



Avaliação da eficácia anti-inflamatória do Maxicam Solução Oral, a base de Meloxicam (0,1%), administrado em cães pela via oral, durante 4 dias consecutivos.

O estudo foi realizado em um canil experimental do Centro de Tecnologia Animal Ltda. - CTA, localizado no distrito de Paraju, município de Domingos Martins- ES.

Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia anti-inflamatória do produto Maxicam Solução Oral, quando administrado por via oral, na dose de 0,2 mg/kg de peso vivo, no primeiro dia de administração, seguida por uma dose de 0,1 mg/kg de peso vivo do 2º ao 4º dia de medicação, 1 vez ao dia (a cada 24 horas), em cães adultos submetidos à inflamação induzida experimentalmente com Caulim (Silicatos hidratados de alumínio).

Animais

Foram utilizados no estudo 16 cães (8 machos e 8 fêmeas) saudáveis com idade acima de 12 meses e peso acima de 5 kg. Cada animal foi identificado por meio de um microchip e a identificação completa (sexo, idade, peso, raça e número de registro) foi anotada no dia D-4 do estudo. Os animais selecionados não haviam sido expostos ao ativo meloxicam ou outros medicamentos num período de 20 dias que antecedeu o início do estudo.



Delineamento experimental

No dia D-4 do estudo, 20 cães foram avaliados por meio de avaliações clínicas e laboratoriais. Destes, 16 animais foram selecionados e incluídos no estudo, sendo distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em 2 grupos experimentais (Controle e Medicado), com base no sexo, peso corporal e idade dos animais, totalizando 8 cães em cada grupo (sendo 4 machos e 4 fêmeas).

Indução do processo inflamatório

Para a avaliação da eficácia anti-inflamatória, foi produzido experimentalmente com condições controladas um processo inflamatório na porção distal do membro torácico direito de cada animal no momento (D0 – 6 horas antes do início da primeira dose da medicação com o produto Maxicam Solução Oral). Para a indução do processo inflamatório, os animais foram sedados com Xilazina (Xilazin 2%- Sintec do Brasil Ltda.) e posteriormente foi injetado, nos animais de ambos os grupos Controle e Medicado, sob condições assépticas e por via subcutânea, 500 mg de Caulim (Silicatos hidratados de alumínio, Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, EUA) diluídos em 1,75 ml de solução estéril para injeção.

Administração do produto

Os animais do grupo Medicado receberam o produto Maxicam Solução Oral pela via oral, na dose de 0,2 mg/kg de peso vivo no primeiro dia de administração (D0), seguida por 0,1 mg/kg de peso vivo do 2º ao 4º dia de administração (D+1 ao D+3), 1 vez ao dia, que correspondeu a 0,2 ml do



produto para cada quilo de peso vivo no 1º dia e 0,1 ml do produto para cada quilo de peso vivo do 2º ao 4º dia, 1 vez ao dia.

Os animais do grupo Controle não receberam a administração de placebo.

Para cada animal, um frasco de 15 ml e uma seringa de 1 ml (disponibilizada em conjunto com o produto) foi nominalmente identificado para o uso individual ao longo do estudo.

Colheita de amostras plasmáticas

Foram colhidas 11 amostras de sangue (2 a 4 ml) de cada cão, seguindo o esquema de períodos de colheitas nos seguintes tempos: D0-6h (pré-indução do processo inflamatório), D0 (T0) (pré-tratamento da primeira dose do produto), D0+1h (T1), D0+2h (T2), D0+4h (T3), D0+6h (T4) e D0+12h (T5) (pós-administração da primeira dose do produto), D+1(0h) (T6) e D+1(+4h) (T7) (pós-administração da segunda dose do produto) e D+2(0h) (T8) e D+2(+4h) (T9) (pós-administração da terceira dose do produto).

