



UNISUL

UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

DANIELA BOAVENTURA FORTUNATO

**AVALIAÇÃO DO TEMPO DE TRATAMENTO E EFICIÊNCIA DA CURCUMINA
COMO TERAPIA ADJUVANTE EM CÃO COM OSTEOARTRITE**

Tubarão

2018

DANIELA BOAVENTURA FORTUNATO

**AVALIAÇÃO DO TEMPO DE TRATAMENTO E EFICIÊNCIA DA CURCUMINA
COMO TERAPIA ADJUVANTE EM CÃO COM OSTEOARTRITE**

Resultados de pesquisa apresentado ao Curso de Medicina Veterinária, da Universidade do Sul de Santa Catarina, como requisito parcial para aprovação na unidade de aprendizagem trabalho de conclusão de curso II.

Orientadora: Débora Maria Marques Callado de Oliveira, Ma

Tubarão

2018

DANIELA BOAVENTURA FORTUNATO

**AVALIAÇÃO DO TEMPO DE TRATAMENTO E EFICIÊNCIA DA CURCUMINA
COMO TERAPIA ADJUVANTE EM CÃO COM OSTEOARTRITE**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado à obtenção de nota parcial para aprovação na unidade de aprendizagem trabalho de conclusão de curso II em Medicina Veterinária da Universidade do Sul de Santa Catarina.

Tubarão, _____ de junho de 2018.

Prof^ª e orientadora Débora Maria Marques Callado de Oliveira, Ma
Universidade do Sul de Santa Catarina

MV. Marina Parissi Aciolly, Ma

Mariana Pereira de Souza Goldim, Ma
NEUROIMet- Núcleo Sepse, Universidade do Sul de Santa Catarina

"A ausência de evidências não é evidência de ausência"

Carl Sagan

RESUMO

A displasia coxofemoral é uma doença progressiva e irreversível, que gera dor articular, descrita como a causa mais importante de osteoartrite secundária em cães. Não há cura conhecida, dada à inexistência de agentes terapêuticos capazes de restabelecer a articulação em seu aspecto fisiológico. A curcumina, um curcuminóide fenólico natural, pode ser uma alternativa de tratamento a longo prazo para a osteoartrite, por ter efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, sem efeitos colaterais relatados na literatura. Neste estudo realizado no Hospital Veterinário Unisul, foi avaliado um cão de grande porte, com idade de 13 anos, da raça Labrador, diagnosticado com osteoartrite secundária à displasia coxofemoral, o qual instituiu-se em um primeiro momento o tratamento com sulfato de condroitina, glucosamina e o adjuvante curcumina, por um período de 10 dias consecutivos. Em um segundo momento, foi utilizado o mesmo tratamento anterior associado ao meloxicam, nos primeiros 5 dias, porém, este segundo tratamento teve duração de 30 dias. Objetivou-se avaliar o tempo de tratamento e a eficácia da curcumina como terapia adjuvante sobre o dano oxidativo aos lipídeos e estado clínico de um cão com osteoartrite em tratamento com duração de 10 e 30 dias. Obteve-se no primeiro tratamento (10 dias) melhora em 25% dos quesitos de avaliação clínica, em contrapartida, no segundo tratamento (30 dias) houve melhora em 75% dos quesitos. Na avaliação do dano aos lipídeos houve um pequeno incremento de 3%, não significativo, no primeiro período de avaliação; já no segundo momento, houve redução de 65% do estresse oxidativo, ambos estudos sem aparecimento de efeitos adversos. Conclui-se que a terapia com a curcumina pode ser uma grande aliada ao tratamento da osteoartrite em cães, com resultados analgésicos e anti-inflamatórios a longo prazo, sem efeitos colaterais.

Palavras-chave: Displasia coxofemoral, dano oxidativo, inflamação, espécies reativas de oxigênio, *Curcuma longa*.

ABSTRACT

Coxofemoral dysplasia is a progressive and irreversible disease that generates joint pain, which is described as the most important cause of secondary osteoarthritis in dogs. Given the inexistence of therapeutic agents capable of reestablishing the joint in its physiological aspect, there is no known cure. Curcumin, a natural phenolic curcumin, may be a long-term treatment alternative for osteoarthritis, because it has anti-inflammatory and antioxidant effects, with no side effects reported in the literature. In this study, developed at the Unisul Veterinary Hospital, a large dog with 13 years old of the Labrador breed, diagnosed with osteoarthritis secondary to hip dysplasia, was evaluated. The dog was initially treated with chondroitin sulfate, glucosamine and adjuvant curcumin for a period of 10 consecutive days. In a second moment, the previous treatment associated with meloxicam was used in the first 5 days, but this second treatment lasted 30 days. The objective of this study was to evaluate the treatment time and efficacy of curcumin as an adjuvant therapy for lipid oxidative damage and clinical status of a dog with osteoarthritis treated for 10 and 30 days. In the first treatment (10 days), improvement of 25% of the clinical assessment questions was achieved, in contrast, in the second treatment (30 days) there was improvement of 75% of these items. In the assessment of lipid damage, there was a small increase of 3%, not significant, in the first evaluation period; at the second moment, there was a reduction of 65% of oxidative stress, both studies without appearance of adverse effects. It can be concluded that curcumin therapy may be a great ally in the treatment of osteoarthritis in dogs, with long-term analgesic and anti-inflammatory results, with no side effects.

Key words: hip dysplasia, oxidative damage, inflammation, reactive oxygen species, *Curcuma longa*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ativação da via de sinalização do TNF- α , resultando na formação de NF-kB e AP-1.....	25
Figura 2 - Via do ácido araquidônico para a biossíntese dos eicosanoides, participantes importantes na resposta inflamatória, gerando vários mediadores pró-inflamatórios incluindo leucotrienos, prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos.....	26
Figura 3 – Linha do tempo apresentando as avaliações realizadas durante a pesquisa.....	31
Figura 4 – Linha do tempo apresentando as avaliações realizados durante o tratamento de 10 dias (T1), e durante o tratamento de 30 dias (T2)	36

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Sistema de pontuação estabelecido pela Federação Cinológica Internacional, segundo Fluckiger, 2007, para a classificação da displasia coxofemoral.....	20
Quadro 2: Sistema de pontuação utilizado para classificação de sinais clínicos.....	32

LISTA DE SIGLAS

5-HPETE – 5-Hydroperoxyeicosatetraenoic acid
AINE – Anti-inflamatório Não Esteroidal
AP-1 – Ativador de Proteína-1
CEP – Comissão de Ética em Pesquisa
CEUA – Comissão de Ética de Uso Animal
COX – Cicloxigenase
COX-1 – Cicloxigenase-1
COX-2 – Cicloxigenase-2
DNA – Ácido Desoxirribonucleico
EDTA K2 – Ácido Etilenodiaminotetracético Dipotássico
ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
EROs – Espécies Reativas de Oxigênio
GABA – Ácido γ -aminobutírico
GLM – General Linear Model
IKB α – Inibidor do κ B
IKK – I Kappa B Quinase
IL-1B – Interleucina-1 β
JNK – C-Jun N-Terminal Quinase
LAPAC – Laboratório de Patologia Clínica
LOX – Lipoxigenase
LOX-5 – Lipoxigenase-5
LPS – Lipopolissacarídeo
LT – Leucotrienos
MMP – Metaloproteinase de Matriz
NF- κ B – Fator Nuclear Kappa B
OA - Osteoartrite
PG – Prostaglandina
PGE - Prostaglandina
PGE2 – Prostaglandina E2
PGF2 – Prostaglandina F2
PGF2 α – Prostaglandina F2 α

PGG2 – Prostaglandina G2

PGH2 – Prostaglandina H2

PGI - Prostaciclina

PLA2 – Fosfolipase A2

SOD – Superóxido Dismutase

TFG- β – Fator de Transformação e Crescimento- β

TLR4 – Receptor do tipo Toll

TNFR-2 – Receptor do Fator de Necrose Tumoral 2

TNF α – Fator de Necrose Tumoral α

TRAF – Tumor Receptor-Associated Factors

TX – Tromboxano

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UNISUL – Universidade do Sul de Santa Catarina

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Normas da revista <i>Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology</i>	60
Anexo 2: Termo de consentimento livre e esclarecido.....	61

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1 ANATOMIA	15
2.1.1 Articulações.....	15
2.2 OSTEOARTRITE	16
2.2.1 Etiopatogenia	16
2.3 DISPLASIA COXOFEMORAL	17
2.4 OSTEOARTRITE SECUNDÁRIA À DISPLASIA COXOFEMORAL.....	18
2.5 DIAGNÓSTICO.....	18
2.5.1 Exame físico	18
2.5.2 Radiográfico.....	19
2.6 TRATAMENTO.....	20
2.6.1 Anti-inflamatórios	21
2.6.2 Analgésicos	22
2.6.3 Nutracêuticos	22
2.6.3.1 Glicosaminoglicanos Sulfatados.....	23
2.6.3.3 Curcumina	23
2.6.3.3.1 <i>Ação Anti-inflamatória.....</i>	<i>24</i>
2.6.3.3.2 <i>Ação Antioxidante.....</i>	<i>26</i>
2.7 DANO OXIDATIVO	27
2.7.1 Avaliação laboratorial do estresse oxidativo.....	27
2.7.1.1 Peroxidação lipídica	28
2.7.1.2 Peroxidação das proteínas	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 PROPOSTO.....	30

3.1.1 Local e animais	30
3.1.2 Avaliação radiográfica e clínica	31
3.1.3 Tratamento.....	32
3.1.4 Avaliação laboratorial do estresse oxidativo.....	33
3.1.4.1 Amostra de sangue.....	33
3.1.4.2 Dano aos lipídeos	33
3.1.5 Avaliação do tutor	34
3.2 REALIZADO	34
3.3 ANALISE ESTATÍSTICA.....	36
4 RESULTADOS	37
5 ARTIGO	38
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
REFERÊNCIAS	54
ANEXOS	61
ANEXO 1 – Normas da revista Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology	61
ANEXO 2 – Termo de consentimento livre e esclarecido	62

1 INTRODUÇÃO

A displasia coxofemoral é uma doença progressiva e irreversível que causa inflamação e dor articular, sendo uma das afecções mais comuns da articulação coxofemoral em cães, e devido à instabilidade articular formada, é a causa mais importante de osteoartrite (OA) secundária em animais de companhia. A OA é um distúrbio crônico que envolve a destruição e perda de cartilagem articular. Os danos na cartilagem estão relacionados aos danos inflamatórios e oxidativos, estes, estão associados à alta produção de óxido nítrico e outras espécies reativas de oxigênio (ERO).

O tratamento conservativo da osteoartrite com anti-inflamatórios, possui efeitos adversos gastrointestinais, não sendo recomendada a administração por longos períodos. Por este motivo, o uso dos anti-inflamatórios é limitado na osteoartrite, não havendo, até o momento, um princípio ativo seguro, capaz de reduzir a inflamação e a dor articular a longo prazo.

A *Curcuma longa* é uma planta originária da Índia, pertencente à família Zingiberaceae, comumente conhecida como açafrão da terra. A curcumina, um curcuminóide fenólico natural, pode ser uma alternativa de tratamento para a OA por ter ação anti-inflamatória responsável por inibir a ativação de fatores como o ativador de proteína-1 (AP-1), fator nuclear Kappa B (NF- κ B), o complexo I kappa β quinase (IKK) e c-Jun N-terminal Kinase (JNK), complexo de enzimas envolvidas em propagar a resposta celular inflamatória. Inibe também a cascata do ácido araquidônico por bloqueio de ciclooxigenase (COX) e lipooxigenase (LOX), assim interrompendo a síntese de importantes participantes pró-inflamatórios. Além de sua ação anti-inflamatória a curcumina ainda age como antioxidante, por neutralizar espécies reativas de oxigênio reduzindo o dano oxidativo. Não foram relatados efeitos adversos com o uso da curcumina até o presente momento.

Com base neste contexto, este estudo foi desenhado para avaliar o efeito do tempo de tratamento e eficácia da curcumina como terapia adjuvante no tratamento de um cão com OA secundária à displasia coxofemoral.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ANATOMIA

2.1.1 Articulações

As articulações são formadas de ossos e cartilagens e fazem a união de estruturas do esqueleto permitindo movimento. Segundo suas características estruturais e funcionais, as articulações podem ser classificadas em três tipos: articulação fibrosa ou sinartrose; articulação cartilaginosa ou fiartrose; articulação sinovial ou diartrose (CARLSON; WEISBRODE, 2013; GETTY, 2008).

As articulações sinoviais, também conhecidas como uniões articulares verdadeiras, são caracterizadas por possuírem duas ou mais extremidades ósseas unidas por ligamentos e por uma cápsula articular, preenchida com fluido sinovial o qual é secretado pela membrana sinovial. Esta membrana atua como divisão da articulação e possui receptores de dor. No interior da cápsula articular as extremidades ósseas são cobertas por cartilagem articular, geralmente hialina, a qual serve como substância de sustentação (CARLSON; WEISBRODE, 2013; HAY; MANLEY, 2013; LIEBICH; FORSTENPOINTNER; KÖNIG, 2011).

A cartilagem é composta por uma camada bem organizada de condrócitos circundados por fibras de colágeno de tipo II, as quais formam uma rede de proteoglicanos, mucopolissacarídeos e água. Os proteoglicanos são formados por várias cadeias de glicosaminoglicanas, como o sulfato de condroitina e o de ceratina (FERRELL; BERRY; THRALL, 2010; HAY; MANLEY, 2013).

A cartilagem articular é avascular e insensível, por este motivo lesões articulares podem progredir bastante, antes que apareça os sinais clínicos. Os nutrientes e oxigênio chegam à cartilagem de três formas de difusão: líquido articular (sinovial), vasos nos tecidos periféricos e nos espaços medulares subjacentes (DYCE; SACK; WENSING, 2004). A sinóvia possui composição similar à do plasma, porém contém elevado nível da proteína lubrificina e de glicosaminoglicano hialuronato (SAMUELSON, 2007).

A articulação coxofemoral é uma articulação com formato esferoide, composta pela cabeça do fêmur juntamente com o acetábulo (LIEBICH; KÖNIG; MAIERL, 2011). As principais estruturas que estabilizam a articulação coxofemoral são o ligamento da cabeça

femoral, a borda acetabular, a cápsula articular e a musculatura da região (HOLWORTH; DECAMP, 2007).

2.2 OSTEOARTRITE

2.2.1 Etiopatogenia

A osteoartrite também conhecida como doença articular degenerativa, é um distúrbio crônico e progressivo que envolve a destruição e perda de cartilagem articular, podendo ser de origem primária ou secundária (TAYLOR; SCOTT-MONCRIEFF, 2015).

A doença articular degenerativa secundária geralmente é causada por estresse anormal sobre a articulação ou doenças que interfiram na função normal da articulação, como a displasia coxofemoral, fraturas articulares, ruptura de ligamento cruzado e luxação articular. As alterações ósseas nesta afecção secundária tendem a ser mais graves (DENNY; BUTTERWORTH, 2006a; KEALY; MCALLISTER; GRAHAM, 2012).

Na osteoartrite é gerado tanto alterações morfológicas quanto biomecânicas. As alterações estruturais são: perda de cartilagem, inflamação da sinóvia, esclerose do osso subcondral e osteofitose marginal. Já as biomecânicas incluem diminuição de proteoglicanos, elevada atividade de degradação e síntese pelos condrócitos e aumento do teor de água. Consequentemente, estas alterações geram redução de elasticidade. Inicialmente há perda contínua dos agregados de proteoglicanos, o que gera uma interferência na lubrificação da articulação (DENNY; BUTTERWORTH, 2006a).

