153,2	2548,3	1460,5	7961,5	755,9	1050,1	1494,3	1296,6	955,8	279,4	107638,3	98910,9	1501941	628830	9,9	5,2	3	1,5	0,7	1
	Mínimo	0	34	5320	1258	0	0	1884	123	348	34	20000	1400	4310000	4350000	24,2	26,7	8,2	8,8	6	6
	Máximo	471	6444	8775	22912	2180	2506	6040	3222	2718	716	306000	284000	8190000	6090800	49,8	40,5	16,1	12,6	8	9
Valor de p	Efeito de interação	0,34		0,93		0,72		0,29		0,21		0,59		0,132,3		0,64		0,64		0,77	
	Efeito de dia	0,33		0,69		0,94		0,02*		0,04*		0,45		0,6527		0,55		0,27		0,15	
	Efeito de grupo	0,44		0,71		0,49		0,2		0,89		0,66		0,0813,3		0,49		0,45		0,59	

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas.

Os valores médios dos resultados dos exames bioquímicos séricos de segurança do TIV (Tabela 10) mostram que houve diferença significativa para os valores de glicose, ALT, AST, GGT, TTPA e uréia, pelo teste de ANOVA com medidas. Nos casos da glicose, da ALT, da AST, da GGT e do TTPA a diferença foi apenas entre os momentos avaliados, independentemente do grupo, de forma que os valores de glicose, ALT, AST e GGT em MI foram, em média, menores do que em MII, enquanto os valores de TTPA foram, em média, maiores em MI do que em MII. No caso da uréia, foi detectado efeito de interação e, portanto, foram realizados testes de comparações múltiplas (Tabelas 11 e 12), os quais evidenciaram diferença significativa entre os momentos apenas para GII, sendo que os valores de uréia em MI foram, em média, menores do que em MII. Os valores médios dos resultados dos exames hematológicos de segurança do TIV e o teste de ANOVA com medidas repetidas revelaram diferença estatística significativa para os valores de BAST, HT e HEMO (Tabela 13). Em todos os casos houve diferença significativa entre os momentos avaliados, independentemente do grupo, de forma que os valores de BAST, HT e HEMO em MI foram, em média, maiores do que em MII.

Tabela 10. Valores médios dos exames hematológicos de segurança (neutrófilos bastonetes (BAST), neutrófilos segmentados (SEGM), eosinófilos (EOS), monócitos (MONO), plaquetas (PLAQ), hemácias (HEMA), hematócrito (HT), hemoglobina (HEMO) e proteínas (PROT)) dos animais do GI e GII do IV, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII)

Grupo	GLICOSE (mg/dL)		ALT (U/L)		AST (U/L)		FA (U/L)		GGT (U/L)		TTPA (segundos)		TPA (segundos)		FIBR (mg/dL)		URÉIA (mg/dL)		CREAT (mg/dL)		
	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI	
GI	Média	76,7	87	28,8	43	39,3	42,5	123,3	83,5	3,7	6,5	19,2	13,1	6,2	6	295	261,7	33,7	36,2	0,9	0,9
	Mediana	73	85,5	27,5	39,5	35,5	43	82,5	75	3	6	16,2	12,6	6	6	285	260	29	35,6	0,9	0,9
	Desvio padrão	20,4	17,2	7,9	16,3	10,9	12,5	98,8	33,9	2,3	2,3	4,8	3	0,3	0,1	110,2	96,2	17,7	8,1	0,1	0,2
	Mínimo	56,5	70,2	20	27	29	24	36	44	2	4	16	9,8	6	6	170	160	21	26	0,8	0,7
	Máximo	109	112,6	42	73	59	59	297	132	8	11	26,5	18,1	6,6	6,2	430	410	69	45,2	1	1,3
GII	Média	72,4	85,5	31	39	36,3	53	78,3	86	2,8	4,7	18,4	12,3	6,1	6,1	390	308,3	21	44	0,8	0,8
	Mediana	71,4	82,5	29	36	36	53,5	68,5	63	2,5	5	17,6	11,4	6	6	365	285	18,5	43,4	0,85	0,8
	Desvio padrão	8,1	12	8,6	11,7	20	17,4	45,2	75,8	1	1,6	3,3	3,2	0,1	0,2	78	57,1	7,8	6,8	0,1	0,1
	Mínimo	59,3	74,3	20	31	10	27	26	11	2	2	14,7	8,2	6	6	320	260	14	34,7	0,6	0,7
	Máximo	81,2	105,4	45	62	69	80	159	231	4	6	23,3	18,5	6,2	6,5	540	410	33	55,6	0,9	1,1
Valor de p	Efeito de interação	0,81		0,51		0,16		0,18		0,41		0,98		0,1		0,41		0,02		0,77	
	Efeito de dia	0,01*		0,03*		0,04*		0,35		0*		0*		0,44		0,06		0,01*		0,55	
	Efeito de grupo	0,67		0,85		0,64		0,57		0,18		0,61		0,93		0,12		0,63		0,16	

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas;

Nota: ALT: alanina aminotransferase, AST: aspartato aminotransferase, GGT: gama glutamiltransferase, FA: fosfatase alcalina, TTPA: tempo de tromboplastina parcial ativada, TPA: tempo de protombina.