Parâmetros Avaliados

- Durante todo o experimento, os animais foram submetidos a diferentes avaliações visando avaliar parâmetros que indiquem a resposta anti-inflamatória, sendo eles: lesão intradérmica, circunferência da porção distal do membro anterior, temperatura local (calor), claudicação em movimento (grau de claudicação avaliado por uma escala numérica – Tabela 1), dor secundária à pressão digital na pata inflamada (grau de dor avaliado por uma escala numérica – Tabela 2) e claudicação em estação (grau de claudicação avaliado por uma escala numérica – Tabela 3).



Tabela 1. Escala de classificação numérica do grau de claudicação dos animais em movimento.

Grau	Definição do grau de claudicação em movimento
0	Sem claudicação, apoia totalmente o membro
1	Claudicação pouco detectável durante a maior parte do período de observação (claudicação com suporte de peso substancial pode ser observada em alguns passos).
2	Claudicação leve (suporte de peso substancial)
3	Claudicação moderada (suporte de peso mínimo)
4	Claudicação grave [o animal usa a pata (para iniciar a caminhada e ou toca levemente o chão), mas não suporta o peso]
5	O animal se recusa a mover-se e evita qualquer contato do membro com o solo.

Adaptado de Jeunesse et al. (2011).

Tabela 2. Escala de classificação numérica do grau de dor dos animais.

Grau	Definição do grau de Dor
0	Nenhuma reação ou retirada ligeira da pata, assemelhando-se à pata controle
1	Retirada forte da pata
2	Retirada forte da pata e agitação do animal
3	Retirada forte da pata, agitação, vocalização ou agressividade do animal

Adaptado de Giraudel et al. (2005a).

Tabela 3. Escala de classificação numérica do grau de claudicação em estação.

Grau	Definição do grau para claudicação em estação
0	Normal, apoia totalmente o membro
1	Apoia parcialmente o membro
2	Apoia o membro de forma intermitente
3	Não apoia o membro

Adaptado de Bonneau et al. (2005).

As avaliações dos parâmetros acima citados foram realizadas nos tempos: D0-6h (antes da indução do processo inflamatório), D0 (0h antes da 1ª administração do produto Maxicam Solução Oral), D0+4h (4 horas após a



1ª administração do produto), D0+6h (6 horas após a 1ª administração do produto), D0+8h (8 horas após a 1ª administração do produto), D0+10h (10 horas após a 1ª administração do produto), D0+12h (12 horas após a 1ª administração do produto); D+1 (0h) (0h antes da 2ª administração do produto), D+1 (+4h) (4 horas após a 2ª administração do produto); D+2 (0h) (0h antes da 3ª administração do produto), D+2 (+4h) (4 horas após a 3ª administração do produto); D+3 (0h) (0h antes da 4ª administração do produto), D+3 (+4h) (4 horas após a 4ª administração do produto); D+4 (0h) (24 horas após a 4ª administração do produto); D+5 (0h) (48 horas após a 4ª administração do produto) e D+6 (0h) (72 horas após a 4ª administração do produto).

- Na etapa laboratorial, houve a avaliação de mediadores inflamatórios no soro e no plasma sanguíneo, por meio de ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA), visando à determinação da atividade da enzima constitutiva ou fisiológica cicloxigenase-1 (COX-1), expressa em tecidos e eritrócitos e representada pela quantificação do mediador lipídico Tromboxano B₂ (TBX₂) e para a determinação da atividade da enzima sintetizada por macrófagos e células inflamatórias após estimulação por citocinas e outros mediadores de inflamação - cicloxigenase-2 (COX-2), representada pela quantificação do mediador lipídico Prostaglandina E₂ (PGE₂).

Análise estatística

Para a análise intergrupo (Controle x Medicado) nos diferentes tempos de avaliação foi utilizado o teste de média *t student*, para dados não pareados.



A análise de diferenças estatísticas dentro do grupo Medicado foi realizada pelo teste de média de Dunnett. Nas variáveis utilizadas para avaliar grau, nos diferentes tempos de avaliação foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Na análise intergrupo e dentro do grupo, a diferença estatística foi considerada significativa quando o valor de P foi menor do que 5% ($p < 0,05$).