Na osteoartrite, os sinoviócitos e os macrófagos sinoviais produzem uma grande variedade de mediadores inflamatórios, como prostaglandinas, espécies reativas de oxigênio e citocinas pró-inflamatórias, como interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral α (TNF- α). As citocinas pró-inflamatórias, estimulam condrócitos articulares e sinoviócitos a produzirem enzimas degradantes da matriz, como as metaloproteinases de matriz (MMPs) e enzimas pró-inflamatórias, como a ciclooxigenase-2 (COX-2). A liberação subsequente de prostaglandinas promove produção adicional de citocinas e inflamação, levando à destruição e degeneração da cartilagem (APPLETON, 2007; MARTEL-PELLETIER, 1998). Os danos na cartilagem estão relacionados aos danos inflamatórios e oxidativo, estes são devido à alta produção de óxido nítrico e outras espécies reativas de oxigênio (EROs). Os condrócitos são produtores de EROs estando envolvidos na osteoartrite (NAKASONE, 2011).

O estresse mecânico sobre os condrócitos faz com que estes aumentem a produção de óxido nítrico. O óxido nítrico é mediador de efeitos inibitórios de citocina pró-inflamatória IL-1 β , na produção da matriz cartilaginosa e possui também importante papel na inflamação e na dor. Juntamente com outros agentes oxidantes, o óxido nítrico promove apoptose de condrócitos, processos de catabolismo e degradação da matriz (REZENDE; CAMPOS; PAILO, 2013; SUMANTRAN et al, 2008).

2.3 DISPLASIA COXOFEMORAL

A displasia coxofemoral é um desenvolvimento anormal da articulação coxofemoral, comum em cães, principalmente os de raças médias e grandes, que se caracteriza por frouxidão articular, instabilidade, subluxação ou luxação resultando em doença articular degenerativa (ALLAN, 2010; ROCHA et al., 2008).

As causas da displasia coxofemoral são multifatoriais, tendo influência do ambiente, da genética, da nutrição e da velocidade de crescimento (KEALY; MCALLISTER; GRAHAM, 2012). As articulações de cães displásicos, ao nascimento são normais, mas devido à velocidade de crescimento, o esqueleto cresce mais rápido do que a musculatura. Como resultado, a musculatura não dá o devido suporte à articulação, levando esta à uma incongruência entre o acetábulo e a cabeça do fêmur (DENNY; BUTTERWORTH, 2006b; PEDERSEN; MORGAN; VASSEUR, 2008).

Quanto à genética, o modo de herança é um traço poligênico dominante, no qual o gene não está associado à alteração primariamente do esqueleto, mas sim da cartilagem (DENNY; BUTTERWORTH, 2006b; TODHUNTER; LUST, 2007). Os cães com esta afecção apresentam também anormalidade em outras articulações, sinal que indica que o defeito primário é sistêmico (TODHUNTER; LUST, 2007).

Traumatismos leves e repetidos podem induzir à inflamação da sinóvia, caracterizada por aumento de volume do líquido sinovial, gerando assim instabilidade articular, contribuindo para a frouxidão da articulação coxofemoral e sua luxação. Os sinais clínicos são consequências destas alterações, levando também às alterações da cápsula articular, a qual sofrerá estiramento e causará dor e claudicação ao animal. Com a subluxação da cabeça do fêmur ocorre um desgaste da cartilagem, agravando a claudicação e a dor, devido à exposição das fibras de dor presentes no osso subcondral (SCHULZ, 2013).

A resposta fisiológica do animal frente a estas alterações é a formação de fibrose periarticular, na tentativa de estabilizar a articulação. Inicialmente essa resposta faz com que possa haver uma diminuição dos sinais clínicos, os quais se tornaram evidentes com a progressão do quadro de degeneração articular (DASSLER, 2007).

Os cães jovens com idade por volta de 4 a 12 meses, apresentam sinais clínicos decorrentes das alterações primárias da displasia coxofemoral, como exposição das fibras de dor presentes no osso subcondral. E cães mais velhos, acima de 15 meses, apresentam sinais clínicos decorrentes da doença articular degenerativa, doença secundária à displasia (DASSLER, 2007; PIERMATTEI; FLO; DECAMP, 2009; SCHULZ, 2013).

2.4 OSTEOARTRITE SECUNDÁRIA À DISPLASIA COXOFEMORAL

A osteoartrite secundária é a doença articular mais comum, afeta tanto cães como gatos. Ocorre em resposta a processos que induzam: instabilidade articular e carga anormal na cartilagem articular como nas seguintes afecções: alinhamento incorreto dos membros, perturbações da anca, do cotovelo e do joelho. A displasia coxofemoral e a displasia do cotovelo são as perturbações associadas com maior frequência ao desenvolvimento de patologias articulares degenerativas crônicas (MELE, 2007; MORISHIN FILHO, 2008).

2.5 DIAGNÓSTICO

A displasia coxofemoral é diagnosticada através do histórico e exame físico apresentados juntamente com a avaliação radiográfica (OLMSTEAD, 2013).

Durante a anamnese e a obtenção do histórico de cães jovens, os tutores relatam que estes apresentam claudicação com interrupções ou contínua, intolerância à exercícios, e rigidez ao se levantar após repouso. Com o progresso da doença articular degenerativa, geralmente em animais com mais de 15 meses, tutores relatam ainda intolerância ao exercício, dificuldade ao se levantar e andar cambaleante. O clínico pode notar atrofia de musculatura da pelve (DENNY; BUTTERWORTH, 2007; SCHULZ, 2013).

2.5.1 Exame físico

O exame deve começar pela palpação dos membros à procura de assimetrias, edema, calor e sensibilidade. A flexão/extensão das articulações é importante para a busca de crepitação, instabilidade e sensibilidade.

Ao exame físico é possível identificar achados, que são consequências da patologia, seja pela frouxidão ou pela doença articular degenerativa. Durante a ambulação o paciente apresenta anormalidades na marcha e apresenta claudicação. Além desses sinais também podem apresentar: dor na articulação, quando flexionada e estendida a articulação crepita e baixa amplitude de movimento (DASSLER, 2007; OLMSTEAD, 2013; SCHULZ, 2013).

O sinal de Ortolani é um teste que detecta frouxidão articular em pacientes jovens, já em idosos esta técnica se apresenta insatisfatória, pois a cápsula apresenta fibrose e há arrasamento acetabular. O teste é feito com o animal em decúbito lateral, posiciona-se uma mão distal ao fêmur e outra sobre a pelve, estabilizando-a, depois de posicionadas as mãos é necessário fazer movimento de adução do joelho com leve pressão, isso fará com que a articulação seja luxada. Posteriormente com movimento de abdução a subluxação é reduzida. O teste é feito em ambos os decúbitos, direito e esquerdo. Quando o teste é positivo para frouxidão articular, ao realizar este teste é gerado um ruído audível, o que representa a cabeça do fêmur retornando ao seu lugar anatômico (DASSLER, 2007; PIERMATTEI; FLO; DECAMP, 2009).

2.5.2 Radiográfico

O exame radiográfico é um importante exame para diagnosticar a displasia coxofemoral, além de método de diagnóstico serve também como método de controle, auxiliando na seleção de animais para a reprodução (ROCHA et al., 2008).

Na realização do procedimento radiográfico é necessária a anestesia geral do animal, para ser feito o correto posicionamento do mesmo. As técnicas mais comumente utilizadas para o diagnóstico são o exame radiográfico convencional e o com distrator articular como o PennHip. Em filhotes o diagnóstico é mais dificultoso devido aos poucos sinais radiológicos, como a frouxidão articular, nestes casos aconselha-se o uso da radiografia com distrator articular (ALLAN, 2010; FROES, 2011; PEDERSEN; MORGAN; VASSEUR, 2008).

No posicionamento convencional radiográfico exigido pelo Colégio Brasileiro Radiologia Veterinária, o animal deve estar em posição ventrodorsal com os membros pélvicos estendidos e paralelos em relação à coluna vertebral e com uma leve rotação interna. (ABRV,

2017). Busca-se a simetria dos forames obturadores. Pelve, fêmures e joelhos devem aparecer por completo na imagem radiográfica (FERRELL; BERRY; THRALL, 2010).

O método por distração articular mensura a frouxidão da cápsula, quantificada através do índice de distração, o qual pode ser um prognóstico provável para futuras alterações degenerativas.

Os sinais radiográficos apresentados são osteófitos pericondrais, remodelamento de colo, cabeça femoral e acetábulo. Um sinal inicial de doença articular degenerativa é a formação de uma linha de enteseófitos, chamada linha de Morgan (ALLAN, 2010).

Através do exame radiográfico, com o animal na posição ventrodorsal, é possível fazer a mensuração do ângulo de Norberg. Este é utilizado para mensurar frouxidão articular coxofemoral. Caracterizado pelo relacionamento do centro da cabeça do fêmur à face craniolateral da borda acetabular dorsal. Medidas iguais ou superiores à 105° considera-se quadris normais, quando inferiores indicam afastamento da cabeça do fêmur em relação ao acetábulo, indicativo de displasia (PIERMATTEI; FLO; DECAMP, 2009).

Internacionalmente a displasia coxofemoral é classificada de diferentes formas através da avaliação da radiografia, sendo uma delas a estabelecida pela Federação Cinológica Internacional. A definição do grau de displasia é feita com base no ângulo de Norberg, grau de subluxação, forma e profundidade do acetábulo e sinais de osteoartrite. Este consiste em um sistema de pontuação com 5 graus, de A à E (Quadro 1) (FLÜCKIGER, 2007).

Quadro 1: Sistema de pontuação estabelecido pela Federação Cinológica Internacional, segundo Fluckiger, 2007, para a classificação da displasia coxofemoral.

Grau	Descrição	Ângulo Norberg	Congruência	Outras Características
A	Sem sinais de displasia coxofemoral	$\geq 105^\circ$	Congruente	Espaço articular estreito e uniforme
B	Articulações próximas do normal	$\leq 105^\circ$	Levemente incongruente	
C	Displasia coxofemoral de grau leve	100°	Incongruente	Ligeira atenuação acetabular craniolateral
D	Displasia coxofemoral de grau moderado	$\geq 90^\circ$	Incongruente	Subluxação, aplanamento da borda craniolateral e sinais de osteoartrite
E	Displasia coxofemoral de grau severo	$\leq 90^\circ$	Incongruente	Luxação/subluxação, arrasamento acetabular, deformação da cabeça do fêmur e sinal de osteoartrite

Fonte: adaptado de Fluckiger, 2007.

2.6 TRATAMENTO

No tratamento da osteoartrite são comumente usados fármacos como anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) e analgésicos, estes principalmente para o controle da dor, corticoides e condroprotetores (MELO et al, 2013; PEDERSEN; MORGAN; VASSEUR, 2008), sendo que os AINEs de escolha são os inibidores seletivos de COX-2 (NAKASONE et al, 2011).

O tratamento pode ser conservador ou cirúrgico, para a escolha, deve ser avaliado o estado geral do paciente e as restrições do tutor. O tratamento conservador consiste em vários pontos, como controle de peso, restrição de exercícios em superfícies lisas, analgésicos, anti-inflamatórios e nutracêuticos. Outro ponto é a fisioterapia, a qual tem função de fortalecer o tônus muscular.

Tratamentos cirúrgicos da displasia coxofemoral, têm o objetivo de proporcionar melhor qualidade de vida aos animais, dentre as opções cirúrgicas encontram-se a osteotomia pélvica tripla, feita em animais entre 5 e 11 meses, a qual tem o objetivo de aumentar a cobertura acetabular. A artroplastia excisória da cabeça e do colo do fêmur tem por objetivo principal retirar a cabeça do fêmur, o que gera uma falsa articulação fibrosa eliminando pontos doloridos da articulação, indicada para cães com menos de 18 quilos. A substituição total da articulação coxofemoral, a qual substitui a articulação por um implante que permite que o paciente se torne mecanicamente livre de dor por toda a vida. Outra técnica também utilizada no tratamento é a denervação acetabular, a qual promove o controle da dor através da ressecção de ramos nervosos (MINTO et al, 2012; OLMSTEAD, 2013).

2.6.1 Anti-inflamatórios

Os AINEs são drogas com ação analgésica, anti-inflamatória e antipirética, sendo indicados em casos de dor aguda, trauma, pós-operatório e em dores crônicas como a da osteoartrite. Atuam, em sua maioria, por inibição das isoformas da enzima ciclooxigenase (COX) (BUDSBERG, 2009).

Há uma variedade de AINEs atualmente para o uso contínuo em cães, comumente usados para tratamentos de osteoartrite a curto e longo prazo. Dentre eles está o carprofeno, deracoxib, etodolaco, firocoxib e meloxicam. Aconselha-se o uso de medicações que poupem ciclooxigenase-1 (COX-1), pois estas apresentam menos efeitos gastrointestinais adversos quando comparadas com medicações não seletivas de COX-1 (KUKANICH; BIDGOOD; KNEST, 2012; CLARK, 2006).

A enzima COX possui duas isoformas, a COX 1 e a COX 2. A COX 1 está envolvida em processos fisiológicos, enquanto a COX 2 está envolvida, de forma generalista, com processos patológicos. A COX 1 está presente em vários tecidos, como o gástrico, renal, plaquetas onde catalisa a síntese de prostaglandinas constitutivas, têm ação protetora em mucosas gástricas e proteção renal em casos de hipotensão (BUDSBERG, 2009). A inibição da COX-1 diminui as respostas fisiológicas dos sistemas gastrointestinal e renal. Sendo assim, o uso de AINEs que inibem a COX-1, como exemplo a aspirina, o ibuprofeno e a fenilbutazona, geram maior chance de causar ulceração gastrointestinal e/ou nefrotoxicidade (SCHULZ, 2013).

Os AINEs ainda podem ser utilizados juntamente com analgésicos, o que resultará em aumento do conforto e amenização da dor (HARPER, 2017).

2.6.2 Analgésicos

Quando há a combinação de AINEs e opiáceos, a dose pode ser reduzida no tratamento de dor leve a moderada. Os analgésicos que são utilizados junto com AINEs incluem gabapentina, tramadol, acetaminofeno, amantadina e codeína (HARPER, 2017).

O tramadol é um analgésico de ação central que é utilizado com certa frequência para tratar dor leve a moderada. Inibe a recaptção de norepinefrina e serotonina, agindo como um α -agonista (KUKANICH; PAPICH, 2004; GAYNOR, 2009).

A gabapentina é um análogo do ácido γ -aminobutírico (GABA), que originalmente pertence às drogas antiepiléticas. O mecanismo de ação da gabapentina ainda não foi bem elucidado, porém quando associada à AINEs se mostrou eficaz, tendo ação analgésica, no controle da dor causado por osteoartrite.

A amantadina pode ser útil em casos de tolerância à opioides em pacientes com dor crônica. Esta foi desenvolvida para o uso como antiviral, porém se mostrou eficaz na combinação com opioides, pois reduz a dose além de aumentar a analgesia. É utilizada em conjunto com AINEs em osteoartrite, podendo também ser utilizada em animais com osteossarcoma, auxiliando no conforto (GAYNOR, 2009).

