



## Efeitos da suplementação com nutracêuticos sobre a calcificação de discos intervertebrais em cães da raça Dachshund

[*Effects of supplementation on intervertebral discs calcification in Dachshund dogs*]

### "Artigo Científico/Scientific Article"

Eduardo Alberto **Tudury**<sup>1</sup>, Durval **Baraúna Júnior**<sup>2</sup>, Ieverton Cleiton Correia **Silva**<sup>1</sup>, Sabrina Cândido **Trajano**<sup>1</sup>, Marília Albuquerque **Bonelli**<sup>1</sup>, Thaiza Helena Tavares **Fernandes**<sup>1</sup>, Cássia Regina Oliveira **Santos**<sup>2</sup>, Juliana Karla **Bezerra**<sup>3</sup>, Nadyne Lorryne Farias Cardoso **Rocha**<sup>1</sup>, Fabiano Séllos **Costa**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina-PE, Brasil.

<sup>3</sup>Médica-veterinária autônoma.

\*Autora para correspondência/Corresponding author. E-mail: [satrajano@yahoo.com](mailto:satrajano@yahoo.com)

### Resumo

O objetivo do presente estudo foi comparar o número de discos intervertebrais da coluna toracolombar mineralizados em cães jovens da raça Dachshund, que receberam ou não suplementação com sulfatos de condroitina, glicosaminoglicanos e manganês. Vinte filhotes de quatro meses de idade foram divididos em dois grupos de dez, sendo a seguir submetidos a dois protocolos de tratamento durante 240 dias. Grupo nutracêutico (GN) recebeu um tablete, ao dia, por via oral, contendo nutracêuticos e excipientes. Grupo controle (GC) recebeu um tablete, ao dia, por via oral, contendo os mesmos excipientes do GN. Imagens tomográficas foram obtidas nos momentos zero e após oito meses de tratamento. O percentual de animais classificados com mineralização foi mais elevado no GC quando comparados com GN (64,3% x 44,3%), diferença esta que para a margem de erro fixada (5%) se mostra significativa entre os grupos em relação à presença de mineralização ( $p < 0,05$  risco relativo igual a 1,45 com intervalo que exclui o valor 1,00). No GN as maiores frequências de mineralização ocorreram no disco intervertebral T<sub>09-10</sub> (70,0%), T<sub>11-12</sub> e T<sub>13-L1</sub> (50,0%) e, no GC, T<sub>09-10</sub> (90,0%) e T<sub>10-11</sub> (80,0%). Pode-se concluir que a administração da associação de manganês, sulfatos de condroitina e glicosamina, durante o primeiro ano de vida, em cães da raça Dachshund Miniatura, diminuiu o número de mineralizações discais na coluna toracolombar.

Palavras-chave: mineralização; cães condrodistrófico; condroprotetor; glicanosnutracêuticos.

### Abstract

The objective of this study was to compare the number of mineralized intervertebral discs in the thoracolumbar spine in young Miniature Dachshund dogs, with or without supplementation with chondroitin sulfates, glycosaminoglycans, and manganese. Twenty four-month-old puppies were divided into two groups of ten and submitted to two treatment protocols for 240 days. These groups were called Nutraceutical Group (GN), which received one tablet a day, orally, containing nutraceuticals and excipients, and Control Group (CG), which received one tablet a day, orally, containing only GN excipients. Tomographic images were obtained at moments zero and after eight months of treatment. The percentage of animals classified with mineralization was higher in the CG when compared to the GN (64.3% x 44.3%), a difference that for the fixed margin of error (5%) was significant between the groups in relation to presence of mineralization ( $p < 0.05$  relative risk equal to 1.45 with an interval that excludes the value of 1.00). In the GN, the highest frequencies of mineralization occurred in the T<sub>09-10</sub> (70.0%), T<sub>11-12</sub>, and T<sub>13-L1</sub> (50.0%) intervertebral discs, and in the GC, in the T<sub>09-10</sub> (90.0%) and T<sub>10-11</sub> (80.0%) intervertebral discs. It can be concluded that administration of the association of manganese, chondroitin sulfates and glucosamine, from four to twelve months of age, in

Recebido 22 de maio de 2020. Aceito 25 de fevereiro de 2022.

DOI: <https://doi.org/10.26605/medvet-v16n1-3522>

Miniature Dachshund dogs, decreased the number of disc mineralizations in the intervertebral discs located between the T9-L3 segments of the vertebral column.

**Keywords:** Mineralization; chondrodystrophic dogs; chondrodystrophic; glycosaminoglycans.

## Introdução

Em cães condrodistróficos, a extrusão aguda do disco intervertebral (DIV) é frequentemente mineralizada (Gavin e Levine, 2015). Hansen (1952) descreveu dois diferentes tipos de doença do disco intervertebral (DDIV) em cães. A primeira, Hansen tipo I, caracteriza-se por mudanças degenerativas condroides do disco com a subsequente calcificação distrófica do núcleo. A segunda, Hansen tipo II, ocorre uma protrusão do DIV. Recentemente, uma atualização da nomenclatura foi proposta. Estando assim descritas Hansen tipo I/agudo ou extrusão do DIV, Hansen Tipo II/crônica ou protrusão do DIV, extrusão aguda do DIV (Hansen Tipo I) com extensa epidural hemorragia, extrusão aguda não compressiva do núcleo pulposo (NP), extrusão de núcleo pulposo hidratado, extrusão do DIV intradural/intramedular, extrusão do DIV traumática, mielopatia por embolia fibrocartilaginosa (Fenn e Olby, 2020).