Tabela 11. Resultados dos testes de comparações múltiplas entre os momentos considerados, separadamente para cada grupo do TIV, indicando diferença ($p < 0,05$) entre os valores médios de uréia apenas para o grupo tratado (GI)

Grupo	Comparação de interesse	Valor de p
GI	MI X MII	0,7
GII	MI X MII	0

Nota: MI: período pré-operatório, MII: término do período de tratamento, GI: grupo tratado, GII: grupo controle.

Tabela 12. Resultados dos testes de comparações múltiplas entre os grupos, separadamente para cada momento avaliado do TIV, não indicando diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de uréia entre os grupos

Momento	Comparação de interesse	Valor de p
MI	GIXGII	0,1
MII	GIXGII	0,1

Nota: MI: período pré-operatório, MII: término do período de tratamento, GI: grupo tratado, GII: grupo controle.

Tabela 13. Valores médios dos exames hematológicos de segurança (neutrófilos bastonetes (BAST), neutrófilos segmentados (SEGM), eosinófilos (EOS), monócitos (MONO), plaquetas (PLAQ), hemácias (HEMA), hematócrito (HT), hemoglobina (HEMO) e proteínas (PROT)) dos animais do GI e GII do TIV, nos momentos de pré-operatório (MI) e de término do período de avaliação (MII)

Grupo		BAST (cél/mm ³)		SEGM (cél/mm ³)		EOS (cél/mm ³)		LINF (cél/mm ³)		MONO (cél/mm ³)		PLAQ (cél/mm ³)		HEMA (cél/mm ³)		HT (%)		HEMO (g/dL)		PROT (g/dL)	
		MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII	MI	MII
GI	Média	405,5	135,2	8161,5	6910,2	534,7	605,8	649	2332,8	374,7	847,7	227166,7	159000	5300000	4948333	41,6	32,7	12,9	10,9	7,6	8,3
	Mediana	408	75	7791,5	7781	295	486	562	1912	321,5	739	226000	62000	5535000	5040000	39,3	32,2	13,4	10,8	7,5	8,1
	Desvio padrão	246,5	166,8	2265,22	2600,7	546,1	440	677,6	1152,8	342,6	408,6	134249,6	214255,9	735391	387526	14,7	3,5	1,8	1,3	0,9	0,6
	Mínimo	0	0	5852	2625	0	172	67	1274	0	297	20000	52000	4110000	4450000	27,5	29	9,8	9,5	6,4	7,4
	Máximo	752	393	11900	9246	1360	1179	1921	4158	776	1441	390000	592000	6050000	5350000	69,8	38,3	14,8	12,8	9	9
GII	Média	404,5	57,5	7730,7	6776,3	537,7	649	2204,2	3331,8	989	568,67	141500	127000	5870000	5176667	39,2	32,1	12,9	10,5	7,5	7,9
	Mediana	487,5	26	7516	5152,5	516	562	2332,5	2306,5	793	465	154000	91500	6020000	5320000	40	33,4	13,3	11,1	7,1	7,5
	Desvio padrão	335,2	87,7	2873,5	4556,8	370,2	677,6	1025,9	3164,2	663,1	539,6	107021	108463,8	707870	1236765	3,8	6,8	1,3	2,1	1,1	1,3
	Mínimo	0	0	4028	4004	160	67	968	780	440	0	17000	35000	4650000	3650000	33,2	22,1	11,1	7,3	6,2	6,4
	Máximo	800	226	11289	15820	1113	1921	3423	9126	2235	1356	285000	319000	6560000	6680000	43,5	39,2	14,4	12,8	9,2	10,1
Valor de p	Efeito de interação	0,59		0,92		0,93		0,56		0,1		0,52		0,63		0,81		0,77		0,8	
	Efeito de dia	0,00*		0,48		0,7		0,5		0,92		0,32		0,15		0,04*		0,00*		0,12	
	Efeito de grupo	0,73		0,79		0,91		0,57		0,26		0,45		0,24		0,64		0,79		0,65	

*Houve diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de ANOVA com medidas repetidas.

Os resultados dos testes de segurança realizados neste estudo esclarecem que a administração do nutracêutico condroprotetor utilizado não interferiu negativamente no organismo dos animais. Tal conclusão justifica-se pela observação de diferença significativa entre os momentos de pré-operatório e término do período de avaliação apenas para os valores de AST do GII do TI e para os valores de uréia do GII do TIV. As demais diferenças obtidas ocorreram de forma independente dos momentos considerados ou dos grupos, ou ocorreram diferenças entre os grupos somente nos valores referentes ao momento de pré-operatório (MI).