2.6.3 Nutracêuticos

2.6.3.1 Glicosaminoglicanos Sulfatados

A glucosamina e a condroitina são componentes naturais da cartilagem articular e no tecido conjuntivo, com ampla utilização em tratamentos alternativos. São indicados por várias pesquisas não só para reduzir a dor decorrente da osteoartrite e outros sintomas, mas também para diminuir a progressão da doença articular, gerando melhora na incapacidade funcional (PAVELKÁ, 2002; RICHY, 2003; XI; QIN; FAN, 2012; LAMBERT et al, 2012).

Os glicosaminoglicanos polissulfatados ainda não tem o mecanismo totalmente elucidado, no entanto, acredita-se que eles inibem enzimas proteolíticas, diminuindo os mediadores inflamatórios, como o óxido nítrico, e por estimulação dos condrócitos e sinoviócitos acelera a produção de matriz extracelular. Têm efeito anti-inflamatório, sendo de ação lenta (CHEN et al, 2011; FUJIKI et al, 2007).

2.6.3.3 Curcumina

A *Curcuma longa* é uma planta originária da Índia, pertencente à família *Zingiberaceae*. Comumente conhecida como açafrão da terra, internacionalmente como “*tumeric*”, sua utilização ao longo dos anos se destaca na gastronomia como especiaria e na medicina popular por suas atividades terapêuticas, comprovadas através de pesquisas científicas. Seu rizoma é a parte mais utilizada, de onde é extraído um polifenol denominado curcumina (CECILIO FILHO, 2000; SUETH-SANTIAGO, 2015).

Além da presença de curcuminóides, o rizoma apresenta peptídeos, proteínas e resíduos de metionina que confere propriedades também antioxidantes, conjugando com sua atividade citoprotetora e hepatoprotetora, devido à alta capacidade antioxidante atua também na proteção do dano peroxidativo do ácido desoxirribonucleico (DNA). E forte atividade anti-inflamatória associada a curcumina (MENON; SUDHEER, 2007; OGIWARA et al, 2013).

A curcumina, pigmento amarelo isolado dos rizomas de cúrcuma sendo o principal componente fitoquímico ativo, corresponde a 5% da composição fitoquímica da planta (KURIEN, 2007). É um polifenol com alto potencial de modulação nas moléculas de múltipla sinalização, tais como citocinas pró-inflamatórias, proteínas apoptóticas, NF-kB, COX-2, Lipoxigenase-5 (LOX-5), proteína C-reativa, prostaglandina E (PGE), moléculas de adesão, fosforilase quinase, fator de transformação e crescimento- β (TGF- β), triglicerídeos, creatinina,

conferindo-a atividades pleiotrópicas, conseguindo atingir múltiplas doenças inflamatórias (GUPTA; PATCHVA; AGGARWAL, 2013; GUPTA et al, 2012).

A curcumina apresenta várias funções importantes, estudos a mostram como potencial agente antiproliferativo, anti-invasivo e antiangiogênico. Além de agente terapêutico de cicatrização, diabetes, doenças cardiovasculares e artrite (GOEL; KUNNUMAKKARA; AGGARWAL, 2008). A curcumina vem sendo alvo de investigações principalmente por seu potencial anti-inflamatório e antioxidante (BASNET; SKALKO-BASNET, 2011; GUPTA et al, 2012).

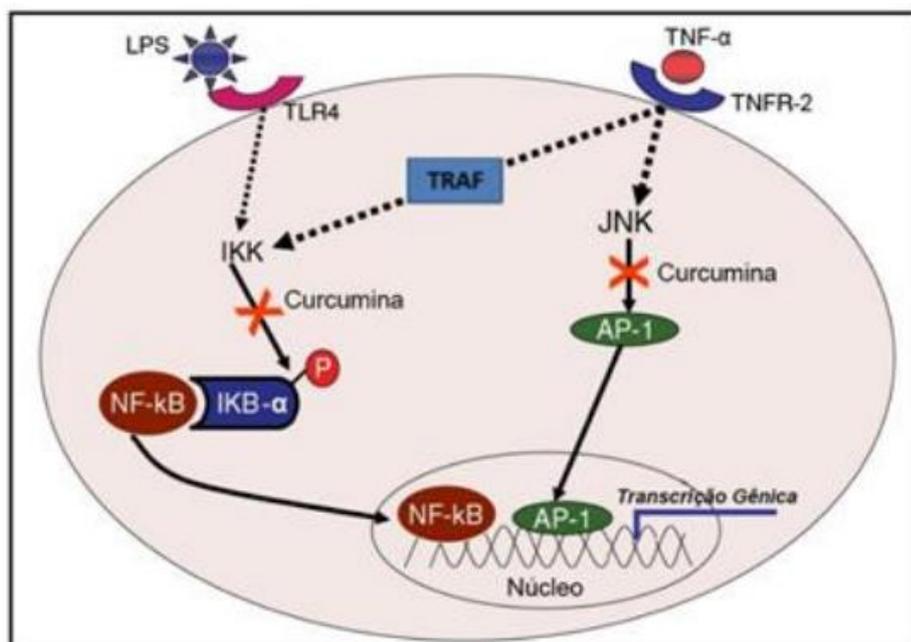
2.6.3.3.1 Ação Anti-inflamatória

A ação anti-inflamatória da curcumina é devido à sua influência nas vias de inflamação, a qual se dá pela presença de um grupo fenólico em sua molécula (BASTOS et al., 2009; AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009; PINTÃO, 2008).

O NF- κ B e AP-1 são os responsáveis por induzir a expressão e secreção de citocinas e quimiocinas, que agem recrutando e ativando as células do sistema imune. O NF- κ B é estimulado pelas EROs, que são decorrentes de processos inflamatórios e estresse oxidativo (SUETH-SANTIAGO et al, 2015).

A curcumina tem ação inibidora da ativação do complexo I kappa β quinase (IKK) e c-Jun N-terminal Kinase (JNK), complexo de enzimas envolvidas em propagar a resposta celular inflamatória (figura 1), impedindo assim a expressão gênica de várias enzimas pró-inflamatórias (por exemplo, COX-2, lipoxigenases, metaloproteinases, e óxido nítrico sintase). A curcumina nesta mesma via também atua capturando os radicais livres, diminuindo a produção de EROs e como consequência, a ativação de NF- κ B (AGGARWAL et al, 2005; BASTOS et al., 2009; BHARTI; TAKADA; AGGARWAL, 2004; FUNK et al, 2006; JURENKA, 2009; SHISHODIA; SETHI; AGGARWAL, 2005).

Figura 1: Ativação da via de sinalização do TNF- α , resultando na formação de NF-kB e AP-1. Quando o TNF- α se liga ao seu receptor, o TNFR-2, ativa a proteína TRAF, a qual faz a ativação do complexo de quinases IKK, estes promovem uma série de reações que degradam a proteína I κ B- α . Esta proteína mantém o NF-kB inativo no citoplasma, quando degradada o expõe, este então faz ligação com sítios Kb localizados no núcleo da célula, promovendo transcrição de genes. A Curcumina faz a inibição do complexo IKK, impedindo a transcrição gênica de enzimas pró-inflamatórias (BASTOS et al, 2009; JURENKA, 2009).



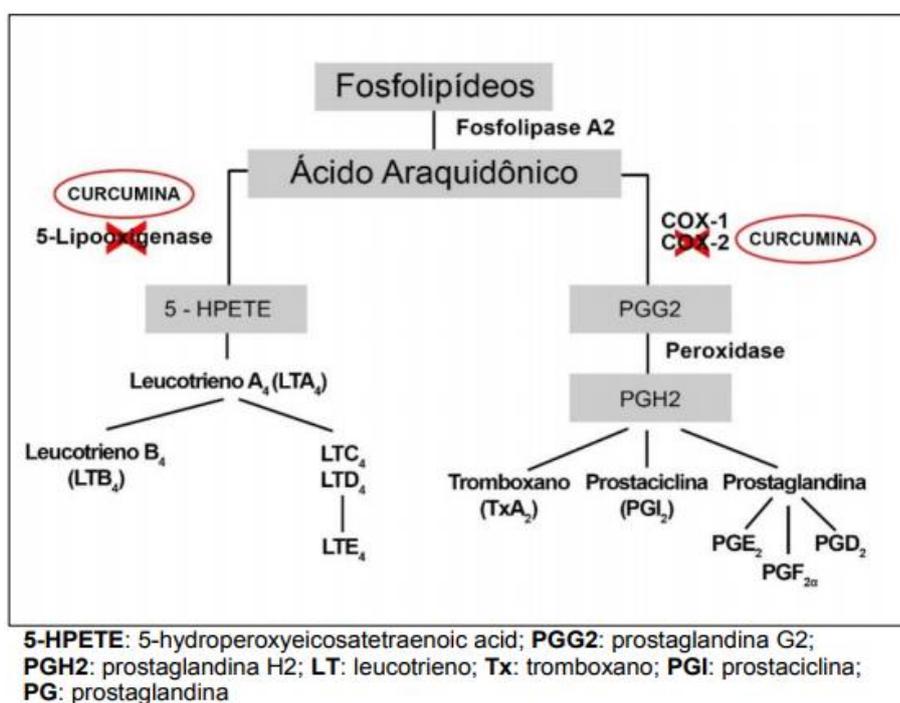
Fonte: BASTOS et al, 2009.

O ácido araquidônico tem um importante papel nas respostas inflamatórias, produzindo mensageiros químicos, conhecidos como eicosanoides. Através da ação da fosfolipase A2 (PLA2) os fosfolípidios de membrana são hidrolisados, liberando ácido araquidônico, o qual é metabolizado dando origem à COX, para formar prostaglandinas e tromboxanos; ou ainda dando origem às lipoxigenases (LOX), que formam os leucotrienos (HONG et al., 2004). A enzima COX-2 está presente em vários processos inflamatórios além de sintetizar prostaglandinas da série 2, como PGE2 e PGF2- α , as quais contribuem para geração de inflamação, dor e inchaço (BENGMARK; MESA; GIL, 2009).

A curcumina atua com ação anti-inflamatória na cascata do ácido araquidônico e na inibição da atividade das enzimas COX-2, interrompendo assim a produção de importantes

fatores pró-inflamatórios como prostaglandinas, prostaciclina, leucotrienos e tromboxanos. A curcumina ainda se liga ao sítio ativo de LOX-5, inibindo a atividade desta (Figura 2) (ARSHAD, 2017; BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Figura 2: Via do ácido araquidônico para a biossíntese dos eicosanoides, participantes importantes na resposta inflamatória, gerando vários mediadores pró-inflamatórios incluindo leucotrienos, prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos. Ação inibitória da curcumina é sobre COX-2 e LOX-5, impedindo a formação dos mediadores.



Fonte: COLLINO, 2014.

Alguns estudos demonstraram que a curcumina inibe várias metaloproteinases de matriz, síntese de colágeno, reduz a liberação de enzimas proteolíticas como a collagenase e a hialuronidase (JOE; LOKESH, 2000; KANG, 2002; ONODERA, 2000;)

2.6.3.3.2 Ação Antioxidante

A curcumina possui em sua composição fenóis e flavonoides, os quais são encontrados em vegetais e plantas medicinais. Estes possuem diversas capacidades

antioxidantes, atribuindo à planta ação antioxidante, ainda, são eliminadores de radicais peróxil e, portanto, possuem atividade inibitória de oxidação (TYLAK et al., 2004).

A atividade antioxidante da curcumina está ligada à presença de grupo fenol em sua molécula, que faz doação de hidrogênio radicalar, o qual reage com EROs, neutralizando possíveis danos celulares, além de reduzir a ativação da via do NF-kB, que é induzida por EROs (SUETH-SANTIAGO, 2015). A curcumina age então protegendo os componentes das células do dano oxidativo, causados por EROs, que são moléculas altamente reativas, que tendem a reagir com proteínas, lipídeos e com o DNA. Este composto ainda tem outro importante mecanismo de eliminar radicais livres, através de sua ação capaz de quelar metais, tais como o ferro, cobre e zinco (PINTÃO, 2008).

2.7 DANO OXIDATIVO

O estresse oxidativo é um dano no tecido, consequência do desequilíbrio entre produção de compostos oxidantes e produção de antioxidantes celulares (KAO et al, 2010; MATÉS, 2000). Segundo estudo, as EROs em pequenas quantidades são necessárias para a progressão de vários processos biológicos básicos como a proliferação e diferenciação celular (MITTLER, 2017).

As EROs participam da função celular normal, dentre estas estão os radicais hidroxilo, superóxido, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico (MATÉS, 2000). Estes possuem alta reatividade química, desencadeando a peroxidação lipídica e oxidação de DNA e proteínas. O excesso destes compostos pode causar danos à lipídeos, proteínas e até mesmo ao DNA. Deste modo, causam modificações em vias de sinalização, tendo a chance de modular a expressão de genes, adesão celular, metabolismo celular, ciclo celular e morte celular, induzindo ao estresse oxidativo (HA et al., 2010; GOSMANOVA; LE, 2011).

Os agentes antioxidantes incluem a superóxido dismutase (SOD), a catalase, o sistema de peroxidase, glutathiona peroxidase e as peroxiredoxinas (POILLET-PÉREZ,2015).

2.7.1 Avaliação laboratorial do estresse oxidativo

O uso de biomarcadores de estresse oxidativo está cada vez mais sendo utilizado em diferentes processos patológicos que geram inflamação, podendo estabelecer uma relação entre o dano oxidativo e as macromoléculas, como ao DNA, lipídeos e as proteínas. Há uma

grande variedade de testes, nestes estão inclusos mensurações de oxidação de DNA, peroxidação lipídica e peroxidação de proteínas (HWANG; KIM, 2007).

2.7.1.1 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica é a incorporação de oxigênio a um ácido graxo poli-insaturado, tendo como resultado final a sua degradação oxidativa. Com a oxidação da membrana lipídica é formado hidroperóxidos lipídicos e aldeídos, como o malondialdeído, 4-hidroxinonenal de hidroperóxidos e isoprostanos, os quais estão presentes em amostras biológicas e podem ser detectados, sendo úteis para a avaliação do estresse oxidativo (LIMA; ABDALLA, 2001).

2.7.1.2 Peroxidação das proteínas

O conteúdo carbonílico de proteínas, formado pela oxidação desta, é amplamente utilizado como marcador do dano oxidativo de proteínas. Há uma variedade de técnicas para se mensurar a presença do grupo carbonila (LUSHCHAK et al, 2005).

O grupo carbonila tem suas vantagens como biomarcador do estresse oxidativo, ele tem formação inicial e é relativamente estável. A maior parte dos ensaios para a detecção de grupos de proteína envolvem a derivação do grupo carbonil com 2,4-dinitrofenilhidrazina, que leva à formação de um produto dinitrofenilhidrazona, o qual é estável. Este então pode ser detectado de várias formas, como ensaio espectrofotométrico, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e eletroforese bidimensional (DALLE-DONNE et al, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PROPOSTO

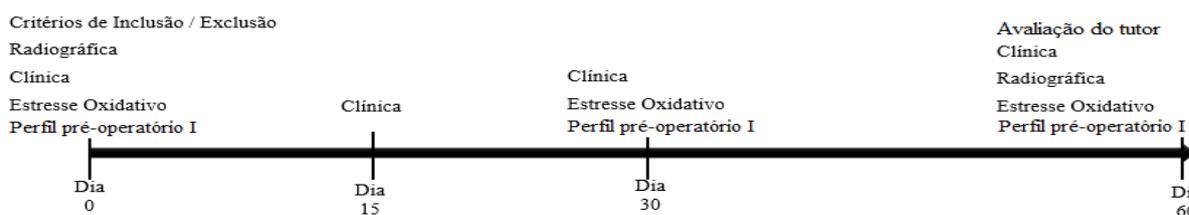
3.1.1 Local e animais

O estudo foi desenvolvido no Hospital Veterinário Unisul, na Universidade do Sul de Santa Catarina, localizada em Tubarão, Santa Catarina, com a autorização escrita dos tutores dos cães (Anexo 2), bem como autorização da Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) e da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), tendo como número de protocolo: n.º17.019.5.05.IV.