Em cães da raça Dachshund, a metaplasia condroide ocorre muito rapidamente, provavelmente por um fator genético (Batcher et al., 2019), iniciando quando os cães são filhotes e os DIV podem tornar-se completamente degenerados entre os 12 e 18 meses de idade.

A degeneração do DIV é caracterizada por alterações da composição bioquímica e na integridade mecânica do DIV, apresentando teor de glicosaminoglicanos (GAGs) diminuído e aumento da quantidade de colágeno desnaturado. A desidratação e a compressão axial levam à ruptura do anel fibroso (AF) e/ou extrusões (Bergknut et al., 2013; Bach et al., 2014). O número de DIV mineralizados em Dachshund parece ser um bom preditor de doença do disco intervertebral (DDIV) (Jensen et al., 2008; Lappalainen et al., 2014). A extrusão raramente ocorre em cães sem mineralização de DIV enquanto que os animais com várias mineralizações tem alto risco (Stigen, 1996).

A água é o principal componente do núcleo pulposo, perfazendo 80% a 88% de seu conteúdo. Os metabólitos (água, solutos, glicosaminoglicanos, proteínas e colágenos) são transportados para dentro do DIV através de duas rotas vasculares, a periferia do anel fibroso e a parte

central da placa cartilaginosa terminal. Para os pequenos compostos sem carga, as duas rotas são igualmente importantes. A placa cartilaginosa terminal está frequentemente envolvida na nutrição do disco intervertebral por difusão de nutrientes em sua superfície. Para cátions, a rota via placa cartilaginosa terminal é mais efetiva. A permeabilidade da placa cartilaginosa terminal é maior na região do núcleo e mais baixa na região externa do anel. Os GAGs presentes fornecem carga negativa que determina a concentração de solutos iônicos. A taxa do fluxo através da matriz do DIV é regulada pelo coeficiente de permeabilidade hidráulica, o coeficiente de difusão e o tamanho dos poros criados pela cadeia de GAGs na matriz extracelular (Coates, 2000).

As lamelas anulares contêm fibras de colágeno do tipo I e II que compreendem 40-60% do peso seco do anel externo e 25-40% do anel interno. Essas fibras são radialmente distribuídas em gradientes opostos da periferia do DIV para o NP com a concentração de colágeno do tipo I maiores no AF externo, enquanto o colágeno tipo II predomina no NP (Innes e Melrose, 2015). O NP é normalmente bem hidratado, contém os GAGs, como o sulfato de condroitina (SC) e sulfato de queratano, apresentando matriz de colágeno tipo IV disperso (Kerwin et al., 2012). Em um estudo realizado em Beagles, foi observado que com o envelhecimento e a degeneração, os proteoglicanos do DIV sofreram aumento da degradação com predomínio do sulfato de queratano, particularmente no AF, em relação aos proteoglicanos presentes nos Beagles jovens (Cole et al., 1986).

Nutracêuticos são alimentos ou parte de alimentos que são fornecidos numa forma purificada ou extraída e administradas por via oral para fornecer benefícios médicos ou de saúde para a estrutura e função corporal normal. Agentes condroprotetores parecem ter a capacidade de atuar na cartilagem articular e regular a síntese de colágeno e proteoglicanos e de diminuir o catabolismo por meio da inibição de enzimas de degradação, incluindo as metaloproteinases, proteases séricas e radicais livres (Hungenholtz e Smid, 2002; Vandeweerdt et al., 2012), entretanto há controvérsias sobre a ocorrência desses

mecanismos no disco intervertebral (Jacobs et al., 2013; Sodha et al., 2013; Sowa et al., 2015).

Em uma meta-análise publicada em 2007 com ensaios metodologicamente sólidos, foi constatado que o benefício sintomático de condroitina é mínimo ou inexistente, e seu uso na prática clínica de rotina deveria ser desencorajado (Reichenbanch et al., 2007). Da mesma forma, no Guideline mais recente do Colégio Americano de Reumatologia para o manejo da osteoartrite em humanos, o uso destas substâncias foi contraindicado. Em contrapartida, McCarthy et al. (2007) demonstraram em um estudo randomizado duplo cego, com controle positivo, que cloridrato de glicosamina e sulfato de condroitina apresentaram efeito clínico positivo em cães com artrite após 70 dias de tratamento.

Nos estágios iniciais da degeneração do DIV, quando a degeneração está mais confinada ao NP, o restabelecimento da sua função normal ou a desaceleração do processo degenerativo (colapso da matriz), por meio da utilização de nutracêuticos, pode ser uma possibilidade atrativa e racional (Van Blitterswijk et al., 2003). Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar se em cães da raça Dachshund, a suplementação com sulfato de condroitina, GAGs, manganês, enxofre e metionina, dos quatro aos 12 meses de idade, previne a degeneração e mineralização do DIV.