Adicionalmente, a administração do nutracêutico não desencadeou o quadro de anorexia e diarreia sanguinolenta relatados por TODHUNTER (1994), MCNAMARA (1997) e MELO et al. (2003) em decorrência da administração parenteral do sulfato de condroitina e glucosamina em cães. Os resultados deste trabalho concordam com os relatos de HAAN et al. (1994), CHARD & DIEPPE (2001) e MILLER & CLEEG (2011), os quais também concluíram que tais substâncias não estão relacionadas a efeitos adversos significativos, sejam eles clínicos, hematológicos ou hemostáticos, quando administrados pela via oral. A diferença entre os estudos podem estar relacionadas à via de administração e/ou dose empregadas.

Embora a formulação nutracêutica de sulfato de condroitina e glucosamina utilizada neste trabalho possa ser considerada segura, deve-se levar em consideração que as pesquisas com estas substâncias diferem entre si quanto as suas formulações farmacêuticas, de forma que não existem garantias sobre a concentração, farmacocinética e farmacodinâmica destas preparações particulares e, portanto, tanto os resultados benéficos quanto os efeitos adversos não devem ser extrapolados para qualquer formulação de condroprotetor.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados dos exames de segurança e nas condições em que o presente estudo foi realizado, conclui-se que o nutracêutico condroprotetor, na formulação, dosagem e período de administração utilizados, não ocasionou efeitos adversos em cães, podendo ser considerado seguro.

Informe verbal: Renato Barros Eleotério. Endereço: Cani & Gatti Clínica Veterinária, Rua Drº Renê Correa, nº60, Bairro Jardim Madalena, Vargem Grande Paulista, CEP 06730-000, SP – Brasil. Endereço eletrônico: renato_ufv@hotmail.com. Informação cedida em defesa de dissertação de Mestrado no Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa em 28 de fevereiro de 2011.

REFERÊNCIAS

BIASI, F. et al. Reconstrução do ligamento cruzado em cães, associado ou não ao sulfato de condroitina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p.442-447, 2005.

CHARD, J.; DIEPPE, P. Glucosamine for osteoarthritis: magic, hype, or confusion? **British Medical Journal**, v.322, p.1 439-1440, 2001.

CLARK, D.M. Current concepts int the treatment of degenerative joint disease. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.13, p.1439-1446, 1991.

JOHNSON, A.L.; DUNNING, D.D. **Atlas of Orthopedic Surgical Procedures of the Dog and Cat**. Philadelphia: Saunders, 2005. p.52.

HAAN, J.J.; GORING, R.L.; BEALE, B.S. Evaluation of polysulfated glycosaminoglycan for the treatment of hip dysplasia in dogs. **Veterinary Surgery**, v.23, p.177-181, 1994.

LIPPIELLO, L. et al. *In vivo* chondroprotection and metabolic synergy of glucosamine and chondroitin sulfate. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v.40, p.381:229, 2000.

MCNAMARA, P.S. et al. Slow-acting, disease modifying osteoarthritis agents osteoarthritis. **Veterinary Clinics of North America-Small Animal Practice**, v.27, p.863-881, 1997.

MELO, E.G. et al. Sulfato de condroitina e hialuronato de sódio no tratamento da doença articular degenerativa experimental em cães. Aspectos clínicos e radiológicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.1, p.35-43, 2003.

MELO, E.G. et al. Sulfato de condroitina e hialuronato de sódio no tratamento da doença articular degenerativa em cães. Estudo histológico da cartilagem articular e membrana sinovial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.83-92, 2008a.

MELO, E.G. et al. Effect of chondroitin sulfate and sodium hyaluronate on chondrocytes and extracellular matrix of articular cartilage in dogs with degenerative joint disease. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.93-102, 2008b.

MILLER, K.L.; CLEGG, D.O. Glucosamine and chondroitin sulfate. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v.37, p.103-118, 2011.

TAYLOR, T.K. et al. Spinal biomechanics and aging are major determinants of the proteoglycan metabolism of intervertebral disc cells. **Spine**, v.25, p.3014-3020, 2000.

TODHUNTER, R.J. Anatomy and physiology of synovial joints. In: McLLWRAITH, C.W.; TROTTER, G.W. **Joint disease in the horse**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. p.1-28.

VAUGHAN-SCOTT, T.; TAYLOR, J.H. The pathophysiology and medical management of canine osteoarthritis. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.68, p.21-25, 1997.

CONCLUSÕES GERAIS

Com base nos dados obtidos, foi possível concluir que o condroprotetor, na dosagem, formulação e período de administração utilizados neste estudo, pode ser considerado seguro, porém não proporcionou melhora dos sinais clínicos, não influenciou na aparência radiográfica dos defeitos osteocondrais, não possuiu efeito sobre a reparação de da cartilagem articular de cães. Como os defeitos osteocondrais não estavam completamente reparados até os 90 dias de pós-operatório, novas pesquisas devem prosseguir com períodos de tratamento mais prolongados para avaliar o desfecho do processo reparativo.

