

Flávia Augusta de Oliveira

Efeito antinociceptivo, gastrointestinal e na atividade locomotora espontânea da administração intravenosa de metadona em equinos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre.

Orientador:

Prof. Titular Stelio Pacca Loureiro Luna

Co-orientador:

Prof. Adjunto Francisco José Teixeira Neto

Botucatu - SP

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Oliveira, Flávia Augusta de.

Efeito antinociceptivo, gastrointestinal e na atividade locomotora espontânea da administração intravenosa de metadona em equinos / Flávia Augusta de Oliveira. - Botucatu, 2011

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011

Orientador: Stelio Pacca Loureiro Luna

Co-orientador: Francisco José Teixeira Neto

Capes: 50501011

1. Equino. 2. Analgesia. 3. Sistema gastrointestinal - Motilidade.

Palavras-chave: Analgesia; Atividade locomotora espontânea; Equinos; Metadona; Motilidade Intestinal.

Nome do autor: **FLÁVIA AUGUSTA DE OLIVEIRA**

**Título: EFEITO ANTINOCICEPTIVO, GASTROINTESTINAL E NA ATIVIDADE
LOCOMOTORA ESPONTÂNEA DA ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA DE
METADONA EM EQUINOS.**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Titular Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna
Presidente e Orientador
Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária
FMVZ – Unesp – Botucatu

Dra. Juliana Tabarelli Brondani
Membro
Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária
FMVZ – Unesp – Botucatu

Prof. Dr. Eduardo Raposo Monteiro
Membro
Departamento de Medicina Veterinária
Centro Universitário Vila Velha - UVV - Vila Velha

Data da defesa: 25 de fevereiro de 2011.

Dedicatória

Dedico esta obra aos meus pais, **Maria Rosa e Nilton**, que sempre me apoiaram nesta caminhada. Muito obrigada por todo amor e dedicação.
AMO MUITO VOCÊS!

Agradecimentos

Aos meus pais e irmãos, enfim a toda minha família, pelo amor, apoio e incentivo ao longo destes anos. Muito obrigada!

Ao Prof. Dr Stelio Pacca Loureiro Luna, pela orientação durante a residência e o mestrado, obrigada pela confiança e a oportunidade de realizar um sonho, pelos ensinamentos e acima de tudo pela sua amizade. Admiro muito você como professor, pesquisador e como pessoa...tenho muito orgulho de ter sido sua orientada. Muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Francisco Teixeira Neto, por todo apoio e ensinamento tanto durante a residência como durante o mestrado, pela oportunidade de trabalhar nos seus projetos, por toda a ajuda, por sua confiança e amizade. Admiro muito você, você é um grande pesquisador.

Ao Prof. Dr. Antônio José de Araújo Aguiar, pela sua amizade e por todos os ensinamentos ao longo destes anos.

Ao Prof. Dr. Nilson Oleskovicz, que me incentivou a seguir o caminho da Anestesiologia, me orientando durante o estágio e dando toda força necessária para que eu chegasse até aqui!

Ao Prof. Dr. Adriano Bonfim Carregaro, pelo seu apoio durante meu estágio em Santa Maria-RS e por toda força e incentivo.

Ao meu querido namorado, Fábio André, pela sua paciência e compreensão, amor, amizade e respeito. Obrigada por estar sempre ao meu lado me dando força.

As minhas três amigas do coração, Luisa, Mayra e Nicole, por toda ajuda durante o experimento, pois sem vocês eu não teria conseguido. Obrigada por tudo!

A amiga querida Márcia Valéria, que foi fundamental para a realização do projeto. Obrigada pela sua amizade, dedicação e carinho, você é uma grande amiga e eu te admiro muito.

Aos meus colegas de residência, Wangles, Renata, Natache, Flávia e Carol, pela amizade e companheirismo. Wangles, além de colega na residência, colega do mestrado, muito obrigada por toda ajuda e alegria que você sempre transmitia durante os experimentos. Você é meu amigo de fé, meu irmão camarada!

Aos meus queridos amigos da anestesia, Gui, Marilda, Lídia, Nádia e Sharlene, vocês alegram muito a minha vida. Obrigada pela amizade e companheirismo. E aos amigos Carlos Renato e Neto, pela força e amizade.

Aos amigos queridos Xi, Luiza, Zé Filho, Andreza, Peres, Alf, Danuta, Milton (Karias), Emiliano e Victor, obrigada pela amizade e carinho.

Aos residentes, Felipe, Guaia, Thaisa e Carlos, obrigada pelo companheirismo.

Aos professores do Departamento de Anestesiologia da FMB em especial ao Prof. Dr. José Reinaldo Cerqueira Braz por todo apoio.

Aos funcionários da seção de Pós-Graduação, em especial à secretária Neli Aparecida Pavan do Departamento de Anestesiologia da FMB pela disponibilidade e paciência, por sempre ter me ajudado.