## Material e Métodos

Vinte filhotes de cães da raça Dachshund com quatro meses de idade, adquiridos em diferentes provedores, foram mantidos durante oito meses em canis com acesso à luz natural, recebendo água e alimento balanceado (Premier Fórmula – Raças pequenas filhotes – PremierPet®) para cães. Vale ressaltar que ao final da pesquisa os 20 animais foram doados para tutores. A alimentação foi fornecida para manter o escore de condição corporal cinco de uma escala de nove pontos empregada para avaliação nutricional de cães e gatos, sendo o cinco considerado condição ideal (Laflamme, 1997). Os cães foram divididos de forma não randomizada em dois grupos de 10 cães cada, evitando-se a alocação de irmãos nos mesmos grupos e procurando manter o mesmo número de machos e fêmeas em cada grupo. A seguir os animais foram submetidos a dois protocolos de tratamento, durante 240 dias da seguinte forma:

Grupo nutracêutico (GN) – administração de um tablete de 2 gramas, ao dia, por via oral,

contendo sulfato de condroitina (mínimo 216 g/kg), sulfato de glicosamina (mínimo 314 g/kg), manganês (mínimo 2.100 mg/kg), enxofre (mínimo 20 g/kg), DL-metionina (mínimo 20g/kg) e excipientes semelhantes ao Grupo controle.

Grupo controle (GC) – administração de um tablete de 2 gramas, ao dia, por via oral, contendo os excipientes maltodextrina 48%, celulose microcristalina 22%, fosfato bicálcio, CMC 2%, milho gelatinizado 13%, aroma leite 2,0%.

A administração da medicação foi realizada de maneira cega, pois o pesquisador que suplementava os animais não tinha a informação sobre a composição do tablete.

Os exames de tomografia computadorizada (TC) da coluna vertebral foram realizados no momento inicial (MI) aos quatro meses de idade e correspondeu ao primeiro dia do experimento e no momento final (MF) aos 12 meses de idade, totalizando 240 dias de experimento. Para realização dos exames de TC, os cães foram submetidos a jejum alimentar de doze horas e hídrico de duas horas. Estabeleceu-se acesso venoso e fluidoterapia com solução fisiológica 10 mL/kg<sup>1</sup>/h<sup>1</sup> e indução com propofol na dose de 4 mg/kg<sup>1</sup> de peso, sendo entubados e mantidos com anestesia inalatória com isoflurano diluído em oxigênio a 100%.

Antes da obtenção das imagens, o aparelho foi devidamente calibrado para melhor padronização dos dados. As imagens coletadas foram obtidas com os animais posicionados em decúbito esternal. Utilizou-se equipamento de TC helicoidal (GE Hi-Speed FXI – General Eletrics, 06828-0001, Fairfield, Connecticut - single slice), com fator de exposição de radiação pré-determinado em 120 mA e 120 kVp, com filtro leve e pitch de 1.0 mm. Inicialmente foi feito o *scout* para visualização do correto posicionamento e determinação do tamanho da área da coluna vertebral (torácica nove a lombar três) a serem avaliadas, ou seja, o campo de visão, para então dar início ao escanograma com cortes transversais de 1 mm de espessura por 1 mm de intervalo (1x1). As imagens foram reconstruídas com cortes sagitais e transversais em janela óssea (WW 3500, WL 800). As imagens tomográficas foram avaliadas com auxílio de programa de diagnóstico por imagem digital para tratamento de imagens médicas (Osirix MD – Osirix Imaging Software – Genebra, Suíça).

Após a reconstrução sagital e transversal das imagens, procedeu-se à identificação dos DIV mineralizados, em cada um dos DIV presentes nos

espaços entre as vértebras T<sub>9</sub> a L<sub>3</sub>. As imagens foram analisadas de maneira subjetiva por três observadores, e considerou-se como resultado a maior concordância entre eles. Os pesquisadores que realizaram a tomografia computadorizada e avaliação das imagens não tinham ciência sobre o grupo de tratamento ao qual os animais pertenciam.

Os resultados foram analisados descritivamente através de frequências absolutas e percentuais para a variável categórica mineralização. Realizou-se o teste Qui-quadrado com obtenção do risco relativo e intervalo de confiança para a mineralização. A margem de erro utilizada nas decisões dos testes estatísticos foi de 5% e os intervalos foram obtidos com 95,0% de confiança. Os dados foram tabulados em planilha eletrônica (Microsoft Office Excel<sup>®</sup>) e o programa utilizado para obtenção dos cálculos estatísticos foi

o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 21.

## Resultados

Na avaliação tomográfica realizada aos quatro meses de idade (MI), nenhum dos 70 DIV avaliados nos 10 animais de cada grupo apresentou mineralização. Na Tabela 1 estão dispostos os resultados da avaliação da mineralização do DIV na TC realizada aos 12 meses de idade (MF) para GN e GC. Nela se verifica o percentual de animais classificados com mineralização, que foi mais elevado no grupo controle do que no grupo nutracêutico (64,3% x 44,3%), diferença esta que para a margem de erro fixada (5%) se mostrou significativa entre os grupos em relação à presença de mineralização ( $p < 0,05$ , risco relativo igual a 1,45 com intervalo que exclui o valor 1,00).

**Tabela 1.** Resultados da quantificação da mineralização discal final em cães da raça Dachshund Miniatura após 240 dias, segundo o grupo nutracêutico x grupo controle.