REFERÊNCIAS

BIASI, F. et al. Reconstrução do ligamento cruzado em cães, associado ou não ao sulfato de condroitina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p.442-447, 2005.

CLARK, D.M. Current concepts int the treatment of degenerative joint disease. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.13, p.1439-1446, 1991.

MELO, E.G. et al. Sulfato de condroitina e hialuronato de sódio no tratamento da doença articular degenerativa em cães. Estudo histológico da cartilagem articular e membrana sinovial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.83-92, 2008.

MILLER, K.L.; CLEGG, D.O. Glucosamine and chondroitin sulfate. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v.37, p.103-118, 2011.

SAWITZKE, A.D. et al. Clinical efficacy and safety of glucosamine, chondroitin sulfate, their combination, celecoxib or placebo taken to treat osteoarthritis of the knee: 2-yr results from GAIT. **Annals of The Rheumatic Diseases**, v.69, p.1459-1464, 2010.

VAUGHAN-SCOTT, T.; TAYLOR, J.H. The pathophysiology an medical manegement of canine osteoarthritis. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.68, p.21-25, 1997.

ANEXO I

Valores de referência disponíveis na literatura e adotados para interpretação dos testes de segurança:

ALT	10 - 88 U/L
AST	10 - 88 U/L
Basófilos	Raros
Creatinina	0,6 - 1,6 mg/dL
Eosinófilos	100 - 1490/mm ³
Fibrinogênio	200 - 500 mg/dL
Fosfatase alcalina	20 - 150 U/L
GGT	1 - 10 U/L
Glicose	70 - 109 mg/dL
Hemácias	5,5 - 8,5x10 ⁶ /mm ³
Hemoglobina	12,0 - 18,0 g/dL
Hematócrito	37 - 55%
Linfócitos	1.000 - 4.900/mm ³
Monócitos	100 - 1.400/mm ³
Neutrófilos bastonetes	0 - 299/mm ³
Neutrófilos segmentados	3.000 - 12.000/mm ³
Proteínas plasmáticas totais	5,4 - 7,7 g/dL
Plaquetas	175.000 - 500.000/mm ³
Uréia	20 - 50 mg/dL
Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA)	Até 10 segundos acima do plasma controle
Tempo de protombina (TPA)	Maior ou igual a 70% do plasma controle

FONTE: Manual de Exames Veterinários 2006-2007. Instituto Hermes Pardini – Divisão Veterinária.

ANEXO II



Instruções aos autores

Artigos científicos inéditos, revisões de literatura e relatos de caso enviados à redação são avaliados pela equipe editorial. Em face do parecer inicial, o material é encaminhado aos consultores científicos. A equipe decidirá sobre a conveniência da publicação, de forma integral ou parcial, encaminhando ao autor sugestões e possíveis correções. Para esta primeira avaliação, devem ser enviados pela internet (cvredacao@editoraguara.com.br) um arquivo texto (.doc) com o trabalho e imagens digitalizadas em formato .jpg . No caso dos autores não possuírem imagens digitalizadas, cópias das imagens originais (fotos, slides ou ilustrações acompanhadas de identificação de propriedade e autor) devem ser encaminhadas pelo correio ao nosso departamento de redação. Os autores devem enviar também a identificação de todos os autores do trabalho (nome completo, RG, CPF, endereço residencial com cep, telefones e e-mail). Os artigos de todas as categorias devem ser acompanhados de versões em língua inglesa e espanhola de: título, resumo (de 700 a 800 caracteres) e unitermos (3 a 6). Os unitermos não devem constar do título. Devem ser dispostos do mais abrangente para o mais específico (eg, “cães, cirurgias, abscessos, próstata). Verificar se os unitermos escolhidos constam dos “Descritores em Ciências de Saúde” da Bireme (<http://decs.bvs.br/>). Utilizar letra arial tamanho 10, espaço simples. Não deixar linhas em branco ao longo do texto, entre títulos, após subtítulos e entre as referências. No caso do material ser totalmente enviado por correio, devem necessariamente ser enviados, além de uma apresentação impressa, uma cópia em CD-ROM. Imagens como tabelas, gráficos e ilustrações não podem ser provenientes de literatura, mesmo que seja indicada a fonte. Imagens fotográficas devem possuir indicação do fotógrafo e proprietário; e quando cedidas por terceiros, deverão ser obrigatoriamente acompanhadas de autorização para publicação e cessão de direitos para a Editora Guará. Quadros, tabelas, fotos, desenhos, gráficos deverão ser denominados figuras e numerados por ordem de aparecimento das respectivas chamadas no texto. As referências bibliográficas serão indicadas ao longo do texto apenas por números sobrescritos ao texto, que corresponderão à listagem ao final do artigo – autores e datas não devem ser citados no texto. A apresentação das referências ao final do artigo deve seguir as normas atuais da ABNT e elas devem ser numeradas pela ordem de aparecimento no texto. Utilizar o formato v. para volume, n. para número e p. para página. Não utilizar “et al” – todos os autores devem ser relacionados. Não abreviar títulos de periódicos. Utilizar edições atuais de livros. Edições desatualizadas não devem ser utilizadas. Com relação aos princípios éticos da experimentação animal, os autores deverão considerar as normas do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). Informações referentes a produtos utilizados no trabalho devem ser informadas em rodapé, com chamada no texto com letra sobrescrita ao princípio ativo ou produto. No rodapé devem