Aos funcionários da FMVZ em especial à secretária Vanessa Basseto e a Ana, pela disponibilidade e carinho.

Aos professores, Marco Alvarenga e Nicolau, por terem sido tão gentis, nos cedendo os animais e local para a realização do experimento e a doutoranda Ieda pela ajuda. Muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Antônio de Queiroz-Neto, que nos permitiu usar as instalações e o equipamento para a realização do experimento. Muito obrigada pela sua atenção quando estive em Jaboticabal.

Aos funcionários Deco e Seu Dito, por cuidarem tão bem dos animais e por toda a ajuda na fase experimental.

A Prof. Dra. Liciano Vaz de Arruda Silveira, do Grupo de Apoio à Pesquisa (GAP), pela realização da análise estatística.

A Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pelos 24 meses de bolsa (Processo 08/56658-6), pois sem ajuda financeira a realização deste trabalho não seria possível.

OLIVEIRA, FA. **Efeito antinociceptivo, gastrointestinal e na atividade locomotora espontânea da administração intravenosa de metadona em equinos**. Botucatu. 2011. 67p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Botucatu.

RESUMO

As substâncias mais potentes utilizadas para o alívio da dor conhecidas são os opioides. No entanto, estes fármacos não são amplamente utilizados em equinos, devido ao substancial estímulo simpático, excitação do sistema nervoso central e redução da motilidade do trato gastrointestinal observados quando administrados principalmente pela via intravenosa (IV). Objetivou-se avaliar os efeitos da metadona na antinocicepção, na atividade locomotora espontânea e na motilidade gastrointestinal de equinos tratados com metadona IV. Foram utilizados seis equinos adultos em um delineamento em blocos aleatorizados. Cada animal foi submetido a três tratamentos: salina (controle), metadona (0,2 mg/kg – MET_{0,2}) e metadona (0,5 mg/kg – MET_{0,5}) pela via IV, com intervalo mínimo de 1 semana entre cada tratamento. Foi avaliado o efeito antinociceptivo por meio da latência para o reflexo de retirada do membro (LRRM) com uma lâmpada de projeção de calor e voltagem para o reflexo de retirada do membro (VRRM) após estímulo elétrica (fase 1); atividade locomotora espontânea (ALE) em baias comportamentais por meio da interrupção de feixes de raios infravermelho (fase 2) e motilidade intestinal por meio de escores de auscultação (fase 3). As variáveis paramétricas foram analisadas pela ANOVA seguida pelos testes de Dunnett ou Tukey. Para a ALE e auscultação intestinal foi ajustado um modelo linear generalizado para medidas repetidas considerando o erro aleatório assumindo distribuição de Poisson e função de ligação log. As diferenças foram consideradas significantes quando $p < 0.05$. Para o estímulo nociceptivo elétrico não foram realizados os testes com a dose 0,5 mg/kg IV de metadona. No teste nociceptivo térmico, não houve aumento no tempo de LRRM no grupo MET_{0,2}, no entanto, após a administração de 0,5 mg/kg de metadona IV, houve aumento no tempo de LRRM aos 15 e 30 minutos em relação aos valores

basais e em relação aos grupos controle e MET_{0,2}, elevando-se de 3,21 segundos (média) para 8,61 e 9,11 segundos, respectivamente ($p < 0,05$). A VRRM aumentou significativamente em relação ao basal em todos os momentos no grupo MET_{0,2}, mas não diferiu significativamente do grupo controle. Houve aumento dose-dependente na ALE, perdurando dos cinco minutos até 2 horas no grupo MET_{0,5}, em relação ao basal e ao grupo controle. No grupo MET_{0,5} houve redução significativa da motilidade intestinal aos 15 minutos perdurando por 2 horas. Conclui-se que a metadona, na dose de 0,5 mg/kg, produz efeito antinociceptivo de curta duração para o estímulo nociceptivo térmico, com aumento da ALE e redução nos escores de auscultação intestinal.

Palavras-chaves: analgesia, antinocicepção, atividade locomotora espontânea, equinos, metadona, motilidade intestinal.

OLIVEIRA, FA. **Effects of methadone on nociception, abdominal auscultation scores, and spontaneous locomotor activity in horses.** Botucatu. 2011. 67p. MSc. Thesis. Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", campus de Botucatu.