Grupo	Mineralização				TOTAL		Valor de p	RR (IC 95%)
	Sim		Não		n	%		
	n	%	n	%				
Nutracêutico	31	44,3	39	55,7	70	100,0	$p^{(1)} = 0,018^*$	1,00
Controle	45	64,3	25	35,7	70	100,0		1,45 (1,07 a 1,99)

(\*): Diferença significativa nível de 5%; (1): Teste Qui-quadrado de Pearson; RR = risco relativo; n= número.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados de mineralização na avaliação final por DIV e grupos; pode ser observado que as frequências de cada DIV com mineralização variaram de duas (20,0%) a sete (70,0%) amostras positivas no GN e de cinco (50,0%) a nove (90,0%) no GC; em cada disco a frequência com mineralização foi igual ou superior no grupo controle. No GN as maiores frequências com mineralização ocorreram nos DIV T<sub>09/10</sub> (70,0%), T<sub>11/12</sub> (50,0%) e T<sub>13/L1</sub> (50,0%) e, no GC, as maiores frequências ocorreram nos DIV T<sub>09/10</sub> (90,0%) e T<sub>10/11</sub> (80,0%).

## Discussão

Os resultados obtidos com a suplementação demonstraram uma menor frequência de mineralização dos discos intervertebrais, o que reforça a importância de mais estudos acerca do uso de SC, GAGs, manganês, enxofre e metionina na prevenção da degeneração e mineralização.

A raça Dachshund foi escolhida para este estudo por apresentar 10 a 12,6 vezes mais risco de desenvolver DDIV que todas as outras raças, como relatou Braund (1996). Além disso, a variedade Miniatura foi escolhida, pois, segundo Smolders et

al. (2013) são mais frequentemente afetados pela extrusão de DIV do que os Standard.

Os estudos radiológicos detectam cerca de 20 a 40% das mineralizações de DIV realmente existentes que podem ser identificadas pelo exame histopatológico. Já a TC, por ser um método mais sensível, pode detectar DIV com menor grau de mineralização, não visíveis na radiografia. No presente trabalho, a TC foi utilizada para identificar DIV degenerados (mineralizados) sem extrusão. Desta forma, a TC demonstrou ser um meio diagnóstico adequado, além de apresentar vantagens relatadas por Olby et al. (2000), como menor tempo necessário para realização do exame, evitando efeitos indesejáveis associados à mielografia, ter a capacidade de determinar a lateralização do material do DIV, bem como de identificar mineralizações iniciais que possivelmente não seriam visualizadas no exame radiográfico.

O DIV de raças condrodistróficas sofre metamorfose condroide a partir de dois meses de idade, que se apresenta completa com um ano de idade (Coates, 2000), período este no qual cerca de 75 a 90% de seu NP transforma-se em um tecido

mais cartilaginoso (Brisson, 2010). No presente estudo, a suplementação iniciou-se aos quatro meses de idade, sendo assim existe a possibilidade de alguns animais já apresentarem o processo de

degeneração inicial ainda não visualizada na TC, por esta razão, a suplementação com condroprotetores mais precocemente (dois meses) pode ser uma alternativa a ser considerada.

**Tabela 2.** Avaliação da mineralização final por disco intervertebral segundo o grupo nutracêutico (GN) x grupo controle (GC).

Disco	Grupo	Mineralização				TOTAL	
		Sim	Não				
		n	%	n	%	n	%
1 – T <sub>9/10</sub>	GN	7	70,0	3	30,0	10	100,0
	GC	9	90,0	1	10,0	10	100,0
2 – T <sub>10/11</sub>	GN	4	40,0	6	60,0	10	100,0
	GC	8	80,0	2	20,0	10	100,0
3 – T <sub>11/12</sub>	GN	5	50,0	5	50,0	10	100,0
	GC	6	60,0	4	40,0	10	100,0
4 – T <sub>12/13</sub>	GN	4	40,0	6	60,0	10	100,0
	GC	6	60,0	4	40,0	10	100,0
5 – T <sub>13/L1</sub>	GN	5	50,0	5	50,0	10	100,0
	GC	5	50,0	5	50,0	10	100,0
6 – L <sub>1/2</sub>	GN	2	20,0	8	80,0	10	100,0
	GC	5	50,0	5	50,0	10	100,0
7 – L <sub>2/3</sub>	GN	4	40,0	6	60,0	10	100,0
	GC	6	60,0	4	40,0	10	100,0
Todos os discos	GN	31	44,3	39	55,7	10	100,0
	GC	45	64,3	25	35,7	10	100,0

n= número.