constar o nome comercial, fabricante, cidade e estado. Para produtos importados informar também o país de origem, o nome do importador/distribuidor, cidade e estado.

Revista Clínica Veterinária / Redação
Rua dr. José Elias 222 - Alto da Lapa - CEP 05083-030 - São Paulo - SP
e-mail: cvredacao@editoraguara.com.br

Instruções aos Autores

A REVISTA:

O periódico **Revista Ceres** é editado pela Universidade Federal de Viçosa (CNPJ: 25.944.455.0001/96) e destina-se à publicação de trabalhos científicos sobre temas originais de pesquisa nas áreas de produção e biotecnologia vegetal, medicina veterinária, zootecnia, ciência e tecnologia de alimentos, economia e sociologia rural, engenharia agrícola e engenharia florestal. Os trabalhos encaminhados para publicação serão submetidos à aprovação pelo Corpo Editorial, após a análise crítica de dois revisores (especialistas da área), de um editor associado e da comissão editorial. A lista de especialistas que colaboraram em cada volume é apresentada no último número publicado do ano.

Artigos da área animal só serão aceitos se aprovados por um Comitê de Ética. O Comitê de Ética do Departamento de Veterinária da UFV avaliará os trabalhos recebidos que não tenham sido submetidos anteriormente a outro comitê de Ética.

Os artigos aceitos para publicação tornam-se propriedade da **Revista Ceres**. Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva à Revista.

INSTRUÇÕES PARA O ENVIO E TRAMITAÇÃO DOS ARTIGOS :

Os trabalhos devem ser submetidos exclusivamente *on line* acessando-se o site www.ceres.ufv.br. Para proceder à submissão o autor correspondente deve solicitar seu cadastramento via e-mail enviado para ceresonline@ufv.br, informando seu nome completo, CPF, título do artigo, área de atuação e instituição em que trabalha ou estuda. Os demais autores devem enviar mensagem eletrônica para o mesmo endereço, indicando sua concordância com a submissão do artigo. Uma vez cadastrado, o trabalho deverá ser remetido, seguindo-se as instruções que constam no ícone "envio de artigo" da página inicial. Vale ressaltar que os artigos fora das normas serão imediatamente devolvidos aos autores. Após receber o protocolo, quando os pareceres ad-hoc estiverem disponíveis, as correções solicitadas deverão ser feitas clicando-se no ícone "tramitação on line". Na caixa de diálogo que se abre, os pareceres e sugestões podem ser vistos clicando-se sobre o número de protocolo do artigo, situado à esquerda. As alterações e revisões

deverão ser feitas em formato word 97-2003, anexadas no campo correspondente e enviadas à revista. Após o envio abre-se uma caixa de diálogo para qualquer observação que os autores julgarem necessária. Pode-se usar o recurso "recortar" "colar" nesse campo.

Os revisores e editores de área deverão emitir seu parecer clicando no ícone "tramitação on line". Clicando sobre o número de protocolo do artigo terão acesso às versões disponíveis, que poderão ser salvas em seus computadores. Após realizar a revisão, o arquivo corrigido, e em formato word 97-2003, deve ser anexado no campo correspondente e enviado à revista. Após o envio abre-se uma caixa de diálogo para emissão de pareceres, questionamentos, sugestões etc. Pode-se usar o recurso "recortar" "colar" nesse campo.

TIPOS DE TRABALHOS:

A *Revista Ceres* publica Artigos, Comunicações, Revisões (a convite) e Cartas ao Editor.

Artigo: Deve relatar um trabalho original completo, em que a reprodutibilidade dos resultados está claramente estabelecida. O texto deve ter no máximo 25 páginas, incluindo-se as referências, figuras e tabelas.

Comunicação científica: Deve relatar resultados conclusivos e não dados preliminares. É um formato alternativo para descrever, de forma mais concisa, resultados parciais de um trabalho mais amplo, ou de relatar resultados conclusivos baseados em um menor volume de dados. O texto completo deve ter no máximo 10 páginas, incluindo-se as referências, figuras e tabelas.

Revisão: Deve reportar, em profundidade, o estado da arte de determinado tema, após convite da Comissão Editorial, sem limite de páginas.