Os cães participantes deste projeto de pesquisa passaram por uma triagem onde foram avaliados segundo os seguintes critérios de inclusão: possuir idade acima de 18 meses de idade, não havendo restrições quanto à raça, sexo ou porte do paciente, apresentar dor crônica (sinais clínicos de dor há no mínimo 3 meses) e o tutor terá que relatar pelo menos dois dos seguintes sinais clínicos associados à displasia coxofemoral: relutância em levantar-se ou deitar-se, dificuldade em pular, dificuldade em subir ou descer escadas ou claudicação.

Também houve critérios de exclusão sendo eles: não poderiam estar recebendo qualquer tratamento do tipo analgésico, como AINE ou corticosteroides, tampouco terapias alternativas, como fisioterapia e acupuntura, há pelo menos 8 semanas antes do estudo. Cães que apresentam grave incapacidade de locomoção, transtorno musculoesquelético coexistente, ou os que possuam alterações gastrointestinais, hepática, do trato biliar, renal, doença neurológica ou terminal, não foram incluídos na pesquisa. Assim como fêmeas gestantes ou amamentando, animais que tenham sensibilidade conhecida a qualquer medicamento da pesquisa. Após esta triagem os animais passaram por avaliação radiológica para confirmação da presença de osteoartrite secundária à displasia coxofemoral, posteriormente avaliados clinicamente, e coletado sangue (Figura 3).

Figura 3 – Linha do tempo apresentando as avaliações realizadas durante a pesquisa.



Fonte: Elaborado pelas pesquisadoras, 2017.

3.1.2 Avaliação radiográfica e clínica

Informações como, peso, idade, sexo, raça e há quanto tempo o animal demonstra os sinais clínicos, foram coletadas e registradas.

As posições radiográficas realizadas (ventrodorsal e laterolateral), confirmaram a osteoartrite secundária à displasia coxofemoral. Para o correto posicionamento os animais foram submetidos à sedação com 0,004 mg/kg de nilperidol, por via intramuscular.

A displasia destes animais foi então classificada pelo padrão estabelecido de avaliação das radiografias das articulações coxofemorais, o qual classifica o grau de displasia em 5 níveis, de A à E, de acordo com a Federação Cinológica Internacional (FLÜCKIGER, 1993; FLÜCKIGER, 2007), no qual o nível A representa animais com articulações normais e E animais com articulações gravemente afetadas. Somente participou do estudo animais dos níveis C, D e E. Posteriormente ao estudo, aos 60 dias, os mesmos animais foram reavaliados radiograficamente para comparação de alterações articulares.

Os sinais clínicos foram avaliados por um único médico veterinário especializado em ortopedia (cego para a atribuição do tratamento), usando um sistema de pontuação ordinal, incluindo dor à palpação, claudicação, capacidade de saltar e capacidade de subir rampa, adaptado de Hielm-Björkman et al. (2003) (Quadro 2).

Quadro 2: Sistema de pontuação utilizado para classificação de sinais clínicos.

<i>Critério</i>	Grau	Avaliação Clínica
<i>Dor à Palpação</i>	0	Ausência de sinais de dor na articulação afetada
	1	Sinais de dor leve na articulação afetada – animal gira a cabeça
	2	Sinais de dor moderada na articulação afetada – animal puxa o membro
	3	Sinais graves de dor na articulação afetada – animal vocaliza / torna agressivo
	4	Animal não permite palpação
<i>Claudicação</i>	0	Sem claudicação
	1	Claudicação leve, pouca dificuldade de movimento
	2	Claudicação clara, sem se mover livremente
	3	Claudicação óbvia ao andar
	4	Claudicação grave, a animal previne o suporte de peso no membro afetado
<i>Capacidade de Saltar</i>	0	Salto normal
	1	Salto com cuidado
	2	Salto com certa dificuldade
	3	Salto com dificuldade
	4	Não realiza – dor / dificuldade
<i>Capacidade de Subir Rampa</i>	0	Sobe e desce normal
	1	Ligeiramente cuidadosa, usa sucessivamente ambos os membros
	2	Às vezes usa ambos os membros na subida, evidentemente não se move livremente
	3	Sobe a rampa como um coelho em todos os momentos, sobe com grande dificuldade
	4	Não realiza – dor / dificuldade

3.1.3 Tratamento

Uma médica veterinária especialista em radiologia (cego para a atribuição do tratamento) dividiu os animais em dois grupos de forma homogênea.

Os animais do grupo 1 (n=10; grupo controle) receberam tratamento com meloxicam 0,2 mg/kg, no primeiro dia e após, 0,1 mg/kg, a cada 24 horas, durante 5 dias. Também receberam condroprotetores, sulfato de condroitina e glucosamina. Este tratamento

teve duração de 60 dias, utilizando as seguintes dosagens: animais com peso de 5 a 19,9 kg: 950 mg de glucosamina e 700 mg de condroitina; de 20 a 40 kg: 1.425 mg de glucosamina e 1.050 mg de condroitina; e cães com mais de 40 kg: 1.900mg de glucosamina e 1.400 mg de condroitina. Animais do grupo 2 (n=10) receberam o mesmo tratamento citado acima, associado à curcumina, como terapia adjuvante, na dose de 25 mg/kg, uma vez por dia, pela via oral, durante 30 dias. Os fármacos foram administrados conforme prescrito pelo médico veterinário, pela via oral aos cães por seus tutores nas residências.

Os animais compareceram no hospital veterinário, para reavaliação, nos dias 15, 30 e 60. Intercorrência foram registradas e corrigidas durante a pesquisa.

3.1.4 Avaliação laboratorial do estresse oxidativo

3.1.4.1 Amostra de sangue

O estresse oxidativo, hemograma e bioquímico (ALT e creatina) foi avaliado nos dias 0, 30 e 60 do experimento. Para ser possível a avaliação do estresse oxidativo foi coletado amostra de sangue por venopunção, utilizando sistema a vácuo, agulha 21G, tubo de 2 ml com ácido etilenodiaminotetracético dipotássico (EDTA K2) e 3 ml em tubo com ativador de coágulo. No Laboratório de Patologia Clínica (LAPAC), do Hospital Veterinário Unisul, as amostras foram centrifugadas (1120 X g por 10 minutos) para obtenção do soro, que foi armazenado em microtubos à -30°C, e posteriormente encaminhado ao Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), no qual foi determinado o dano oxidativo através do leitor de microplaca multimodo (Spectramax M5, Molecular Devices Inc., CA, USA).

3.1.4.2 Dano aos lipídeos

No departamento de Bioquímica da UFRGS, através da determinação dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), foi quantificado o dano oxidativo aos lipídeos (DRAPER et al., 1990), na Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram homogeneizadas as amostras, em tampão fosfato e desproteinizadas com ácido tricloroacético 10%. A reação aconteceu ao acrescentar ácido tiobarbitúrico 0,67%, e aquecendo à 100°C por 15 minutos. A absorvância foi realizada a 532 nm em espectrofotômetro utilizando-se 1,1,3,3-

tetrametoxipropano como padrão externo. Os resultados foram determinados em nmol de malondialdeído equivalente por mg de proteína.

3.1.5 Avaliação do tutor

O tutor avaliou a resposta final do tratamento, após seu fim, em “muito pior”, “pior”, “nenhuma mudança”, “melhor” ou ainda “muito melhor”. Esta avaliação foi feita sob consentimento livre e esclarecido do tutor.

3.2 REALIZADO

O estudo foi desenvolvido no Hospital Veterinário Unisul, na Universidade do Sul de Santa Catarina, localizada em Tubarão, Santa Catarina, com a autorização escrita do tutor do cão, bem como da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), tendo como número de protocolo: n.º17.019.5.05.IV.

Diante dos inúmeros critérios de exclusão, restou apenas um animal. O cão participante deste projeto de pesquisa passou por uma triagem onde foi avaliado segundo os seguintes critérios de inclusão: possuir idade acima de 18 meses de idade, não havendo restrições quanto à raça, sexo ou porte do paciente, apresentar dor crônica (sinais clínicos de dor há no mínimo 3 meses) e o tutor teria que relatar pelo menos dois dos seguintes sinais clínicos associados à displasia coxofemoral: relutância em levantar-se ou deitar-se, dificuldade em pular, dificuldade em subir ou descer escadas ou claudicação.

Também houveram critérios de exclusão, sendo eles: não poderiam estar recebendo qualquer tratamento do tipo analgésico, como AINE ou corticosteroides, tampouco terapias alternativas, como fisioterapia e acupuntura, há pelo menos 8 semanas antes do estudo. Cães que apresentavam grave incapacidade de locomoção, transtorno musculoesquelético coexistente, ou os que possuíam alterações gastrointestinais, hepática, do trato biliar, renal, doença neurológica ou terminal, não foram incluídos na pesquisa. Assim como fêmeas gestantes ou amamentando, ou ainda animais com sensibilidade conhecida a qualquer medicamento da pesquisa. Após esta triagem, o animal passou por avaliação radiográfica para confirmação da presença de osteoartrite secundária à displasia coxofemoral, assim como sua classificação. Esta foi realizada através do padrão estabelecido pela Federação Cinológica Internacional de avaliação radiográficas das articulações coxofemorais, o qual classifica o grau de displasia em

5 níveis, de A à E, no qual o nível A representa animais com articulações normais e E animais com articulações gravemente afetadas (FLUCKIGER, 2007). Sendo critério de exclusão animais com grau A e B.

As posições radiográficas realizadas (ventrodorsal e laterolateral), confirmaram a osteoartrite secundária à displasia coxofemoral. Para o correto posicionamento o animal, foi submetido à sedação com 0,004 mg/kg de nilperidol, por via intramuscular.

Os sinais clínicos foram avaliados por um único médico veterinário especializado em ortopedia, usando um sistema de pontuação ordinal (HIELM-BJORKMAN *et al*, 2003). Neste sistema são avaliados 4 quesitos e estes são classificados em 4 graus. Sendo o primeiro dor a palpação, onde 0 é a ausência de dor, 1 sinais de dor leve (gira a cabeça), 2 sinais de dor moderada (puxa o membro), 3 sinais grave de dor (vocalização/agressividade) e 4 o animal não permite palpação. O Segundo quesito é claudicação, onde 0 não há claudicação, 1 claudicação leve, 2 claudicação clara, 3 claudicação óbvia ao andar e 4 claudicação grave onde o animal previne o suporte de peso no membro. O terceiro quesito é a capacidade de saltar, onde 0 o salto é normal, 1 o animal salta com cuidado, 2 salto com certa dificuldade, 3 salto com dificuldade e 4 o animal não realiza o salto por dor ou desconforto. O último quesito avaliado foi a capacidade de subir rampa, onde 0 o animal sobe e desce normalmente, 1 ligeiramente cuidadoso, usa sucessivamente ambos os membros, 2 às vezes usa ambos os membros na subida, não se move livremente, 3 grande dificuldade, sobe a rampa como um coelho e 4 não realiza atividade devido a dor ou dificuldade.

Foi avaliado um paciente em dois momentos: tratamento 1 (T1) e tratamento 2 (T2). Em um primeiro momento (T1), o paciente recebeu durante 10 dias, uma vez ao dia pela via oral, os condroprotetores glucosamina (1.425 mg) e condroitina (1.050 mg), associado ao adjuvante curcumina (25 mg/kg). Em um segundo momento (T2), o mesmo recebeu, na mesma dosagem que a avaliação anterior, glucosamina e condroitina e o adjuvante curcumina durante 30 dias. Para retirá-lo do quadro de dor aguda, desta vez, foi associado o anti-inflamatório meloxicam 0,2 mg/kg, no primeiro dia e após, 0,1 mg/kg, a cada 24 horas, somente durante 5 dias.

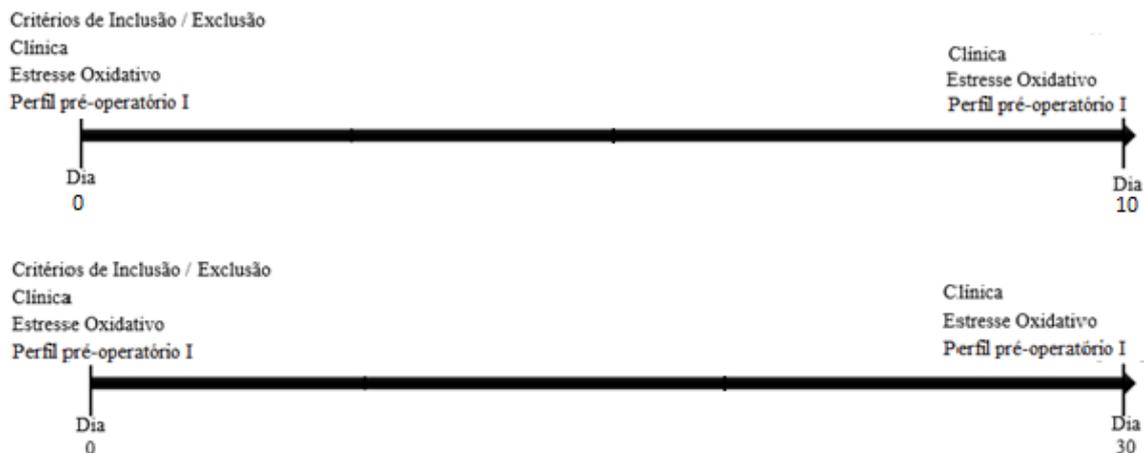
O estresse oxidativo, hemograma e bioquímico (ALT e creatina) foram avaliados nos dias 0 e 10 no T1, 0 e 30 no T2. Para ser possível a avaliação do estresse oxidativo, foi coletado amostra de sangue por venopunção, utilizando sistema a vácuo, agulha 21G, tubo de 2 ml com ácido etilenodiaminotetracético dipotássico (EDTA K2) e 3 ml em tubo com ativador de coágulo. No Laboratório de Patologia Clínica (LAPAC), do Hospital Veterinário Unisul, as

amostras foram centrifugadas (1120 X g por 10 minutos) para obtenção do soro, que foi armazenado em microtubos à -30°C, e posteriormente encaminhado ao laboratório de neurobiologia de processos inflamatórios e metabólicos (NEUROIMet), no qual foi determinado o dano oxidativo através do leitor de microplaca multimodo (Spectramax, Molecular Devices Inc., CA, USA).

No NEUROIMet, através da determinação dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), foi quantificado o dano oxidativo aos lipídeos (DRAPER; HADLEY, 1990), na Universidade do Sul de Santa Catarina. Foram homogeneizadas as amostras, em tampão fosfato e desproteinizadas com ácido tricloroacético 10%. A reação aconteceu ao acrescentar ácido tiobarbitúrico 0,67%, e aquecendo à 100°C por 15 minutos. A absorbância foi realizada a 532 nm em espectrofotômetro utilizando-se 1,1,3,3-tetrametoxipropano como padrão externo. Os resultados foram determinados em nmol de malondialdeído equivalente por mg de proteína.