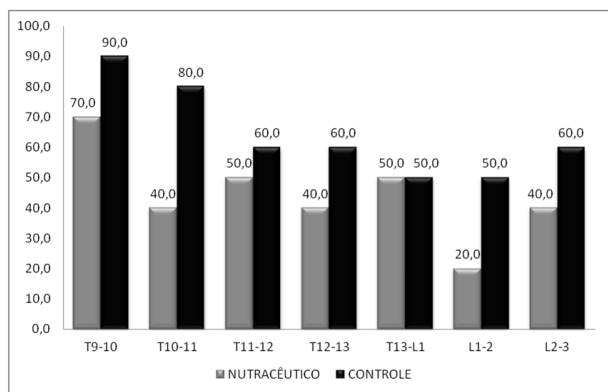
A extrusão de DIV é mais comum entre as vértebras T<sub>12-13</sub> e T<sub>13-L1</sub> (Brisson, 2010), ao passo que Lim et al. (2010) encontraram uma maior frequência entre os espaços T<sub>13-L1</sub> e T<sub>12-13</sub>. A mineralização é um fator preditor para a ocorrência de futura extrusão, podendo ocorrer em qualquer disco, mas é mais frequente na região toracolombar. Hansen (1952) encontrou uma maior frequência de DIV mineralizados em T<sub>13-L1</sub> e T<sub>12-13</sub>, enquanto Rohdin et al. (2010), relataram um maior achado em T<sub>11-12</sub> e T<sub>12-13</sub> e Jensen e Arnbjerg (2001) em T<sub>10-11</sub> e T<sub>11-12</sub>. No presente trabalho, a maior ocorrência foi entre os espaços vertebrais T<sub>9-10</sub> e T<sub>10-11</sub> (Figura 1 e Tabela 2), mas deve-se considerar que a tomografia computadorizada é mais precisa que a radiografia que foi usada pelos pesquisadores citados, pois permite melhor identificação da mineralização. Além disso, em tais estudos outras raças além do Dachshund foram avaliadas.

A perda de GAGs nos discos coincide com a alteração do conteúdo de colágeno e a diminuição de água, transformando o NP gelatinoso em cartilagem hialina (Brisson, 2010). A calcificação distrófica é dependente da concentração de Ca<sup>2+</sup> e do PO<sup>4</sup> nos espaços extracelulares, da presença de inibidores do mineral e do grau de colagenização, o qual aumenta a taxa de deposição do fosfato de cálcio cristalino (Kumar et al., 2008). Assim, a

terapia proposta com nutracêuticos visa, da mesma forma que no tratamento da osteoartrite, estimular a produção da matriz, inibir a degradação e inibir enzimas destrutivas (colagenases, metaloproteinases e outras proteases), provavelmente ocorrido nesta pesquisa tendo em vista que os animais tratados apresentaram menos DIV mineralizados.

Segundo Van Blitterswijk et al. (2003), glicosamina e SC oral podem passar pela via gastrointestinal e de fato atingir a cartilagem articular, provavelmente também discos intervertebrais, onde pode ter pelo menos um efeito condroprotetor e, muito possivelmente, um efeito regenerativo. Ao mesmo tempo, porém, é justo dizer que os detalhes bioquímicos ainda estão longe de serem compreendidos e precisam de mais investigações. Já Bali et al. (2001) consideram que, farmacocineticamente, o SC é bem estudado. A primeira evidência da presença de baixo peso molecular do sulfato de condroitina-4 no sangue após a administração em ratos foi relatada em 1978 por Hata e Nagai. A administração oral gerou um aumento rápido na concentração no sangue, seguido de um platô na décima quarta hora (em ratos) e vigésima oitava hora (em cães). Mais de 30% do composto foi excretado inalterado na urina e 30% nas fezes, mostrando boa absorção intestinal. O SC exibe um tropismo seletivo para

tecidos ricos em GAGs, tais como os olhos, a cartilagem articular, os discos intervertebrais e as epífises vertebrais correspondentes. Análises do peso molecular de material radioativo mostraram que, quando utilizados os compostos com massa molecular relativa correspondente aos do SC polissacarídeos, oligossacarídeos e monossacarídeos, pelo menos, 10% da radioatividade total injetada foi encontrada como proteoglicanos de elevado peso molecular.



**Figura 1.** Avaliação da mineralização entre os espaços vertebrais no grupo nutracêutico (GN) x grupo controle (GC).

O declínio de proteoglicanos de DIV degenerados reflete um desequilíbrio no catabolismo e anabolismo normal dos componentes da matriz extracelular. Isso fornece duas categorias de alvo biológico para prevenção ou tratamento do DDIV, que seriam o aumento das funções anabólicas das células do NP e inibição do catabolismo na matriz extracelular. O uso de inibidores desses fatores catabólicos poderia fornecer uma via adicional para alterar o curso da degeneração do DIV (Chadderdon et al., 2004). A glicosamina e o sulfato de condroitina podem estimular a biossíntese e inibir a degradação de proteoglicanos na cartilagem degenerada (Van Blitterswijk et al., 2003; Raj, 2008). Acredita-se que os resultados alcançados nesse trabalho sejam decorrentes desses efeitos terapêuticos dos condroprotetores. Entretanto há poucos estudos sobre este mecanismo, bem como resultados controversos sobre a administração deste nutracêutico. Em um estudo em coelhos que receberam suplementação de glicosaminoglicanas por via oral, a concentração média de GAGs dentro do NP foi de 2,26µg/g de tecido no grupo tratado, em comparação com 0,052µg/g no grupo controle, demonstrando a biodisponibilidade intradiscal de sulfato de glicosamina por via oral, contudo, na

avaliação por ressonância magnética, histologia do disco, quantificação de glicosaminoglicanas e expressão gênica, houve piora da saúde do DIV (Jacobs et al., 2013). Resultados similares foram observados em um experimento *in vitro* com células do disco intervertebral de coelhos (Sowa et al., 2015).