Carta ao editor: Deve retratar, de forma informal, algum tema técnico-científico de interesse da comunidade de ciências agrárias ou biológicas. Sua publicação fica a critério da Comissão Editorial.

ESTILO E FORMATO:

Os trabalhos devem ser redigidos em português, inglês ou espanhol, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o Webster's Third New International Dictionary. Para ortografia em português adota-se o Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa, da Academia Brasileira de Letras. Para ortografia em espanhol recomenda-se o Dicionario de La Lengua Española, da Real Academia Española. Os trabalhos submetidos em inglês e espanhol deverão conter resumo em português e vice-versa. O texto deve ser digitado em Microsoft Word, justificado, em espaço duplo, fonte Times New Roman, tamanho 12. O formato da página deverá ser A4, com margens de 3 cm. Sugere-se a consulta de artigos publicados recentemente para maiores esclarecimentos sobre as seções contidas em

um artigo ou comunicação, descritas a seguir, na ordem de apresentação.

SEÇÕES DE ARTIGO OU COMUNICAÇÃO:

Título: Deverá ter no máximo 15 palavras, centralizadas e em negrito. Apenas a primeira palavra com a letra inicial em maiúscula e as demais em minúscula, exceto em casos pertinentes (p. ex., nomes científicos; *Phaseolus vulgaris*). Se necessário, introduzir nota de rodapé ao seu final, usando algarismo arábico sobrescrito. Os nomes dos autores devem ser listados em sequência e centralizados abaixo do título, por extenso e com letras maiúsculas/minúsculas. Cada autor é acompanhado de um algarismo arábico. Os algarismos também são listados, em notas de rodapé, com o endereço dos autores e a sua instituição. Deve estar indicado o autor para correspondência com telefone, fax e e-mail, além do endereço completo.

Rodapé: Deve fornecer informações sobre o trabalho (se foi extraído de tese ou dissertação, etc., e fonte financiadora) e sobre cada um dos autores: formação, titulação máxima, departamento, instituição, endereço comercial (rua, número, bairro, CEP, cidade, estado, país) e e-mail.

Resumo: A palavra "Resumo" Deve ser escrita em letras maiúsculas, alinhada à esquerda. Na linha subsequente ao título dessa seção, o texto do resumo deve ser iniciado com uma ou duas linhas introdutórias, tendo no máximo 250 palavras em um só parágrafo.

Palavras chave: Em número mínimo de três e máximo de seis, citadas em parágrafo subsequente ao Resumo, preferencialmente sem repetir palavras contidas no título do trabalho.

Abstract: A palavra "Abstract" deve ser escrita em letras maiúsculas, alinhada à esquerda. Na linha subsequente ao título dessa seção deve-se inserir o título em inglês, português ou espanhol, conforme o caso, negrito e centralizado. O abstract e o Resúmen devem corresponder ao resumo.

Key words: citadas em parágrafo subsequente ao Abstract. Devem corresponder às palavras chave.

Introdução: O título dessa seção, "INTRODUÇÃO", deve ser escrito em letra maiúscula, alinhado à esquerda. A introdução deve ater-se ao problema do trabalho em pauta, situando o leitor quanto à sua importância e objetivos, estando estes últimos claramente expressos ao final da introdução.

Material e Métodos: O título dessa seção, "MATERIAL E MÉTODOS", deve ser escrito em letra maiúscula, alinhado à esquerda. A seção "Material e Métodos" deve ser redigida com detalhes suficientes para que o trabalho possa ser repetido.

Resultados e Discussão: O título da seção, "RESULTADOS E DISCUSSÃO", deve ser escrito em letra maiúscula, alinhado à esquerda. O texto deve ser claro e conciso, apoiado na literatura pertinente. Resultados e Discussão são seções que podem vir juntas ou separadas.

OBS.: As seções **Material e Métodos**, **Resultados e Discussão** poderão conter subseções, indicadas por subtítulos escritos em itálico e negrito, iniciados por letra maiúscula e centralizados.

Conclusões: O título da seção "CONCLUSÕES" deve ser escrito em letra maiúscula, alinhado à esquerda. As conclusões devem ser concisas e derivadas dos dados apresentados e discutidos.

Referências: O título da seção "REFERÊNCIAS" deve ser escrito em letra maiúscula, alinhado à esquerda. As referências devem ser listadas por ordem alfabética. Seguem os exemplos:

a) Artigos de periódicos:

Anselme KL (2000) Review: Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*, 21:667-681.

Davies JE & Baldan N (1997) Scan electron microscopy of the bone-bioactive implant interface. *Journal of Biomedical Material Research*, 36:429-440.