Em ambos momentos de tratamento, foram avaliados os mesmos quesitos, como apresentado na linha do tempo da figura 4.

Figura 4- Linha do tempo apresentando as avaliações realizadas durante o tratamento de 10 dias (T1), e durante o tratamento de 30 dias (T2).



3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As informações de grau de dor, claudicação, capacidade de locomoção em rampa e capacidade de salto foram distribuídas de acordo com a intensidade e comparadas entre pré e pós tratamento como também entre os experimentos de 10 e de 30 dias. O dano oxidativo aos

lipídeos também foi comparado nos mesmos critérios. Foi utilizado o *software Excel* do pacote *Office 2010, for Windows 10 Home Single Language*, versão 160

4 RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em forma de artigo científico formatado de acordo com as normas da revista *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* (ANEXO 1)

5 ARTIGO

AVALIAÇÃO DO TEMPO DE TRATAMENTO E EFICIÊNCIA DA CURCUMINA COMO TERAPIA ADJUVANTE EM CÃO COM OSTEOARTRITE

Daniela Boaventura Fortunato¹; Mariana Goldim, Ma.²; Silvia Resende Terra, Dra.³;
Débora Maria Marques Callado de Oliveira, Ma.³

¹ Estudante de Medicina Veterinária da Universidade do Sul de Santa Catarina,
Tubarão, Santa Catarina. Brasil

² Colaboradora

³ Professora de Medicina Veterinária, Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão,
Santa Catarina. Brasil

E-mail para correspondência: danii.fortunato@gmail.com

Resumo

Neste estudo realizado no Hospital Veterinário Unisul, foi avaliado um cão de grande porte, com idade de 13 anos, da raça Labrador, diagnosticado com osteoartrite secundária à displasia coxofemoral, ao qual instituiu-se em um primeiro momento o tratamento com sulfato de condroitina, glucosamina e o adjuvante curcumina, por um período de 10 dias consecutivos. Em um segundo momento, foi utilizado o mesmo tratamento anterior associado ao meloxicam, nos primeiros 5 dias, porém, este segundo tratamento teve duração de 30 dias. Objetivou-se avaliar o tempo de tratamento e a eficácia da curcumina como terapia adjuvante sobre o dano oxidativo aos lipídeos e estado clínico de um cão com osteoartrite em tratamento com duração de 10 e 30 dias. Obteve-se no primeiro tratamento (10 dias) melhora em 25% dos quesitos de avaliação clínica, em contrapartida, no segundo tratamento (30 dias) houve melhora em 75% dos quesitos. Na avaliação do dano aos lipídeos houve um pequeno incremento de 3%, não significativo, no primeiro período de avaliação; já no segundo momento, houve redução de 65% do estresse oxidativo, ambos estudos sem aparecimento de efeitos adversos. Conclui-se que a terapia com a curcumina pode ser uma grande aliada ao tratamento da osteoartrite em cães, com resultados analgésicos e anti-inflamatórios a longo prazo, sem efeitos colaterais.

Palavras-chave: Displasia coxofemoral, dano oxidativo, inflamação, espécies reativas de oxigênio, *Curcuma longa*.

Abstract

In this study, developed at the Unisul Veterinary Hospital, a large dog with 13 years old of the Labrador breed, diagnosed with osteoarthritis secondary to hip dysplasia, was evaluated. The dog was initially treated with chondroitin sulfate, glucosamine and adjuvant curcumin for a period of 10 consecutive days. In a second moment, the previous treatment associated with meloxicam was used in the first 5 days, but this second treatment lasted 30 days. The objective of this study was to evaluate the treatment time and efficacy of curcumin as an adjuvant therapy for lipid oxidative damage and clinical status of a dog with osteoarthritis treated for 10 and 30 days. In the first treatment (10 days), improvement of 25% of the clinical assessment questions was achieved, in contrast, in the second treatment (30 days) there was improvement of 75% of these items. In the assessment of lipid damage, there was a small increase of 3%, not significant, in the first evaluation period; at the second moment, there was a reduction of 65% of oxidative stress, both studies without appearance of adverse effects. It can be concluded that curcumin therapy may be a great ally in the treatment of osteoarthritis in dogs, with long-term analgesic and anti-inflammatory results, with no side effects.

Key words: hip dysplasia, oxidative damage, inflammation, reactive oxygen species, *Curcuma longa*.

Introdução

A displasia coxofemoral é uma doença progressiva e irreversível que causa inflamação e dor articular, sendo uma das afecções mais comuns da articulação coxofemoral em cães, e devido à instabilidade articular formada, torna-se a causa mais importante de osteoartrite (OA) secundária em animais de companhia.¹⁻² A OA é um distúrbio crônico que envolve a destruição e perda de cartilagem articular, gerando dor e dificuldade na locomoção.³ Os danos na cartilagem estão relacionados aos danos inflamatórios e oxidativos, estes são associados à alta produção de óxido nítrico e outras espécies reativas de oxigênio (EROs).⁴⁻⁵

O tratamento conservativo da OA com anti-inflamatórios, possui efeitos adversos gastrointestinais, não sendo recomendada administração por longos períodos. Por este motivo, o uso dos anti-inflamatórios é limitado na OA, não havendo, até o momento, um princípio ativo seguro, capaz de reduzir a inflamação e a dor articular a longo prazo.^{17,18,19}

A *Curcuma longa* é uma planta originária da Índia, pertencente à família Zingiberacea, comumente conhecida como açafrão da terra.⁶⁻⁷ A curcumina, um curcuminóide fenólico natural, pode ser uma alternativa de tratamento para a OA por ter ação anti-inflamatória responsável por inibir a ativação de fatores como o ativador de proteína-1 (AP-1), fator nuclear Kappa b (NF-kB), o complexo I kappa β quinase (IKK) e c-Jun N-terminal Kinase (JNK), complexo de enzimas envolvidas em propagar a resposta celular inflamatória.^{8, 9, 10, 11, 12, 13,14} Inibe também a cascata do ácido araquidônico por bloqueio de ciclooxigenase (COX) e lipooxigenase (LOX), assim, interrompendo a síntese de importantes participantes pró-inflamatórios. Além de sua ação anti-inflamatória, a curcumina ainda age como antioxidante, por neutralizar espécies reativas de oxigênio reduzindo o dano oxidativo.¹⁵⁻¹⁶ Ainda, mostrou-se uma terapia segura em diversos estudos em humanos e animais.^{18,35,36}

Materiais e métodos

O estudo foi desenvolvido no Hospital Veterinário Unisul, na Universidade do Sul de Santa Catarina, localizada em Tubarão, Santa Catarina, com a autorização escrita do tutor do cão, bem como da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), tendo como número de protocolo: n.º17.019.5.05.IV.

O cão participante deste projeto de pesquisa passou por uma triagem onde foi avaliado segundo os seguintes critérios de inclusão: possuir idade acima de 18 meses de idade, não havendo restrições quanto à raça, sexo ou porte do paciente, apresentar dor crônica (sinais clínicos de dor há no mínimo 3 meses) e o tutor terá que relatar pelo menos dois dos seguintes sinais clínicos associados à displasia coxofemoral: relutância em levantar-se ou deitar-se, dificuldade em pular, dificuldade em subir ou descer escadas ou claudicação.

Também houveram critérios de exclusão, sendo eles: não poderiam estar recebendo qualquer tratamento do tipo analgésico, como AINE ou corticosteroides, tampouco terapias alternativas, como fisioterapia e acupuntura, há pelo menos 8 semanas antes do estudo. Cães que apresentam grave incapacidade de locomoção, transtorno musculoesquelético coexistente, ou os que possuam alterações gastrointestinais, hepática, do trato biliar, renal, doença

neurológica ou terminal, não foram incluídos na pesquisa. Assim como fêmeas gestantes ou amamentando, ou ainda animais com sensibilidade conhecida a qualquer medicamento da pesquisa. Após esta triagem, o animal passou por avaliação radiográfica para confirmação da presença de osteoartrite secundária à displasia coxofemoral, assim como sua classificação. Esta foi realizada através do padrão estabelecido pela Federação Cinológica Internacional de avaliação radiográficas das articulações coxofemorais, o qual classifica o grau de displasia em 5 níveis, de A à E, no qual o nível A representa animais com articulações normais e E animais com articulações gravemente afetadas¹⁹. Sendo critério de exclusão animais com grau A e B.

As posições radiográficas realizadas (ventrodorsal e laterolateral), confirmaram a osteoartrite secundária à displasia coxofemoral. Para o correto posicionamento o animal, foi submetido à sedação com 0,004 mg/kg de nilperidol, por via intramuscular.

Os sinais clínicos foram avaliados por um único médico veterinário especializado em ortopedia, usando um sistema de pontuação ordinal²⁰. Neste sistema são avaliados 4 quesitos e estes são classificados em 4 graus. Sendo o primeiro dor a palpação, onde 0 é a ausência de dor, 1 sinais de dor leve (gira a cabeça), 2 sinais de dor moderada (puxa o membro), 3 sinais grave de dor (vocalização/agressividade) e 4 o animal não permite palpação. O Segundo quesito é claudicação, onde 0 não há claudicação, 1 claudicação leve, 2 claudicação clara, 3 claudicação óbvia ao andar e 4 claudicação grave onde o animal previne o suporte de peso no membro. O terceiro quesito é a capacidade de saltar, onde 0 o salto é normal, 1 o animal salta com cuidado, 2 salto com certa dificuldade, 3 salto com dificuldade e 4 o animal não realiza o salto por dor ou desconforto. O último quesito avaliado foi a capacidade de subir rampa, onde 0 o animal sobe e desce normalmente, 1 ligeiramente cuidadoso, usa sucessivamente ambos os membros, 2 às vezes usa ambos os membros na subida, não se move livremente, 3 grande dificuldade, sobe a rampa como um coelho e 4 não realiza atividade devido a dor ou dificuldade.

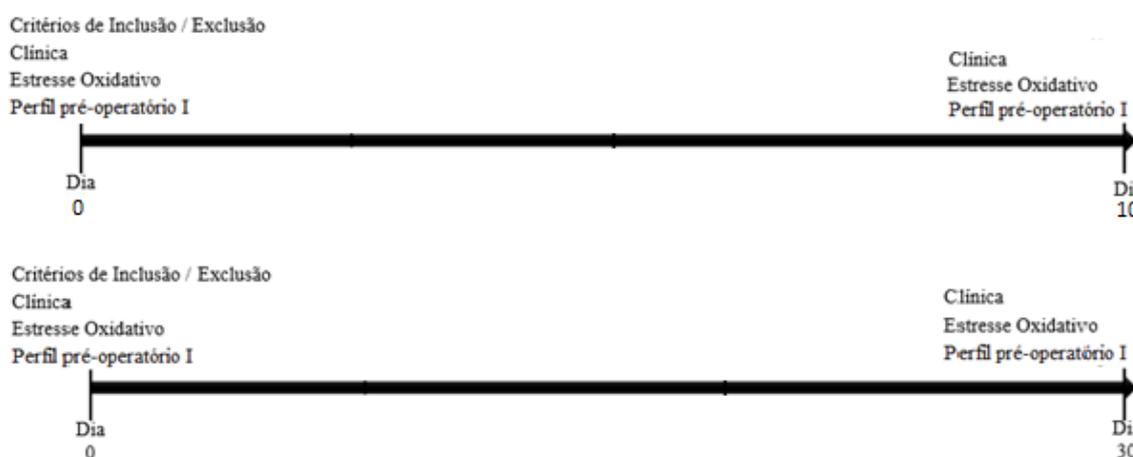
Foi avaliado um paciente em dois momentos: tratamento 1 (T1) e tratamento 2 (T2). Em um primeiro momento (T1), o paciente recebeu durante 10 dias, uma vez ao dia pela via oral, os condroprotetores glucosamina (1.425 mg) e condroitina (1.050 mg), associado ao adjuvante curcumina (25 mg/kg). Em um segundo momento (T2), o mesmo recebeu, na mesma dosagem que a avaliação anterior, glucosamina e condroitina e o adjuvante curcumina durante 30 dias. Para retirá-lo do quadro de dor aguda, desta vez, foi associado o anti-inflamatório meloxicam 0,2 mg/kg, no primeiro dia e após, 0,1 mg/kg, a cada 24 horas, somente durante 5 dias.

O estresse oxidativo, hemograma e bioquímico (ALT e creatina) foram avaliados nos dias 0 e 10 no T1, 0 e 30 no T2. Para ser possível a avaliação do estresse oxidativo, foi coletado amostra de sangue por venopunção, utilizando sistema a vácuo, agulha 21G, tubo de 2 ml com ácido etilenodiaminotetracético dipotássico (EDTA K2) e 3 ml em tubo com ativador de coágulo. No Laboratório de Patologia Clínica (LAPAC), do Hospital Veterinário Unisul, as amostras foram centrifugadas (1120 X g por 10 minutos) para obtenção do soro, que foi armazenado em microtubos à -30°C, e posteriormente encaminhado ao laboratório de neurobiologia de processos inflamatórios e metabólicos (NEUROIMet), no qual foi determinado o dano oxidativo através do leitor de microplaca multimodo (Spectramax, Molecular Devices Inc., CA, USA).

No NEUROIMet, através da determinação dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), foi quantificado o dano oxidativo aos lipídeos²¹, na Universidade do Sul de Santa Catarina. Foram homogeneizadas as amostras, em tampão fosfato e desproteinizadas com ácido tricloroacético 10%. A reação aconteceu ao acrescentar ácido tiobarbitúrico 0,67%, e aquecendo à 100°C por 15 minutos. A absorbância foi realizada a 532 nm em espectrofotômetro utilizando-se 1,1,3,3-tetrametoxipropano como padrão externo. Os resultados foram determinados em nmol de malondialdeído equivalente por mg de proteína.

Em ambos momentos de tratamento, foram avaliados os mesmos quesitos, como apresentado na linha do tempo da figura 1.

Figura 1- Linha do tempo apresentando as avaliações realizados durante o tratamento de 10 dias (T1), e durante o tratamento de 30 dias (T2).



As informações de grau de dor, claudicação, capacidade locomoção em rampa e capacidade de salto foram distribuídas de acordo com a intensidade e comparadas entre pré e pós tratamento como também entre os experimentos de 10 e de 30 dias. O dano oxidativo aos lipídeos também foi comparado nos mesmos critérios. Foi utilizado o *software Excel* do pacote *Office 2010, for Windows 10 Home Single Language*, versão 1607.

Resultados

Não foi relatado qualquer efeito adverso durante todo o estudo.

Através do teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), o qual mensura o dano oxidativo aos lipídeos, foi constatado no primeiro experimento (T1) um aumento de 3% no TBARS, não sendo este resultado significativo. Porém, no segundo experimento (T2) houve uma diminuição de 65% do dano oxidativo (Gráfico 1).

Na reavaliação clínica do primeiro momento (T1), obteve-se como resultado a diminuição em 25% dos quesitos analisados. O escore de dor, durante a avaliação pré tratamento se encontrava em escore 2. Após o tratamento, houve a mudança de escore para 1 (Gráfico 2). Quanto aos escores de claudicação, capacidade de salto e capacidade de subir rampa, mantiveram-se os mesmos, sendo eles: 2, 4 e 1, respectivamente (Gráfico 3, 4 e 5).