Vários estudos têm sido conduzidos com a glicosamina e SC para osteoartrite articular, porém geralmente foram exagerados pelo viés de publicação. Há, no entanto, evidências de que a glicosamina e o SC aumentam sinergicamente o efeito da resposta de reparo hipermetabólico natural dos condrócitos e retardam a degradação enzimática da cartilagem. Injeções intradiscas restauradoras de glicosamina e condroitina com DMSO (dimetilsulfóxido) e dextrose hipertônica quando comparadas a terapia eletrotérmica discal (IDET), promoveram uma resposta reparadora no DIV. A eficácia clínica foi semelhante à dos procedimentos IDET, mas com uma melhor relação custo-benefício. Há necessidade de estudos comparativos randomizados controlados para estabelecer a eficácia das injeções intradiscas de glicosamina e SC (Raj, 2008). Considerando que no presente estudo observou-se menor quantidade de DIV mineralizados, acredita-se que a terapia oral com nutracêuticos poderia ter efeitos benéficos na redução da degeneração do DIV.

Apesar de ser relatado que o desaparecimento de mineralização do NP pode ocorrer sem sinais de extrusão, possivelmente resultado da degeneração progressiva do DIV, em vez de regeneração do DIV (Brisson, 2010), não se acredita que tenha acontecido desta forma nos resultados desse trabalho em função da idade precoce, pois em trabalho realizado por Jensen e Arnbjerg (2001), este fenômeno de dissolução de discos previamente mineralizados não ocorreu em nenhum cão dos seis aos 12 meses de idade, o que fortalece a ideia de que o desaparecimento de mineralização não causou efeito positivo diferencial no GN, quando comparado ao GC.

Em estudo experimental foi constatado que administração de glicosaminoglicanos em coelhos apresentou um efeito negativo na matriz do disco intervertebral (Jacobs et al., 2013). Nesse estudo observou-se que mesmo em baixa concentração, o uso de glicosaminoglicano poderia reduzir a degeneração do DIV, mas ainda assim a posologia é uma preocupação, já que, na maioria das vezes, a escolha da dose ocorre de forma empírica e não com base em resultados farmacocinéticos e de

eficácia. As doses utilizadas *in vitro* são maiores e administradas por mais tempo do que as usadas em ensaios clínicos. Isso contribui para explicar a contradição existente na literatura sobre a eficácia clínica de suplementos alimentares (Comblain et al., 2015).

As doses dos nutracêuticos são baseadas nas recomendações do fabricante. Existem poucos estudos sobre a eficácia ou sobre doses para determinar o uso eficiente. As doses são recomendações gerais e variam de acordo com os produtos. Doses de 22 a 44 mg/kg de glicosamina, por via oral dia (Papich, 2009) e de 13 a 30 mg/kg de SC, por via oral (Plumb, 2008) têm sido recomendadas. McCarthy et al. (2007) utilizaram uma formulação comercial de glicosamina, SC e associações em cães com osteoartrite, obtendo resultados positivos, seguindo a posologia recomendada pelo fabricante, com 1g de ingrediente ativo duas vezes por dia para cães pesando 5-19,9 kg, corroborando a escolha utilizada neste experimento; assim devido à variedade de formulações, acredita-se que a melhor opção para a escolha da posologia é seguir a recomendação do fabricante.

O início de qualquer eficácia clínica pode necessitar de duas a seis semanas de tratamento (Plumb, 2008). Acredita-se que o tempo de suplementação é um fator limitante no aparecimento dos efeitos benéficos dos condroprotetores; os resultados positivos apresentados no GN, com oito meses de suplementação, corroboram Martel-Pelletier et al. (2010), quando chamam atenção para que o tratamento com SC, seja prolongado e contínuo por três a seis meses ou mais de acordo com Lee et al. (2010), que em uma meta-análise chegaram a conclusão que o sulfato de glicosamina e condroitina podem retardar a progressão radiográfica natural da osteoartrite no joelho de seres humanos quando utilizados por períodos de dois a três anos.

Segundo Stuber et al. (2011) e Sodha et al. (2013), em uma revisão sistemática da literatura, poucos artigos foram encontrados para apoiar o uso de nutracêuticos comuns para a degeneração da coluna vertebral, o que torna difícil determinar se os médicos devem recomendar estes produtos, além disso, mais pesquisas são necessárias para esclarecer se esses suplementos apresentam benefícios potenciais para pacientes com doenças degenerativas da coluna vertebral. A pesquisa ora apresentada contempla parte desta lacuna,

ressaltando que novos estudos devem ser conduzidos com outras formulações, outros fabricantes e diferentes regimes terapêuticos.

Novos tratamentos para degeneração do DIV, como terapias gênicas (Cassinelli et al., 2001; Chadderdon et al., 2004), terapias baseadas em células mesenquimais, da notocorda e de condrócitos (Bach et al., 2014), regeneração da placa terminal, aumento do núcleo pulposo com injeção de biomateriais, implante de disco e administração oral de SC e glicosamina para aumentar a síntese de proteoglicanos (Raj, 2008) têm sido propostas. No presente estudo, a administração oral de nutracêuticos foi de fácil aplicação e dispensou procedimentos invasivos.

### Conclusão

Este estudo assinala que a administração da associação entre manganês, sulfatos de condroitina, glicosamina, enxofre e metionina, dos quatro aos doze meses de idade, a cães da raça Dachshund Miniatura, diminuiu o número de DIV mineralizados avaliados por tomografia computadorizada localizados entre os segmentos T<sub>9</sub>-L<sub>3</sub> da coluna vertebral.