Para a análise dos resultados sobre os dados de prostaglandina E_2 (PGE_2) e tromboxano B_2 (TXB_2), foram transformados em logaritmo (LogN).

Os testes estatísticos foram realizados utilizando o programa estatístico SPSS Statistics e pelo Software *Jmp*.

Resultados

Dentre os parâmetros avaliados a fim de comprovar a eficácia na resposta anti-inflamatória do produto Maxicam Solução Oral, houve diferença significativa entre os grupos Controle e Medicado, quanto ao grau de claudicação em movimento, onde observou-se no grupo Medicado menor grau de claudicação dos animais nos tempos D0 (8h) e D0 (12h) após a primeira dose administrada do produto e nos tempos D+1 (4h) ao D+4 (0h), ou seja, 4 horas após a segunda dose do produto, permanecendo até 24 horas após a quarta dose administrada (Figura 1).

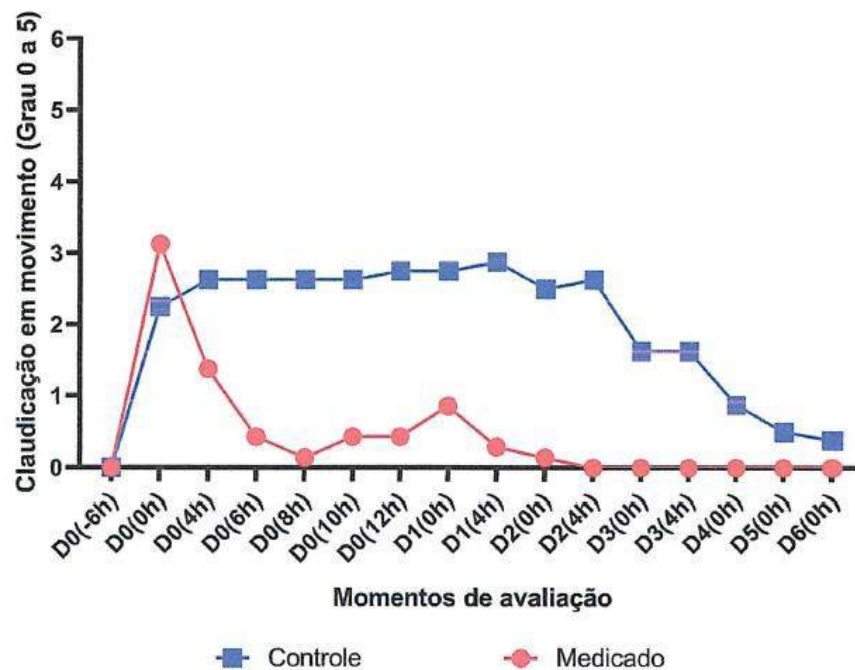


Fig.1 Média do score de claudicação em movimento nos animais do grupo Controle e Medicado de acordo com os momentos de avaliação.

Em relação ao parâmetro dor secundária à pressão digital, o produto Maxicam Solução Oral se mostrou eficaz em causar o efeito anti-inflamatório desejado nos animais do grupo Medicado, que apresentaram menor grau para a classificação da dor secundária à pressão digital quando comparado ao grupo Controle, sendo comprovado estatisticamente no momento de avaliação D0 (8h), 8 horas após a 1ª administração do produto se estendendo ao momento D+6 (0h), ou seja, 72 horas após a 4ª dose administrada (Figura 2).