No segundo momento (T2), obteve-se diminuição em 75% dos quesitos clínicos avaliados. Os critérios avaliados foram: dor à palpação, que no período pré tratamento obteve-se escore 2 e no período pós tratamento, escore 1 (Gráfico 2). Claudicação, no período pré tratamento obteve-se escore 3 e no pós tratamento 2 (Gráfico 3). No critério capacidade de saltar manteve-se o mesmo escore no período pré e pós tratamento (escore 4) (Gráfico 4); e capacidade de subir rampa, no período pré tratamento obteve-se escore 2 e no pós tratamento, escore 1 (Gráfico 5).

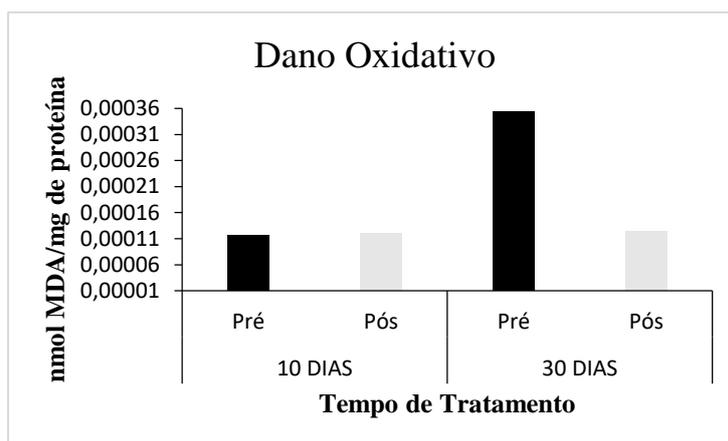


Gráfico 1 – Gráfico indicando dano oxidativo (declínio de 65% no segundo momento), apurados em 10 e 30 dias de tratamento com o adjuvante curcumina, conforme técnica de dano oxidativo aos lipídeos.

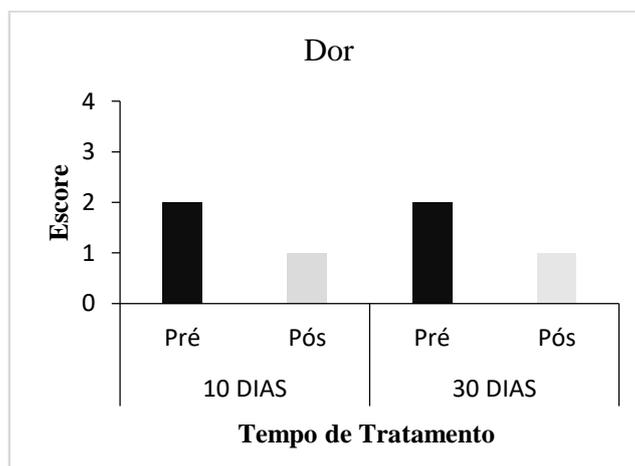


Gráfico 2 – Gráfico indicando o escore de dor a palpção pré e pós tratamento com o adjuvante curcumina, em dois experimentos, sendo eles de 10 dias e de 30 dias.

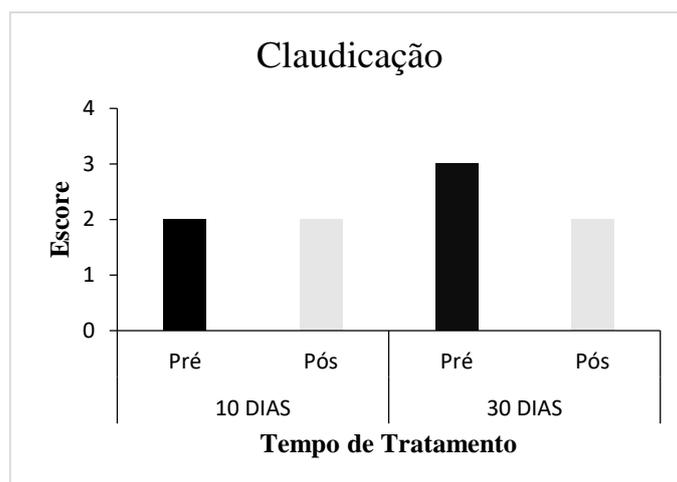


Gráfico 3 – Gráfico indicando o escore de claudicação pré e pós tratamento com o adjuvante curcumina, em dois experimentos, sendo eles de 10 dias e de 30 dias.

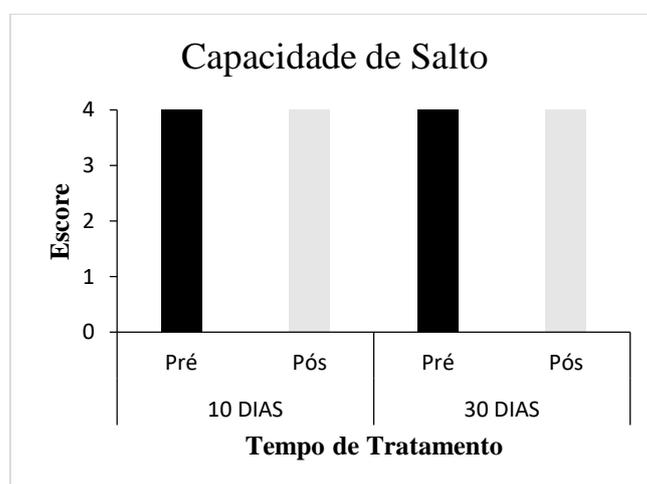


Gráfico 4 – Gráfico indicando o escore de capacidade de salto pré e pós tratamento com o adjuvante curcumina, em dois experimentos, sendo eles de 10 dias e de 30 dias.

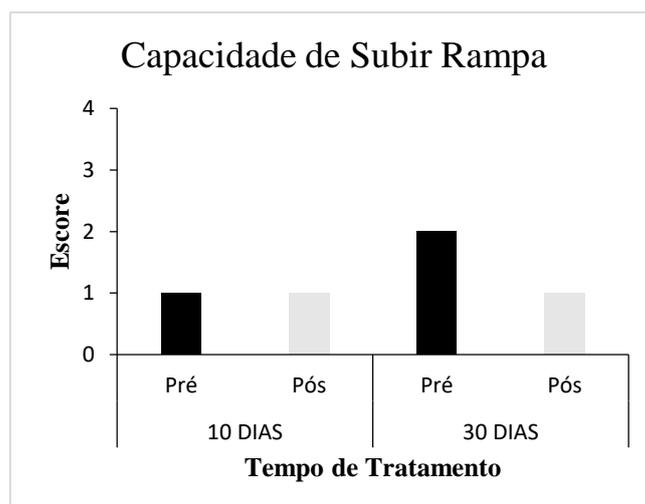


Gráfico 5 – Gráfico indicando o escore de capacidade de subir rampa pré e pós tratamento com o adjuvante curcumina, em dois experimentos, sendo eles de 10 dias e de 30 dias.

No eritograma não houveram mudanças significativas ou que ultrapassassem os valores de referência, exceto pela proteína plasmática, o restante manteve-se dentro dos valores com pouca variação. Em ambos os momentos o animal apresentou hiperproteinemia, tanto no pré como no pós tratamento. Sendo o valor de referência para a espécie 80 g/L, ao dia 0 apresentava-se em 81g/L, no dia 10 obteve um leve aumento, 84 g/L (T1). No T2, dia 0 apresentava-se em 81 g/L, no dia 30 em também obteve um leve aumento, 83 g/L. Quanto ao leucograma, também não houve mudanças que ultrapassassem os valores de referência.

Discussão

O uso da curcumina como terapia adjuvante neste trabalho em um primeiro experimento (T1) ocorreu um aumento de 3% no TBARS, não sendo este resultado significativo, possivelmente atribuído ao pouco tempo de tratamento. Porém, no segundo experimento (T2), houve uma diminuição de 65% do dano oxidativo. O dano oxidativo é decorrente da instabilidade elétrica dos átomos, sendo estes dotados de grande capacidade reativa. Os elétrons livres buscam estabilidade por meio da captura de elétrons de outras moléculas, células ou tecidos do organismo, favorecendo o surgimento de lesões celulares^{23,24,25}. Esta redução do dano oxidativo nos lipídeos possivelmente ocorreu pela ação antioxidante da curcumina, através da doação de hidrogênio radicalar, o qual reage com as

espécies reativas de oxigênio neutralizando-as, assim, reduzindo danos celulares por oxidação²⁶.

Os animais acometidos pela displasia coxofemoral apresentam mobilidade e amplitude das articulações limitadas, dor e claudicação, em variados graus³⁰. A dor é um resultado da ativação de nociceptores, ocorrendo em resposta à lesões teciduais acompanhadas de inflamação²⁷. A curcumina exerce influência sobre diversas vias deste processo inflamatório, sendo elas a ciclooxigenase-2 (COX-2), lipoxigenase-5 (LOX-5) e sobre o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa). Moléculas como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) e a interleucina-1beta, são os maiores responsáveis pela degradação cartilaginosa, as quais desencadeiam também a hiperalgesia. A enzima COX-2, está presente em vários processos inflamatórios. Ela sintetiza prostaglandinas da série 2, as quais contribuem para geração de inflamação, dor e inchaço. Há ação inibitória da curcumina sobre COX-2 e LOX-5, impedindo a formação de vários mediadores pró-inflamatórios incluindo leucotrienos, prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos^{28,29}.

Com o tratamento, obteve-se como resultado a diminuição dos quesitos analisados na avaliação clínica em 25% em 10 dias, e 75% em 30 dias. O escore de dor à palpação apresentou 20% de redução em ambos os períodos de tratamento (T1 e T2). Durante a avaliação pré tratamento, se encontrava em escore 2, após o tratamento, houve redução do escore para 1. Esta redução de escore de dor à palpação possivelmente está relacionada à redução da inflamação, por inibição de mediadores pró-inflamatórios, diminuindo o processo da dor pela redução da sensibilização de nociceptores. Não houve diferença significativa nesta avaliação entre o tempo de tratamento.

Os cães acometidos pela displasia coxofemoral ainda apresentam rigidez articular e claudicação, que se devem à combinação dos seguintes fatores: restrição articular e atrofia muscular, pois os animais tendem a diminuir a movimentação da articulação na qual sente dor; e também à dor articular, sendo esta uma das principais causas de claudicação e o sinal mais comum presente em animais com osteoartrite^{30,31}. No quesito claudicação, em T2, houve uma redução de 20%, sendo o escore pré tratamento 3 e pós tratamento 2. Desta forma, acredita-se que a redução da dor articular tenha influenciado no conforto à deambulação do paciente e assim, refletiu na redução da claudicação. Quanto ao T1, não foi obtida melhora clínica neste quesito, possivelmente por tempo insuficiente de tratamento.

Não houve melhora visível no quesito capacidade de saltar nem em 10, nem em 30 dias de tratamento, que se manteve com o mesmo escore 4 no período pré e pós tratamento.

Pode-se deduzir que o salto exija mais do animal e da articulação coxofemoral, causando maior desconforto e dor. O animal deste projeto apresentava um grau severo de displasia, grau E, caracterizado por incongruência articular, subluxação, arrasamento acetabular, deformação da cabeça e colo femoral ¹⁹. Além disso, o mesmo se apresentava com sobrepeso. O sobrepeso é considerado um fator de risco para as enfermidades ortopédicas, pois aumenta o estresse sobre as articulações, predispondo o surgimento de artrite, a qual contribui para o aumento do sobrepeso, já que o animal tem um menor gasto energético, agravando progressivamente tanto a obesidade quanto a doença osteoarticular ^{32,33}.

E por fim, no quesito capacidade de subir rampa houve melhora de 20% na segunda avaliação (T2), apresentando no período pré tratamento escore 2 e no pós tratamento, escore 1. Já na primeira avaliação (T1), não houve mudança no escore. Embora a rampa utilizada para a realização desta atividade tenha inclinação suave e superfície emborrachada, teoricamente não impondo grande dificuldade à subida, ao subir uma superfície inclinada, o paciente requisita maior distribuição de força nos membros pélvicos. A redução da dor e do desconforto pode ter auxiliado na redução de escore nesta avaliação.

Sendo assim, os escores de claudicação, capacidade de salto e capacidade de subir rampa mantiveram-se os mesmos após 10 dias de tratamento, sendo eles: 2, 4 e 1, respectivamente. Demonstrando assim, que este tempo de tratamento é insuficiente, devendo ser estendido para que ocorra maiores benefícios clínicos.

Tanto no leucograma quanto eritograma não houveram mudanças significativas ou que ultrapassassem os valores de referência, exceto pela proteína plasmática. Em ambos os momentos, 10 e 30 dias, o animal apresentou hiperproteinemia, tanto no pré como no pós tratamento. Segundo Sink e Feldman o componente globulina justifica o aumento dos valores de proteínas plasmáticas, sendo observados em casos de inflamação ³⁴.

Por não haver modificações em eritograma, leucograma e bioquímico – função renal e hepática- a curcumina pode ser considerada um princípio o qual não provoca efeitos adversos no organismo, como já era constatado através de outros estudos ^{18,35,36}.

Conclusão

O tempo de tratamento adjuvante com a curcumina se mostra com eficácia diminuída quando curto, 10 dias, porém, mesmo com o tempo reduzido de tratamento, ainda houve melhora no quesito de avaliação clínica dor à palpação. Em contrapartida, aos 30 dias de

tratamento, houve melhora em 75% dos quesitos clínicos avaliados e 65% de redução do dano oxidativo, demonstrando ser eficiente a longo prazo. Sugere-se o elastecimento do tempo de estudo e maior número amostral, havendo grupo controle, para proporcionar melhores resultados e a real eficácia da curcumina por longos períodos de tratamento.

Referências

- 1 Allan G. Sinais radiográficos das doenças articulares em cães e gatos. In: Thrall, DE. Diagnóstico de Radiologia Veterinária. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010. 317-358.
- 2 Rocha FPC, Silva D, Benedette MF, Santos DAN, Costa EAA. Displasia coxofemoral em cães. Rev. Cien. Eletr. De Med. Vet. 2008 jul. 6 (11).
- 3 Taylor SM, Scott-Moncrieff JCR. Distúrbios das Articulações. In: Nelson RW, Couto CG. Medicina Interna de Pequenos Animais. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2015. 1111-1132.
- 4 Nakasone Y, Watabe K, Watanabe k, Tomonaga A, Nagaoka I, Yamamoto T, et al. Effect of a glucosamine-based combination supplement containing chondroitin sulfate and antioxidant micronutrients in subjects with symptomatic knee osteoarthritis: A pilot study. Exp. and therapeutic med. 2011 set. 2 (5): 893–899.
- 5 Rezende MU, Campos GC, Pailo AF. Conceitos atuais em osteoartrite. Acta Orto. Bras. 2013 abr. 21(2): 120–122.
- 6 Cecilio Filho AB, Souza RJ, Braz LT, Tavares M. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. Ciência Rural. 2000. 30(1): 171-177.
- 7 Sueth-Santiago V, Peron MSG, Decoté-Ricardo D, Edilson FLM. Curcumina, O Pó Dourado Do Açafraão-Da-Terra: Introspecções Sobre Química E Atividades Biológicas. Quim. Nova. 2015. 38 (4): 538-552.
- 8 Zhang Z, Leong DJ, Xu L, He Z, Wang A, Navati M, et al. Curcumin slows osteoarthritis progression and relieves osteoarthritis-associated pain symptoms in a post-traumatic osteoarthritis mouse model. Arth. Resear. & therapy. 2016. 18 (1): 128- 140.
- 9 Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y, Banerjee S, Newman RA, Bueso-Ramos CE, et al. Curcumin Suppresses the Paclitaxel-Induced Nuclear Factor- B Pathway in Breast Cancer Cells and Inhibits Lung Metastasis of Human Breast Cancer in Nude Mice. Clin. Cancer Research. 2005 out. 11 (20): 7490-7498.
- 10 Bastos DHM, Rogero MM, Arêas JAG. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. Arq. Bras. de End. & Met. 2009 jul. 53(5): 646-656.
- 11 Bharti AC, Takada Y, Aggarwal BB. Curcumin (Diferuloylmethane) Inhibits Receptor Activator of NF-kB Ligand-Induced NF-kB Activation in Osteoclast Precursors and Suppresses Osteoclastogenesis. The Journal of Immunology. 2004. 172: 5940-5947.
- 12 Funk JL, Oyarzo JN, Chen G, Lantz RC, Jolad SD, et al. Turmeric Extracts Containing Curcuminoids Prevent Experimental Rheumatoid Arthritis. Journal of Nat. prod. 2006 mar. 69 (3): 827-833.