### Conflito de Interesse

Os autores declaram não existir conflito de interesse.

### Comitê de Ética

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco com o N° 001/2015.

### Referências

- Bach, F.C.; Willems, N.; Penning, L.C.; Ito, K.; Meij, B.P.; Tryfonidou, M.A. Potential regenerative treatment strategies for intervertebral disc degeneration in dogs. **BMC Veterinary Research**, 10(3): 1-12, 2014.
- Bali, J-P.; Cousse, H.; Euzil, E. Biochemical basis of the pharmacologic action of chondroitin sulfates on the osteoarticular system. **Seminars in Arthritis Rheumatism**, 31 (1):58-68, 2001.
- Batcher, K.; Dickinson, P.; Giuffrida, M.; Sturges, B.; Vernau, K.; Knipe, M.; Rasouina, S.H.; Dröger Müller, C.; Leeb, T.; Maciejczyk, K.; Jenkins, C.A.; Mellersh, C.; Bannasch, D. Phenotypic effects of FGF4 retrogenes on intervertebral disc disease in dogs. **Genes**, 10(6): 435, 2019.

- Bergknut, N.; Meij, B.P.; Hagman, R.; De Nies, K.S.; Rutges, J.P.; Smolders, L.A.; Creemers, L.B.; Lagerstedt, A.S.; Hazewinkel, H.A.; Grinwis, G.C. Intervertebral disc disease in dogs - part 1: a new histological grading scheme for classification of intervertebral disc degeneration in dogs. **Veterinary Journal**, 195(2): 156-63, 2013.
- Braund, K.G. Moléstia do disco intervertebral. In: Bojrab, M.J. **Mecanismos da moléstia na cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1996. p.1104-1116.
- Brisson, B.A. Intervertebral disc disease in dogs. **Veterinary Clinics of North Small Animal Practice**, 40(5): 829-858, 2010.
- Cassinelli, E.H.; Hall, R.A.; Kang, J.D. Biochemistry of intervertebral disc degeneration and potential for gene therapy applications. **The Spinal Journal**, 1(3): 205-214, 2001.
- Chadderdon, R.C.; Shimer, A.L.; Gilbertson, L.G.; Kang, J.D. Advances in gene therapy for intervertebral disc degeneration. **The Spinal Journal**, 4(6): 341-347, 2004.
- Coates, J.R. Intervertebral disk disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 30(1): 77-110, 2000.
- Cole, T.C.; Ghosh, P.; Taylor, T.K.F. Variations of the proteoglycans of the canine intervertebral disc with ageing. **Biochimica et Biophysica Acta**, 880: 209-219, 1986.
- Comblain, F.; Serisier, S.; Barthelemy, N.; Balligand, M.; Henrotin, Y. Review of dietary supplements for the management of osteoarthritis in dogs in studies from 2004 to 2014. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, 3(1): 1-15, 2015.
- Fenn, J.; Olby, N.J.; Canine Spinal Cord Injury Consortium (CANSORT-SCI). Classification of intervertebral disc disease. **Frontiers in Veterinary Science**, 7: 1-17, 2020.
- Gavin, P.R.; Levine, J.M. Advances in imaging for intervertebral disc disease. In: Fingerroth, J.; Thomas, W. **Advances in intervertebral disc disease in dogs and cats**. Iowa: Wiley Blackwell, 2015. p.135-46.
- Hansen, H.J. A pathologic-anatomical study on disc degeneration in dog, with special reference to the so-called enchondrosis intervertebralis. **Acta Orthopaedica Scandinavica Supplementum**, 11: 1-117, 1952.
- Hata, R.I.; Nagai, Y. A low-sulfated chondroitin sulfate in rat blood: An acidic glycosaminoglycan with a high metabolic rate. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, 543(2): 149-155, 1978.
- Hungenholtz, J.; Smid, E.J. Nutraceutical production with food-grade microorganisms. **Current Opinion in Biotechnology**, 13(5): 497-507, 2002.
- Innes, J.F.; Melrose, J. Embryology, Innervation, Morphology, Structure, and Function of the Canine Intervertebral Disc. In: Fingerroth, J.; Thomas, W. **Advances in intervertebral disc disease in dogs and cats**. Iowa: Wiley Blackwell, 2015. p. 3-7.
- Jacobs, L.; Vo, N.; Coelho, J.P.; Dong, Q.; Bechara, B.; Woods, B.; Hempen, E.; Hartman, R.; Preuss, H.; Balk, J.; Kang, J.; Sowa, G. Glucosamine supplementation demonstrates a negative effect on intervertebral disc matrix in an animal model of disc degeneration. **The Spine Journal**, 38(12): 984-90, 2013.
- Jensen, V.; Arnbjerg, J. Development of intervertebral disk calcification in the Dachshund: a prospective longitudinal radiographic study. **Journal of the American Animal Hospital Association**, 37(3): 274-282, 2001.
- Jensen, V.; Beck, S.; Christensen, K.; Arnbjerg, J. Quantification of the association between intervertebral disc calcification and disc herniation in Dachshund. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 233(7): 1090-95, 2008.
- Kerwin, S.C.; Levine, J.M.; Hicks, D.G. Thoracolumbar Spine. In: Tobias, K.M.; Johnston, S.A. **Veterinary Surgery Small Animal**. Louis Missouri: Elsevier Saunders, 2012. p. 449-475.
- Kumar, V.; Abbas, A.K.; Fausto, N.; Mitchell, R.N. Lesão celular, morte celular e adaptações. : \_\_\_\_\_. **Robbins patologia básica**. Rio de Janeiro: Elsevier Saunders, 2008. p.1-32.
- Laflamme, D.P. Development and validation of a body condition score system for dogs: a clinical tool. **Canine Practice**, 22(3): 10-15, 1997.
- Lappalainen, A.K.; Vaitinen, E.; Junnila, J.; Laitinen-Vapaavuori, O. Intervertebral disc disease in Dachshunds radiographically screened for intervertebral disc calcifications. **Acta Veterinária Scandinavica**, 56(89): 1-7, 2014.
- Lee, Y.H.; Woo, J.H.; Choi, S.J.; Song, G.G. Effect of glucosamine or chondroitin sulfate on the osteoarthritis progression: a meta-analysis.