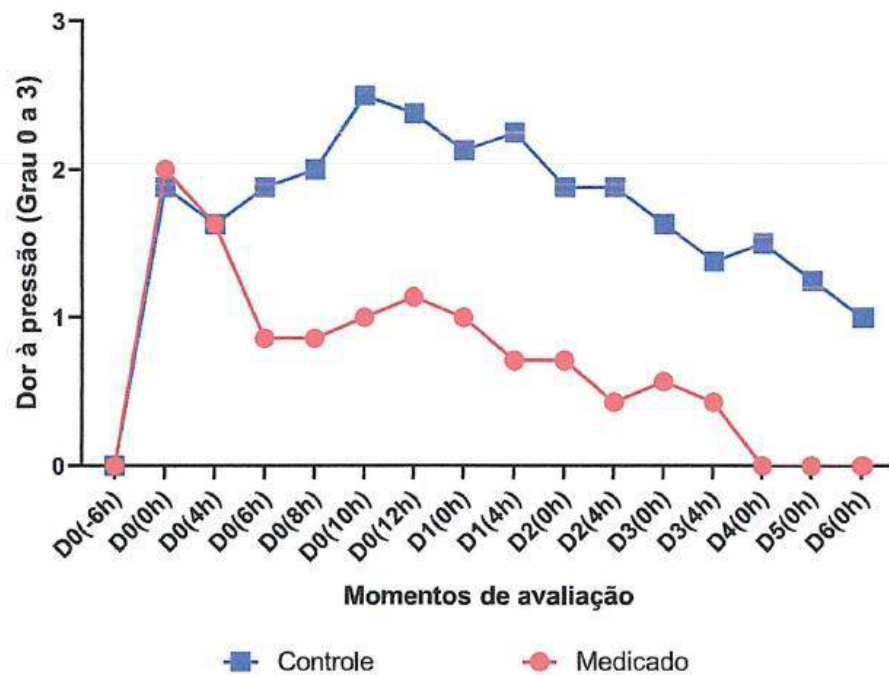


Fig.2 Dor secundária à pressão digital realizada na porção submetido ao processo inflamatório nos animais dos grupos Controle e Medicado de acordo com o momento da avaliação.

Verificou-se diferença estatística no parâmetro claudicação em estação entre o grupo Medicado quando comparado ao grupo Controle, assim como observado nos tempos D0 (6h) ao D0 (12h), ou seja, de 6 horas a 12 horas após a 1ª administração do produto e D+1 (4h) ao D+3 (4h), ou seja, se estendendo até 4 horas após a 4ª administração do produto (Figura 3).

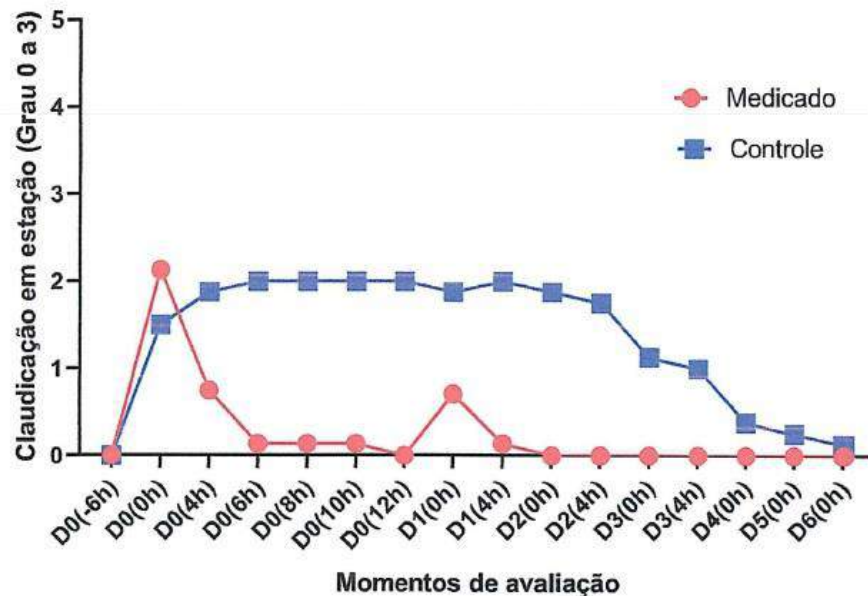


Fig.3 Média do score de claudicação em estação nos animais do grupo Controle e Medicado de acordo com os momentos de avaliação.