- 13 Jurenka JS. Anti-inflammatory Properties of Curcumin, a Major Constituent of Curcuma longa: A Review of Preclinical and clinical research. *Altern. Med. Review.* 2009. 14(2): 141-153.
- 14 Shishodis S, Sethi G, Aggarwal BB. Curcumin: Getting Back to the Roots. *Annals of the New York Acade. of Sci.* 2005 nov. 1056(1): 206-217.
- 15 Arshad L, Haque MDA, Abbas BSN, Jantan I. An overview of structure-activity relationship studies of curcumin analogs as antioxidante and anti-inflamantory agentes. *Future Med. Chem.* 2017 abr. 9 (6): 605-626.
- 16 Bianchi MLP, Antunes LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev. de Nutrição.* 1999 ago. 12(2): 123-130.
- 17 Schnitzer TJ. Update on guidedlines for the treatment of chronic musculoskeletal pain. *Clin Rheumatol.* 2006 jun. 25 (1): 22-29.
- 18 Daily JM, Yang M, Park S. Efficacy of turmeric extracts and curcumin for allviating the symptoms of joint arthritis: a sistematic review na meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Medicinal Food.* 2016 ago. 19(8): 717-729.
- 19 Suokas AK, Sagar DR, Mapp PI, Chapman V, Walsh DA. Design, study quality and evidence of analgesic efficacy in studies of drugs in models of OA pain: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2014. 22(9): 1207-1223.
- 19 Flückiger M. *Scoring radiographs for canine hip dysplasia: The big three organisations in the word.* *European Journal of Comp. Ani. Prat.* 2007 17(2): 135-140
- 20 Hielm-Björkman AK, Kuusela E, Liman A, Markkola A, Saarto E, Huttunen P, et al. Evaluation of methods for assessment of pain associated with chronic osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2003 jun. 222(11): 1552-1558.
- 21 Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in enzymology.* 1990. 186: 421-431.
- 23 Russo C, Bracarense APFRL. Oxidative stress in dogs. *Ciências Agrárias.* 2016. 37(3): 1431-1439.
- 24 Ha HL, Shin HJ, Feitelson MA, Yu DY. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. *Word jour. of gastroenterology.* 2010 dez. 16(48):6035-6043.
- 25 Gosmanova EO, Le NA. Cardiovascular complications in CKD patients: Role of oxidative stress. *Cardiology research and pract.* 2011.
- 26 Sueth-Santiago V, Mendes-Silva GPM, Decoté-Ricardo D, Lima MEFL. Curcumina, o pó dourado do açafão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas. *Quim. Nova.* 2015 mar. 38(4):538-552.

- 27 Klaumann PR, Wouk AFPF, Sillas T. Patofisiologia da dor. Arch of vet sci. 2008. 13(1): 1-12.
- 28 Bengmark S, Mesa MD, Gil A. Plant-derived health - the effects of turmeric and curcuminoids. Nutrición Hospitalaria. 2009. 24(3): 273–281.
- 29 Arshad L, Haque MA, Abbas BSN, Jantan I. An overview of structure-activity relationship studies of curcumin analogs as antioxidante and anti-inflamamtory agentes. Future Med. Chem. 2017 abr. 9(6): 605-626.
- 30 Fossum TW. Cirurgia de pequenos animais. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 1640 p.
- 31 Tavares WCJr, Faria FM, Figueredo R, Matushita JPK, Silva LC, Kakehasi AM. Fadiga óssea: causa de dor em joelhos na osteoartrite. Radiol Bras. 2012 out. 45(5):273-278.
- 32 Carciofi AC, Gonçalves KNV, Vasconcellos RS, Bazolli RS, Brunetto MA, Prada F. A weight loss protocol and owners participation in the treatment of canine obesity. Ciência Rural.2005. 35(6):1331-1338.
- 33 Silva SF, Brito AKF, Freire BAA, Sousa LM, Pereira IM. Obesidade canina: revisão. Pubvet. 2017 abr. 11(4):371-380.
- 34 SINK, Carolyn A; FELDMAN, Bernard F. Coleta de amostra e análise de tira de teste. In:_____. Urinálise e hematologia: laboratorial para o clínico de pequenos animais. São Paulo: Roca, 2006. cap. 1, p. 1-16.
- 35 Orlando G, Cocco PD, Pisani AF, Bengmark S. Aferri anti-infiammatori ed anti-ossidanti dei bioflavonoidi dei polifenoli: l’empio dela curmina. Minerva Med. 2010 dec. 1(6):1-11.
- 36 Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. Int J Biochem Cell Biol. 2009 jan. 41(1): 40–59.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do reduzido número de animais, foi possível verificar redução do dano oxidativo aos lipídeos e dos sinais clínicos avaliados. Conclui-se assim que a terapia com a curcumina pode ser uma grande aliada ao tratamento da osteoartrite em cães, com resultados analgésicos e anti-inflamatórios a longo prazo, sem efeitos colaterais.

Sugere-se o estancamento do tempo de estudo e maior número amostral, havendo grupo controle, para proporcionar melhores resultados e a real eficácia da curcumina por longos períodos de tratamento.

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, Bharat B. et al. Curcumin Suppresses the Paclitaxel-Induced Nuclear Factor- κ B Pathway in Breast Cancer Cells and Inhibits Lung Metastasis of Human Breast Cancer in Nude Mice. **Clinical Cancer Research**, v. 11, n. 20, p. 7490–7498, 15 out. 2005.
- AGGARWAL, Bharat B.; HARIKUMAR, K. B. Potential Therapeutic Effects of Curcumin, the Anti-inflammatory Agent, Against Neurodegenerative, Cardiovascular, Pulmonary, Metabolic, Autoimmune and Neoplastic Diseases. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 41, n. 1, p. 40–59, 2009.
- ALLAN, Graeme S. Sinais radiográficos das doenças articulares em cães e gatos. In: THRALL, Donald E. **Diagnóstico de Radiologia Veterinária**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 317–358.
- APPELBOOM, T. et al. Symptoms modifying effect of avocado/soybean unsaponifiables (ASU) in knee osteoarthritis. A double blind, prospective, placebo-controlled study. **Scandinavian journal of rheumatology**, v. 30, n. 4, p. 242–7, 2001.
- APPLETON, C. Thomas G. et al. Transforming growth factor α suppression of articular chondrocyte phenotype and expression in a rat model of osteoarthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v. 56, n. 11, p. 3693–3705, 1 nov. 2007.
- ARSHAD, Laiba et al. An overview of structure-activity relationship studies of curcumin analogs as antioxidante and anti-inflamamtory agentes. **Future Med. Chem.** v. 9, n. 6, p. 605-626, abr. 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE RADIOLOGIA VETERINÁRIA (ABRV). **Normas do Colégio Brasileiro de Radiologia Veterinária (CBRV) para Avaliação da displasia Coxofemoral em cães**. Disponível em: < <https://goo.gl/XpmpfH7> >. Acesso em: 06 out. 2017.
- BASNET, Purusotam; SKALKO-BASNET, Natasa. Curcumin: An Anti-Inflammatory Molecule from a Curry Spice on the Path to Cancer Treatment. **Molecules**, v. 16, n. 12, p. 4567–4598, 3 jun. 2011.
- BASTOS, Deborah; H. M.; ROGERO, Marcelo M.; ARÊAS, José. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646–656, jul. 2009.
- BENGMARK, S.; MESA, Maria D.; GIL, A. Plant-derived health - the effects of turmeric and curcuminoids. **Nutrición Hospitalaria**, v. 24, n. 3, p. 273–281, 2009.
- BHARTI, Alok C.; TAKADA, Yasunare.; AGGARWAL, Bharat B. Curcumin (Diferuloylmethane) Inhibits Receptor Activator of NF- κ B Ligand-Induced NF- κ B Activation in Osteoclast Precursors and Suppresses Osteoclastogenesis. **The Journal of Immunology**, v. 172, p. 5940–5947, 2004.

BIANCHI, Maria de Lourdes. P.; ANTUNES, Lusânia M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123–130, ago. 1999.

BUDSBERG, Steven C. Drogas Anti-Inflamatórias Não Esteroides. In: GAYNOR, James S.; MUIR III, William W. **Manual de Controle da Dor em Medicina Veterinária**. 2 ed. São Paulo: MedVet, 2009. p. 183-209.

CARLSON, Cathy S.; WEISBRODE, Steven. E. Ossos, Articulações, Tendões e Ligamentos. In: ZACHARY, James F.; MCGAVIN, M. Donald. **Bases da Patologia Veterinária**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 923–974.

CECILIO FILHO, Arthur Bernardes et al. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 171–177, 2000.

CHEN, L. et al. Hyaluronic acid in combination with chondroitin sulfate and hyaluronic acid improved the degeneration of synovium and cartilage equally in rabbits with osteoarthritis. **Drug discoveries & therapeutics**, v. 5, n. 4, p. 190–4, ago. 2011.

CLARK, Terrence P. The Clinical Pharmacology of Cyclooxygenase-2–Selective and Dual Inhibitors. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 36, n. 5, p. 1061–1085, set. 2006.

COLLINO, Luma. **Curcumina: de Especiaria à Nutraceutico**. 2014. 88 f. Monografia (Graduação) - Curso de Farmácia-bioquímica, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.

DALLE-DONNE, Isabella et al. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. **Clinica Chimica Acta**, v. 329, n. 1–2, p. 23–38, mar. 2003.

DASSLER, Christopher. L. Displasia do quadril canino: diagnóstico e tratamento não cirúrgico. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3ª ed. Barueri: Manole, 2007. p. 2019–2029.

DENNY, Hamish R.; BUTTERWORTH, Steven J. Osteoartrite. In: _____. **Cirurgia Ortopédica em Cães e Gatos**. 4ª ed. São Paulo: Roca, 2006a. p. 39–48.

DENNY, Hamish R.; BUTTERWORTH, Steven J. Quadril. In: _____. **Cirurgia Ortopédica em Cães e Gatos**. 4ª ed. São Paulo: Roca, 2006b. p. 352–382.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v. 186, p. 421–31, 1990.

DYCE, K. M.; SACK, Wolfgang O.; WENSING, C. J. G. Alguns fatos e conceitos básicos. In: _____. **Tratado de anatomia veterinária**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. p. 1–31.

DYCUS, David L.; LEVINE, David; MARCELLIN-LITTLE, Denis J. Physical Rehabilitation for the Management of Canine Hip Dysplasia. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 47, n. 4, p. 823–850, jul. 2017.

FERRELL, Eric A.; BERRY, Clifford R.; THRALL, Donald E. Paradigmas de Interpretação para o Esqueleto Apendicular. In: THRALL, D. E. **Diagnóstico de Radiologia Veterinária**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 222–239.

FLÜCKIGER, Mark. Scoring radiographs for canine hip dysplasia-The big three organisations in the world. **European Journal of Companion Animal Practice**, v. 17, n. 2, p. 135-140, 2007.

FLÜCKIGER, Mark. The standardized analysis of radiographs for hip dysplasia in dogs. Objectifying a subjective process. **Kleintierpraxis** v. 38, p. 693-702, 1993.

FORMENTON, Maira. Physical therapy in dogs: applications and benefits. **Veterinary Focus**, v. 21, n. 11, p. 11–17, 2011.

FROES, Tilde Rodrigues. Diagnóstico radiográfico das doenças articulares pélvicas do cão. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, n. 110, p. 35–39, jul./ago./set. 2011.

FUJIKI, Makoto et al. Effects of treatment with polysulfated glycosaminoglycan on serum cartilage oligomeric matrix protein and C-reactive protein concentrations, serum matrix metalloproteinase-2 and -9 activities, and lameness in dogs with osteoarthritis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 68, n. 8, p. 827–833, ago. 2007.

FUNK, Janet L. et al. Turmeric Extracts Containing Curcuminoids Prevent Experimental Rheumatoid Arthritis. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 3, p. 351–355, mar. 2006.

GAYNOR, James S. Outras Drogas Utilizadas para o Tratamento da Dor. In: GAYNOR, James S.; MUIR III, William W. **Manual de Controle da Dor em Medicina Veterinária**. 2 ed. São Paulo: MedVet, 2009. p. 260-276.

GETTY, R. Sindesmologia. In: SISSON, S.; GROSSMAN, J. D. **Anatomia dos animais domésticos**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 33–37.

GOEL, Ajay; KUNNUMAKKARA, Ajaikumar B.; AGGARWAL, Bharat B. Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic. **Biochemical Pharmacology**, v. 75, n. 4, p. 787–809, fev. 2008.

GOSMANOVA, Elvira O.; LE, Ngoc-Anh. Cardiovascular Complications in CKD Patients: Role of Oxidative Stress. **Cardiology research and practice**, v. 2011, jan. 2011.

GUPTA, Subash C. et al. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 39, n. 3, p. 283–299, mar. 2012.

GUPTA, Subash C.; PATCHVA, Sridevi; AGGARWAL, Bharat B. Therapeutic Roles of Curcumin: Lessons Learned from Clinical Trials. **The AAPS Journal**, v. 15, n. 1, p. 195–218, jan. 2013.

HA, Hye-Lin et al. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. **World journal of gastroenterology**, v. 16, n. 48, p. 6035–43, dez. 2010.

HARPER, Tisha A. M. Conservative Management of Hip Dysplasia. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 47, n. 4, p. 807–821, jul. 2017.

HAY, Callum W.; MANLEY, Paul A. Osteoartrite. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Clínica de pequenos animais**. 3ª ed. São Paulo: Roca, 2013. p. 1244–1248.

HENROTIN, Yves E. et al. Avocado/soybean unsaponifiables increase aggrecan synthesis and reduce catabolic and proinflammatory mediator production by human osteoarthritic chondrocytes. **The Journal of rheumatology**, v. 30, n. 8, p. 1825–34, ago. 2003.

HENROTIN, Yves; SANCHEZ, Christelle; BALLIGAND, Marc. Pharmaceutical and nutraceutical management of canine osteoarthritis: Present and future perspectives. **The Veterinary Journal**, v. 170, n. 1, p. 113–123, jul. 2005.

HIELM-BJÖRKMAN, Anna K. et al. Evaluation of methods for assessment of pain associated with chronic osteoarthritis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 222, n. 11, p. 1552–8, 1 jun. 2003.

HONG, J. et al. Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related - diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A2, cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. **Carcinogenesis**, v. 25, n. 9, p. 1671–1679, 1 abr. 2004.