- Rheumatology International**, 30(3): 357-63, 2010.
- Lim, C.; Kweon, O.K.; Choi, M.C.; Choi, J.; Yoon, J. Computed tomographic characteristics of acute thoracolumbar intervertebral disc disease in dogs. **Journal Veterinary Science**, 11(1): 73-77, 2010.
- Martel-Pelletier, J.; Kwan, Tat, S.; Pelletier, J.P. Effects of chondroitin sulfate in the pathophysiology of the osteoarthritic joint: a narrative review. **Osteoarthritis Cartilage**, 18(3): 7-11, 2010.
- McCarthy, G.; O'Donovan, J.; Jones, B.; Mcallister, H.; Seed, M.; Mooney, C. Randomised double-blind, positive-controlled trial to assess the efficacy of glucosamine/chondroitin sulfate for the treatment of dogs with oseoarthristis. **The Veterinary Journal**, 174(1): 54-61, 2007.
- Olby, N. J.; Munana, K.R.; Sharp, N.J.; Thrall, D.E. The computed tomographic appearance of acute thoracolumbar intervertebral disc herniations in dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, 41(5): 396-402, 2000.
- Papich, M.G. **Manual Saunders terapêutico veterinário**. 2ª ed. São Paulo: MedVet, 2009, 774p.
- Plumb, D.C. **Plumb's veterinary drug handbook**. 6<sup>th</sup> ed. Iowa: Wiley Blackwell, 2008. 1120p.
- Raj, P.P. Intervertebral dic: Anatomy-Physiology-Pathophysiology-Treatment. **Pain Practice**, 8(1): 18-44, 2008.
- Reichenbach, S.; Sterchi, R.; Scherer, M.; Trelle, S.; Burgi, E.; Burgi, U.; Diepe, P.A.; Juni, P. Meta-analysis: chondroitin for osteroarthritis of the knee or hip. **Annals of internal medicine**, 146(8): 580-90, 2007.
- Rohdin, C.; Jeserevic, J.; Viitmaa, R.; Cizinauskas, S. Prevalence of radiographic detectable intervertebral disc calcifications in Dachshunds surgically treated for disc extrusion. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 52(24): 1-7, 2010.
- Smolders, L.; Bergknut, N.; Guy, C.M.G.; Hagman, R.; Lagerstedt, A.S.; Hazewinkel, H.A.W.; Tryfonidou, M.A.; Meij, B.P. Intervertebral disc degeneration in the dog. Part 2: Chondrodystrophic and non-chondrodystrophic breeds. **The Veterinary Journal**, 195(3): 292-299, 2013.
- Sodha, R.; Sivanadarajah, N.; Alam, M. The use of glucosamine for chronic low back pain: a systematic review of randomized control trials. **Balkan Journal of Medical Genetics**, 3(6): 1-10, 2013.
- Sowa, G.; Coelho, J.P.; Jacobs, L.; Komperda, K.; Sherry, N.; Vo, N.; Preuss, H.; Balk, J.; Kang, J. The effects of glucosamine sulfate on intervertebral disc annulus fibrosus cells *in vitro*. **Spine**, 15(6): 1339-1346, 2015.
- Stigen, O. Calcification of intervertebral discs in the dachshund: a radiographic study of 115 dogs at 1 and 5 years. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 37(3): 229-37, 1996.
- Stuber, K.; Sajko, S.; Kristmanson, K. Efficacy of glucosamine, chondroitin, and methsulfonilmethane for spinal degenerative joint disease and degenerative disc disease: a systematic review. **The Journal of the Canadian Chiropratic Association**, 55(1): 47-55, 2011.
- Van Blitterswijk, W.J.; Van de Nes, J.C.M.; Wuisman, P.I.J.M. Glucosamine and chondroitin sulfate supplementation to treat symptomatic disc degeneration: Biochemical rationale and case report. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 3(2): 1-8, 2003.
- Vandeweerd, J.M.; Coisnon, C.; Clegg, P.; Cambier, C.; Pierson, A.; Hontoir, F.; Saegerman, P.; Gustin, P.; Buczinski, S. Systematic review of efficacy of nutraceuticals to alleviate clinical signs of osteoarthritis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 26(3):448-56, 2012.