Conz MB, Granjeiro JM & Soares GA (2005) Physicochemical characterization of six commercial hydroxyapatites for medical-dental applications on bone graft. *Journal of Applied Oral Sciences*, 13:136-140.

b) Livros:

Orefice RL, Pereira MM & Mansur HS (2006) *Biomateriais: Fundamentos e aplicações*. 3ª ed. Rio de Janeiro, Cultura Médica. 538p.

c) Capítulos de livros:

Costa EF, Brito RAL & Silva EM (1994) Cálculos e manejo da quimigação nos sistemas pressurizados. In: Costa EF, Vieira RF & Viana PA (Eds.) *Quimigação: Aplicação de produtos químicos e biológicos via irrigação*. Brasília, EMBRAPA. p.183-200.

d) Trabalhos em anais de congresso:

Junqueira Netto A, Sedyama T, Sedyama CS & Rezende

PM (1982) Análise de adaptabilidade e estabilidade de dezesseis cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em seis municípios do sul de Minas Gerais. In: 1ª Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, Goiânia. Anais, EMBRAPA/CNPAF. p.47-48.

e) Teses e dissertações:

Wutke EB (1998) Desempenho do feijoeiro em rotação com milho e adubos verdes. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 146p.

f) CD-ROM:

França MHC & Omar JHDH (2004) Estimativa da função de produção do arroz no estado do Rio Grande do Sul: 1969 a 1999. In: 2º Encontro de Economia Gaúcha, Porto Alegre. Anais, FEE. CD-ROM.

g) Internet: Darolt MR & Skora Neto F (2002) Sistema de plantio direto em agricultura orgânica. Disponível em: <<http://www.planetaorganico.com.br/daroltsist.htm>>. Acessado em: 23 de abril de 2009.

No texto, citar as referências nos formatos: (Autor, Ano), (Autor & Autor, Ano), (Autor *et al.*, Ano) ou (Silva, 1999; Arariki & Borges, 2003; Santos *et al.*, 2007), sempre em ordem cronológica ascendente. A referência deve ser citada ao final de um período que expresse uma idéia completa. Quando os nomes dos autores forem parte integrante do texto, menciona-se a data da publicação citada entre parênteses, logo após o nome do autor, conforme exemplos: Fontes (1999), Borges & Loreno (2007), Batista *et al.* (2005).

Citação de citação: Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Entretanto, nem sempre é possível. Nesse caso, pode-se reproduzir informação já citada por outros autores. Pode-se adotar o seguinte procedimento: no texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor do documento consultado com o ano de publicação; na listagem das referências deve-se incluir a referência completa da fonte consultada.

Comunicação pessoal: Não faz parte da lista de referências, sendo colocada apenas em nota de rodapé. Coloca-se o sobrenome do autor seguido da expressão “comunicação pessoal”, a data da comunicação, nome, estado e país da Instituição ao qual o autor é vinculado.

NORMAS PARA AS ILUSTRAÇÕES E TABELAS:

As figuras e tabelas, todas alocadas em páginas individuais ao final do texto, devem ser numeradas com algarismos arábicos, ficando a legenda posicionada abaixo nas figuras e acima nas tabelas. Figuras e tabelas não devem repetir os mesmos dados. Figuras submetidas em formato eletrônico devem apresentar resolução mínima de 300 dpi, em formato TIFF ou JPG. Toda ilustração que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, dados sobre a fonte (autor, data) de onde foi extraída. A referência bibliográfica completa relativa à fonte da ilustração deve figurar na seção Referências. As despesas de impressão de ilustrações coloridas correrão por conta dos autores.

Tabela: O termo refere-se ao conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Deve ser construída apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e ao final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tabela.

Figura: O termo refere-se a qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. Os desenhos, gráficos, etc. devem ser bem nítidos. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Figura.

CUSTOS:

A publicação do trabalho implicará no pagamento de uma taxa de R\$150,00 (além do custo de R\$ 50,00 por ilustração colorida), por ocasião do retorno das provas tipográficas. O pagamento deverá ser feito na forma de Boleto Eletrônico, a ser gerado no endereço www.ceres.ufv.br. De posse do boleto impresso, basta quitá-lo em uma agência bancária ou caixa automática e enviá-lo por FAX (0XX 31 38992136) à Revista Ceres. Solicita-se informar, via e-mail, a data e o número do boleto, quando forem feitos depósitos em que os autores não são identificados (recursos de convênios, departamentos, coordenações, etc.).



ANEXO IV



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Tipos de artigos aceitos para publicação](#)
- [Política editorial](#)
- [Preparação dos manuscritos para publicação](#)
- [Citações bibliográficas](#)
- [Submissão dos trabalhos](#)

ISSN 0102-0935 *versão impressa*

ISSN 1678-4162 *versão online*

Tipos de artigos aceitos para publicação

Artigo Científico. É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa. Seções do texto: Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão e Conclusões. O número total de páginas não deve exceder a 15.

Relato de Caso. Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada. Seções do texto: Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes). O número total de páginas não deve exceder a 10.