As variáveis temperatura superficial, circunferência da porção distal do membro anterior e lesão intradérmica (edema) não demonstraram diferenças entre os grupos Controle e Medicado, o que pode ser justificado pelo fato do Caulim não ter perfil de causar um processo inflamatório exacerbado quando administrado via subcutânea (Giraudel *et al.*, 2005b).

Ao avaliar as atividades das enzimas cicloxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2), por meio da concentração de tromboxano B₂ (TXB₂) e prostaglandina E₂ (PGE₂), respectivamente, os resultados indicam que o produto Meloxicam Solução Oral foi eficaz em inibir a cicloxigenase 2 (COX-2) por meio da redução na concentração de PGE₂ circulante (Figura 4) e em contrapartida, a concentração de TXB₂ não foi afetada, sendo desta forma mantido o efeito anti-inflamatório do Meloxicam Solução Oral sem promover a supressão de expressão constitutiva da COX-1 (Figura 5).

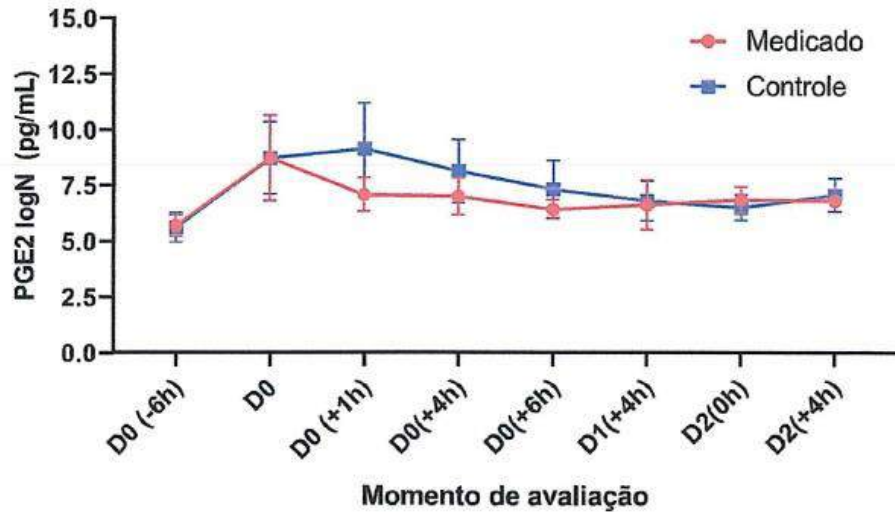


Fig.4 Concentração média de prostaglandina (PGE₂) de acordo com os grupos Controle e Medicado em relação ao momento da avaliação.

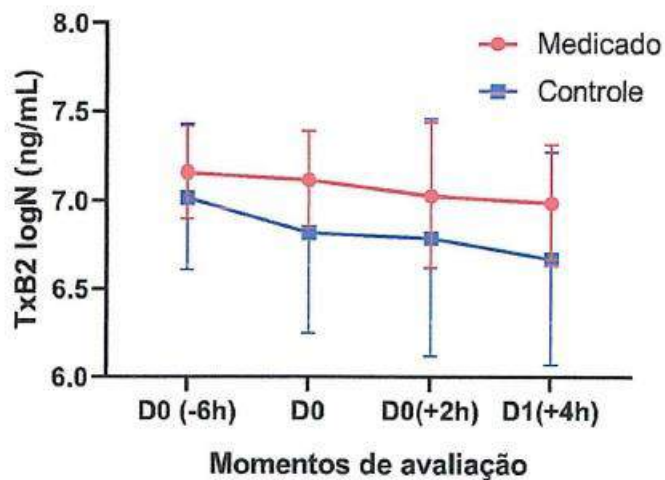


Fig.5 Concentração média de tromboxanos (TXB₂) de acordo com os grupos Controle e Medicado em relação ao momento da avaliação.