HOLWORTH, Ian G.; DECAMP, Charles E. Luxação coxofemoral. In: SLATTER, Douglas. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3ª ed. Barueri: Manole, 2007. p. 2002–2008.

HWANG, Eun-Sun; KIM, Gun-Hee. Biomarkers for oxidative stress status of DNA, lipids, and proteins in vitro and in vivo cancer research. **Toxicology**, v. 229, n. 1–2, p. 1–10, jan. 2007.

JOE, B.; LOKESH, B. R. Dietary n-3 fatty acids, curcumin and capsaicin lower the release of lysosomal enzymes and eicosanoids in rat peritoneal macrophages. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 203, n. 1–2, p. 153–61, jan. 2000.

JURENKA, Julie S. Anti-inflammatory Properties of Curcumin, a Major Constituent of Curcuma longa: A Review of Preclinical and clinical research. **Alternative Medicine Review**, v. 14, n. 2, p. 141–153, 2009.

KANG, Hee-Chul et al. Curcumin inhibits collagen synthesis and hepatic stellate cell activation in-vivo and in-vitro. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, n. 1, p. 119–126, jan. 2002.

KAO, M. P. C. et al. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. **Journal of Human Hypertension**, v. 24, n. 1, p. 1–8, jan. 2010.

KEALY, J. Kevin; MCALLISTER, Hester; GRAHAM, John P. Ossos e Articulações. In: _____. **Radiografia e Ultrassonografia do cão e do gato**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier,

2012. p. 351–446.

KUKANICH, Butch; BIDGOOD, Tara; KNEST, Oliver. Clinical pharmacology of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 39, n. 1, p. 69–90, jan. 2012.

KUKANICH, Butch; PAPICH, M. G. Pharmacokinetics of tramadol and the metabolite O-desmethyltramadol in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 4, p. 239–246, ago. 2004.

LAMBERT, Cécile et al. Characterization of synovial angiogenesis in osteoarthritis patients and its modulation by chondroitin sulfate. **Arthritis Research & Therapy**, v. 14, n. 2, p. 58–69, mar. 2012.

LIEBICH, Hans-George; FORSTENPOINTNER, G.; KÖNIG, Hoster E. Introdução e Anatomia Geral. In: LIEBICH, Hans-George; KÖNIG, Hoster E. **Anatomia dos Animais Domésticos Texto e Atlas Colorido**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. p. 21–68.

LIMA, Émersom Silva; ABDALLA, Dulcineia Sais Parra. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Rev Bras Cienc Farm*. v.37, n.3, p. 293-30, dez. 2001

LUSHCHAK, Volodymyr et al. Possible role of superoxide dismutases in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* under respiratory conditions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 441, n. 1, p. 35–40, set. 2005

MARTEL-PELLETIER, Johanne. Review: Pathophysiology of osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage Osteoarthritis Research Society**, v. 6, p. 374–376, 1998.

MELE, Esteban. Epidemiologia da osteoartrite. **Veterinary Focus**, v. 17, n. 3, p. 4–10, 2007.

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. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 60, n. 1, p. 83–92, 2008.

MATÉS, J. M. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. **Toxicology**, v. 153, n. 1–3, p. 83–104, nov. 2000.

MENON, Venugopal P.; SUDHEER, Adlury R. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. In: _____. **The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease**. Boston, MA: Springer US, 2007. v. 595p. 105–125.

MINTO, Bruno Watanabe et al. Avaliação clínica da denervação acetabular em cães com displasia coxofemoral atendidos no hospital veterinário da FMVZ - botucatu - SP. **Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n. 1, p. 791–798, mar. 2012.

MITTLER, Ron. ROS Are Good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 1, p. 11–19, jan. 2017.

MORISHIN FILHO, Milton Mikio; RAHAL, Sheila Canevese. O uso de antiinflamatórios inibidores Cox-2 seletivos na osteoartrite canina. **Vet. e Zootec.** v. 15, n. 3, p. 407-415, dez. 2008.

NAKASONE, Yasushi et al. Effect of a glucosamine-based combination supplement containing chondroitin sulfate and antioxidant micronutrients in subjects with symptomatic knee osteoarthritis: A pilot study. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 2, n. 5, p. 893–899, set. 2011.

OGIWARA, Hideaki et al. Curcumin suppresses multiple DNA damage response pathways and has potency as a sensitizer to PARP inhibitor. **Carcinogenesis**, v. 34, n. 11, p. 2486–2497, nov. 2013.

OLMSTEAD, Marvin L. Anormalidades da Articulação Coxofemoral. In: BIRCHARD, Stephen J.; SHERDING, Robert G. **Clínica de pequenos animais**. 3ª ed. São Paulo: Roca, 2013. p. 1134–1141.

ONODERA, S. et al. Macrophage migration inhibitory factor up-regulates expression of matrix metalloproteinases in synovial fibroblasts of rheumatoid arthritis. **The Journal of biological chemistry**, v. 275, n. 1, p. 444–50, 7 jan. 2000.

PAVELKÁ, Karel et al. Glucosamine sulfate use and delay of progression of knee osteoarthritis: a 3-year, randomized, placebo-controlled, double-blind study. **Archives of internal medicine**, v. 162, n. 18, p. 2113–23, 14 out. 2002.

PEDERSEN, Niels C.; MORGAN, Joe P.; VASSEUR, Philip B. Doenças Articulares de Cães e Gatos. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 1962–1988.

PINTÃO, Ana Maria; SILVA, Inês F. da. A Verdade sobre o Açafreão. **Workshop Plantas Medicinais e Fitoterapêuticas nos Trópicos**. ICT /CCCM, 29, 30 e 31 de Out. 2008.

PIERMATTEI, Donald L.; FLO, Gretchen L.; DECAMP, Charles E. Articulação Coxofemoral. In: _____. **Ortopedia e Tratamento de Fraturas de pequenos Animais**. 4ª ed. Barueri: Manole, 2009. p. 523–579.

POILLET-PÉREZ, Laura et al. Interplay between ROS and autophagy in cancer cells, from tumor initiation to cancer therapy. **Redox Biology**, v. 4, p. 184–192, abr. 2015.

REZENDE, Márcia Uchôa de; CAMPOS, Gustavo Constantino de; PAILO, Alexandre Felício. Conceitos atuais em osteoartrite. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 120–122, abr. 2013.

RICHY, Florent et al. Structural and Symptomatic Efficacy of Glucosamine and Chondroitin in Knee Osteoarthritis: A Comprehensive Meta-analysis. **Archives of Internal Medicine**, v. 163, n. 13, p. 1514–1522, 14 jul. 2003.

ROBINSON, Narda G. Medicina Complementar e Alternativa para Controle da Dor em Pacientes Veterinários. In: GAYNOR, James S.; MUIR III, William W. **Manual de Controle da Dor em Medicina Veterinária**. 2 ed. São Paulo: MedVet, 2009. p. 301-329.

ROCHA, Fábio Perón Coelho da et al. Displasia coxofemoral em cães. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, n. 11, jul. 2008.

SAMUELSON, Don A. Cartilagem e Osso. In: _____. **Tratado de Histologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 97–124.

SCHULZ, Kurt S. Fundamentals of orthopedic surgery and fracture management. In: FOSSUM, Theresa Welch. **Small Animal Surgery**. 4^a ed. Canadá: Elsevier, 2013. p. 1033–1374.

SHISHODIA, S.; SETHI, Gautam; AGGARWAL, Bharat B. Curcumin: Getting Back to the Roots. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1056, n. 1, p. 206–217, 1 nov. 2005.

SUETH-SANTIAGO, Vitor et al. Curcumina, O Pó Dourado Do Açafão-Da-Terra: Introspecções Sobre Química E Atividades Biológicas. **Quim. Nova**, v. 38, n. 4, p. 538–552, 2015.

SUMANTRAN, Venil N. et al. The relationship between chondroprotective and antiinflammatory effects of *Withania somnifera* root and glucosamine sulphate on human osteoarthritic cartilage in vitro. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 10, p. 1342–1348, out. 2008.

TAYLOR, Susan M.; SCOTT-MONCRIEFF, J. Catharine R. Distúrbios das Articulações. In: NELSON, Richard W.; COUTO, C. Guilherme. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 1111–1132.

TODHUNTER, Rory J.; LUST, George. Displasia do quadril: patogenia. In: SLATTER, Douglas **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3^a ed. Barueri: Manole, 2007. p. 2009–2019.

TILAK, Jai. C. et al. Antioxidant availability of turmeric in relation to its medicinal and culinary uses. **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 10, p. 798–804, out. 2004.

XI, Juqun; QIN, Jin; FAN, Lei. Chondroitin sulfate functionalized mesostructured silica nanoparticles as biocompatible carriers for drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 5235, 2012.

ANEXOS

ANEXO 1 – Normas da revista Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology

Research papers should include a title of not more than 50 words; The manuscript, including the title page, abstract and keywords, text, references, figure captions, and tables should be typewritten, double-spaced in 12-point font with 1-inch margins all around and saved as one file; Up to 40 references. Insert a page break between the end of text and the start of references. The Vancouver style should be used - references are numbered consecutively in order of appearance in the text, and identified by Arabic numerals in parentheses at the end of the sentence. By way of exception to AMA style, do not italicize book titles or journal title abbreviations and do not put a period at the end of a reference; List all author names, up to and including six names; For more than six authors, list the first three followed by et al.; Should include all author names and affiliations, correspondence author and contact information, Acknowledgments, Funding, Author Contributions and Conflict of interest statements; Total character count for your main text should not exceed the allowed limits. The abstract should briefly outline the content of the article and any conclusions it may reach; and an abstract of not more than 1,500 characters (with spaces). The text should be as concise as possible; the length should not exceed 20000 characters (with spaces). The word count excludes the title, author details, abstract, tables, figure legends, acknowledgements and references [...].

ANEXO 2 – Termo de consentimento livre e esclarecido**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título da pesquisa: Avaliação do efeito da curcumina como terapia adjuvante sobre o estresse Oxidativo e estado clínico de cães com osteoartrite

Orientadora: Débora Maria Marques Callado de Oliveira, Ma.

Nome do(s) pesquisadores assistentes/alunos: Daniela Boaventura Fortunato, Amabille Vitória Bonelli.

Justificativa: A osteoartrite é uma doença de evolução progressiva que acomete com frequência a espécie canina. Trata-se de uma doença sem cura conhecida, dada a inexistência de agentes terapêuticos capazes de restabelecer a articulação em seu aspecto fisiológico. Sabe-se que a curcumina possui ação anti-inflamatória e antioxidante, além de outras propriedades e usos, tornando-a uma boa opção para ser utilizada terapeuticamente. Estudos recentes indicam que a sua atuação se dá, sobretudo, na redução do processo inflamatório e das espécies reativas de oxigênio – que, em níveis elevados, são prejudiciais às células. A curcumina é um composto natural de origem vegetal, sem registro de efeitos deletérios ao organismo animal. Espera-se que, com a utilização contínua da curcumina pela via oral, os pacientes caninos apresentem melhora na qualidade de vida, tendo em vista o seu potencial papel na diminuição da progressão da doença, atuando, principalmente, como fator redutor da inflamação articular.

Objetivo geral: Avaliar clinicamente e metabolicamente o tratamento adjuvante com curcumina em cães com osteoartrite secundária à displasia coxofemoral.

Procedimento: O estudo será desenvolvido no Hospital Veterinário Unisul, na Universidade do Sul de Santa Catarina, localizada em Tubarão, Santa Catarina, com a autorização escrita dos tutores dos cães, bem como autorização da Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) e da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), à qual o projeto já foi submetido e tem como número de protocolo: n.º17.019.5.05. IV.

Após enquadrar-se nos critérios de inclusão da pesquisa, serão coletados dados do paciente como idade, raça, sexo e peso. Será realizada a avaliação radiográfica para seleção dos animais com classificação de displasia coxofemoral nos graus C, D e E. Posteriormente será

feita avaliação ortopédica por um único médico veterinário especializado em ortopedia, prof^a. Ma. Débora Maria M. Callado de Oliveira, que registrará os dados usando um sistema de pontuação ordinal, que inclui dor à palpação da articulação coxofemoral, grau de claudicação (mancar), capacidade de saltar e capacidade de subir rampa, conforme descrito por Hielm-Björkman *et al.*, nos dias zero (dia da consulta), 15, 30 e 60 dias após o início do tratamento.

Serão coletadas 3 amostras de sangue para quantificar o dano oxidativo, além de avaliar o hemograma e os parâmetros de funcionalidade renal e hepática nos dias zero (dia da consulta), 30 e 60 dias após o início do tratamento.

Ainda, serão realizados 2 exames radiográficos para confirmar e avaliar a osteoartrite associada à displasia coxofemoral, nos dias zero (dia da consulta) e 60 dias após o início do tratamento. Para o adequado posicionamento radiográfico e evitar que o animal sinta dor durante o exame, os cães serão sedados com 0,004 mg/kg de nilperidol intramuscular. Em casos de sedação insuficiente, será administrado o anestésico propofol intravenoso durante o exame radiográfico.

Cada cão participante deste estudo receberá os medicamentos e nutracêuticos manipulados referentes ao seu peso, a serem administrados diariamente pelos seus tutores em suas residências, pela via oral, conforme prescrito na receita pelo médico veterinário responsável para o tratamento da displasia coxofemoral durante 60 dias.

Ao final do tratamento, o tutor será convidado a preencher um questionário simples, avaliando a resposta de seu cão ao tratamento realizado em “muito pior”, “pior”, “nenhuma mudança”, “melhor” ou “muito melhor”.

A consulta ortopédica, assim como o primeiro exame de sangue (perfil I), o primeiro exame radiográfico (de pelve) e a sedação, serão cobrados do tutor do cão como de rotina. O tutor ficará isento do pagamento dos retornos para reavaliação clínica em 15, 30 e 60 dias, do segundo exame de sangue e segundo exame radiográfico aos 60 dias após o início do tratamento e das avaliações laboratoriais do dano oxidativo das amostras de sangue coletadas. Também receberão gratuitamente os medicamentos e nutracêuticos manipulados pela empresa Drogavet (farmácia de manipulação veterinária) para o tratamento da displasia coxofemoral, receitados pelo médico veterinário responsável pela pesquisa, durante 60 dias.

Agradecemos sua contribuição para o desenvolvimento desta atividade de pesquisa e colocamo-nos à disposição para esclarecimentos adicionais através dos telefones (48) 99638-2888 prof^a Débora / (48) 99929-8531 Daniela / (48) 98469-1137 Amabelle.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____,
responsável pelo cão _____, fui informado(a), de forma clara e
detalhada, sobre os procedimentos a serem realizados em meu cão, custos e objetivos e
concordo em participar da pesquisa intitulada “A eficácia da curcumina como adjuvante no
tratamento de cães com osteoartrite secundária à displasia coxofemoral mediante avaliação
clínica dos pacientes e análise laboratorial dos marcadores de estresse oxidativo”, que será
realizada no Hospital Veterinário da UNISUL, sob responsabilidade da pesquisadora profa.
Débora Maria M. Callado de Oliveira, Ma. Também dou minha permissão para o uso de
fotografias e dados obtidos durante a pesquisa. Todas as minhas dúvidas foram respondidas
com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento.

Tubarão, _____ de _____ de 2018.

Assinatura do tutor do cão

Prof^ª Responsável Débora Maria Marques Callado de Oliveira, Ma.

Aluna responsável