Comunicação. É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico. Levantamentos de dados (ocorrência, diagnósticos, etc.) também se enquadram aqui. Deve ser compacto, com no máximo seis páginas impressas, sem distinção das seções do texto especificadas para "Artigo Científico", embora seguindo aquela ordem. Quando a comunicação for redigida em português deve conter um "Abstract" e quando redigida em inglês deve conter um "Resumo".

Política editorial

Publicar trabalhos científicos originais (artigos, relatos de casos e comunicações) que sejam de interesse para o desenvolvimento da ciência animal. Serão recomendados para publicação somente os trabalhos aprovados pelos editores, baseados na recomendação de dois revisores científicos da área pertinente e/ou do corpo editorial.

Preparação dos manuscritos para publicação

Os trabalhos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras. Os trabalhos submetidos em inglês deverão conter resumo em português e vice-versa.

Os trabalhos e ilustrações deverão ser apresentados em Microsoft Word, folha no formato A4, fonte Times New Roman tamanho 12, espaço entre linhas 1,5, margens de 3cm, com páginas e linhas numeradas (numeração contínua).

Seções de um trabalho

Título. Em português e em inglês. Deve ser o resumo do resumo e não ultrapassar 100 dígitos.

Autores. Os nomes dos autores virão abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. Deve estar indicado o autor para correspondência com endereço completo, telefone, fax e e-mail.

Resumo e Abstract devem conter no máximo 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título. Cada frase é uma informação. Atenção especial às conclusões.

Palavras-chave e Keywords. No máximo cinco.

Introdução. Explanação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência, relevância e os objetivos do trabalho.

Material e Métodos. Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Não usar subtítulos. Nos trabalhos que envolvam animais ou organismos geneticamente modificados deverá constar o número do protocolo de aprovação do Comitê de Bioética e/ou de Biossegurança.

Resultados. Apresentar clara e objetivamente os principais resultados encontrados.

Discussão. Discutir somente os resultados obtidos no trabalho.

Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto.

Conclusões. As conclusões devem estar apoiadas nos dados da pesquisa executada.

Ilustrações. São tabelas e figuras. Toda ilustração que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, dados sobre a fonte (autor, data) e a correspondente referência deve figurar na lista bibliográfica final.

Tabela. Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação do cabeçalho e no final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tab., mesmo quando se referir a várias tabelas.

Figura. Qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Fig., mesmo se referir a mais de uma figura. As figuras devem ser enviadas em arquivo separado, extensão.jpg.

Agradecimentos. Devem ser concisamente expressados.

Referências bibliográficas. As referências devem relacionadas em ordem alfabética.

Citações bibliográficas

Citações no texto deverão ser feitas de acordo com ABNT/NBR 10520 de 2002. A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

- autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)
- dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
- mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979)
- mais de um trabalho citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para trabalhos do mesmo ano.

Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão citado por e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Na listagem de referência, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal. Não fazem parte da lista de referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

Referências bibliográficas

São adotadas as normas ABNT/NBR-6023 de 2002, simplificadas conforme exemplos:

Periódicos

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

Publicação avulsa

DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo.* México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo.* México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: *National Academy of Sciences*, 1968. 69p.

SOUZA, C. F. A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte.* 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Documentos eletrônicos

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. *Miami Herald*, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-Related-Articles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

Submissão dos trabalhos

A submissão dos trabalhos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico www.abmvz.org.br

Taxas de publicação

Taxa de submissão. O pagamento, no valor de R\$30,00, será feito por meio de boleto bancário (emitido quando da submissão do artigo). O autor deverá informar os dados para emissão da nota fiscal (Nome ou Razão Social, CPF ou CNPJ, Endereço).

Taxa de publicação. A taxa de publicação de R\$55,00, por página impressa, será cobrada do autor indicado para correspondência, por ocasião da prova final do artigo. Se houver necessidade de impressão em cores, as despesas correrão por conta dos autores.

[[Home](#)] [[Sobre esta revista](#)] [[Corpo editorial](#)] [[Assinaturas](#)]



Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma [Licença Creative Commons](#)

Caixa Postal 567
30123-970 Belo Horizonte MG Brasil
Tel: +55 31 3499-2042
Fax: +55 31 3499-2041



journal@vet.ufmg.br

ANEXO V



Página inicial Artigos publicados Assinatura Indexação Consultores
Normas Situação do artigo Sobre nós Submissão online Taxas

Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão (Modelo .doc, .pdf).**

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e

Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo .doc, .pdf).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** (Modelo .doc, .pdf).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:
JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:
GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:
COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.
TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:
O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:
RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação:
COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:
ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal:
Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:
MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague:

WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

13. Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

Ciência Rural
Universidade Federal de Santa Maria - Centro de Ciências Rurais
Prédio 42, Sala 3104 97105-900 - Santa Maria, RS, Brasil
E-mail: cienciarural@mail.ufsm.br
Fone/Fax: (55) 32208698
Fax: (55) 32208695