Quando avaliada a porcentagem de inibição da COX-2, na primeira 1 hora após a administração da 1ª dose do Meloxicam Solução Oral, ou seja, 7 horas após a indução do processo inflamatório, observou-se a inibição da COX-2 a partir desse momento, condição observada ao longo dos momentos de avaliações subsequentes. Também sendo demonstrado que com o aumento da porcentagem de inibição da COX-2, houve a redução das concentrações de PGE₂ ao longo do tempo (Figura 6).

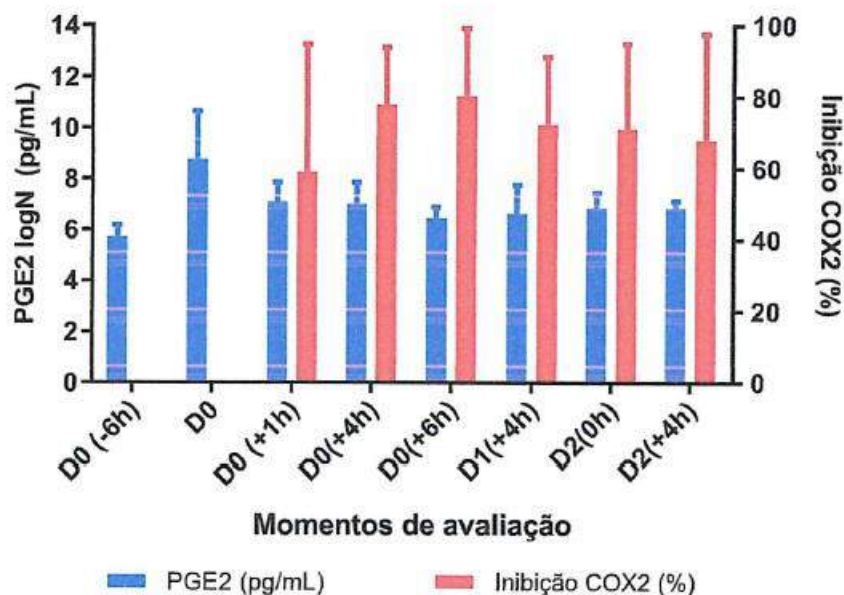


Fig.6 Concentração de prostaglandina (PGE₂) e porcentagem (%) de inibição de cicloxigenase- 2 (COX-2) para o grupo Medicado em relação ao momento da avaliação.



Conclusão

Frente aos resultados obtidos, é possível concluir que o produto Maxicam Solução Oral (composto por Meloxicam 0,1%), quando administrado por via oral, na dose de 0,2 mg/kg de peso vivo no primeiro dia de administração, seguida por uma dose de 0,1 mg/kg de peso vivo do 2º ao 4º dia de administração, 1 vez ao dia (a cada 24 horas), em cães adultos, submetidos à indução da inflamação experimentalmente com Caulim, desenvolveram sinais esperados para a avaliação da resposta anti-inflamatória do produto.

-Houve a redução da claudicação em movimento, claudicação em estação e dor secundária à pressão digital nos animais medicados;

-Houve redução da concentração de PGE₂ a partir de 1 hora após a administração da 1ª dose de tratamento com o Meloxicam Solução Oral;

-Não foram observadas alterações clínicas sistêmicas atribuídas à administração do Meloxicam Solução Oral.

Referências Bibliográficas

BONNEAU, S., NAJBAR, W.A., SANQUER, H., EUN,D., GROUSSON & L. MAYNARD. Analgetic efficacy of nimesulide in a canine osteoarthritic model. *Révue de Médecine Vétérinaire*, v.156, p.179-181, 2005.

GIRAUDEL, J.M.; DIQUELOU, A.; LAROUT, V; LEES, P.; TOUTAIN, P.L.; Development and validation of a new model of inflammation in the cat and selection of surrogate and points for testing anti-inflammatory drugs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v.28, p.275-285, 2005a.



GIRAUDEL, J.M.; DIQUELOU, A.; LAROUT, V; LEES, P.; TOUTAIN, P.L.; Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling of NSAIDs in a model of reversible inflammation in the cat. British Journal of pharmacology, v.146, p.642-653, 2005b