Abstract

Opioids are the most potent substances used for pain relief. However, these drugs are not widely used in horses, due to substantial sympathetic stimulation, excitement of the central nervous system and decreased of the gastrointestinal motility observed when opioids are administered intravenously. The effects of methadone on antinociception, spontaneous locomotor activity and gastrointestinal motility were investigated. Six adult horses were used in a randomized crossover design. Each animal was subjected to three treatments: saline (control), methadone (0.2 mg / kg - MET_{0.2}) and methadone (0.5 mg / kg - MET_{0.5}) intravenously (IV), within 1 week between each treatment. The antinociceptive effect was evaluated by the hoof- withdrawal reflex latency (HWRL) after painful stimulation with a heat lamp and voltage for the withdrawal reflex of the limb (VRRM) after electrical stimulation (phase 1). Spontaneous locomotor activity (SLA) was investigated in a behavior box by use of infrared photoelectric sensors (phase 2) and gastrointestinal motility by abdominal auscultation (phase 3). Parametric variables were analyzed by ANOVA followed by Dunnett or Tukey test. For SLA and abdominal auscultation was fitted the generalized linear models with Poisson error and log link function for repeated data. Differences were considered significant when $P < 0.05$. No electrical noxious stimulation test was performed with the dose of 0.5 mg/kg methadone IV. The HWRL did not increase in animals treated with MET_{0.2}. However, after administration of 0.5 mg/kg of methadone IV, HWRL increased significantly at 15 and 30 minutes compared to baseline and control groups and MET_{0.2}, rising from 3,21 seconds (average) to 8.61 and 9.11 seconds respectively ($P < 0.05$). VRRM increased significantly from baseline at all time points in group MET_{0.2}, but did not differ significantly from control group. There was a dose-dependent increase in SLA, lasting from 5 minutes to 2 hours in group MET_{0.5} when compared with baseline values and control group. The abdominal

auscultation scores decreased significantly from baseline from 15 minutes to 2 hours in animals treated with MET_{0,5}. Methadone produces antinociceptive effect of short duration for thermal stimulus, but increases SLA, produce adverse behavioral effects, and causes a reduction in gastrointestinal motility.

Key-words: antinociception, abdominal auscultation, methadone, spontaneous locomotor activity, horses.

Lista de Ilustrações

Figura 1:	Acionamento da lâmpada de projeção de calor (A) e acionamento da lâmpada não focalizada (B) na face lateral da falange proximal do membro torácico.....	30
Figura 2:	Demonstração do posicionamento dos eletrodos adesivos na banda coronária (A) e adaptação dos jacarés nesses eletrodos (B). Notar cabo intermediário fixado na canela (seta) que era ligado ao cabo principal do equipamento de eletroestimulação.....	31
Figura 3:	Representação esquemática das baias comportamentais com sensores fotoelétricos conectados ao computador central (A) e da disposição dos pares de sensores fotoelétricos (AA', BB', CC' e DD') (B).....	33
Figura 4:	Valores médios (\pm desvio padrão) do tempo de latência para o reflexo de retirada do membro (segundos) em resposta ao estímulo térmico após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET _{0,2} ; 0,5 mg/kg - MET _{0,5}) de equinos (n=6).....	39
Figura 5:	Valores médios (\pm desvio padrão) do limiar de dor (Volts) após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET _{0,2}) em equinos (n=6).....	40
Figura 6:	Medianas da atividade locomotora espontânea após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET _{0,2} ; 0,5 mg/kg - MET _{0,5}) em equinos (n=6).....	42
Figura 7:	Medianas dos escores da auscultação intestinal após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET _{0,2} ; 0,5 mg/kg - MET _{0,5}) em equinos (n=6).....	44

Lista de Tabelas

- Tabela 1:** Valores médios (\pm desvio padrão) do tempo de latência para o reflexo de retirada do membro (segundos) em resposta ao estímulo térmico, após a administração intravenosa de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET_{0,2}; 0,5 mg/kg - MET_{0,5}) em equinos (n=6)..... 38
- Tabela 2:** Valores médios (\pm desvio padrão) do limiar de dor (Volts) em resposta ao estímulo elétrico após a administração intravenosa de solução salina (controle) e metadona (0,2 mg/kg -MET_{0,2}) em equinos (n=6)..... 40
- Tabela 3:** Medianas da atividade locomotora espontânea após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET_{0,2}; 0,5 mg/kg - MET_{0,5}) em equinos (n=6)..... 41
- Tabela 4:** Medianas dos escores da auscultação intestinal após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET_{0,2}; 0,5 mg/kg - MET_{0,5}) em equinos (n=6)..... 43

S umário

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
3 OBJETIVOS.....	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1 Animais.....	28
4.2 Delineamento e protocolo experimental.....	28
4.3 Etapa 1: avaliação da atividade antinocicpetiva.....	29
4.4 Etapa 2: avaliação da atividade locomotora espontânea.....	31
4.5 Etapa 3: avaliação gastrointestinal.....	33
4.6 Análise estatística.....	34
5 RESULTADOS.....	35
6 DISCUSSÃO.....	45
7 CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS.....	56
APÊNDICE.....	64

Introdução

1. Introdução

Os opioides são amplamente utilizados no tratamento da dor em medicina veterinária e humana, além de serem utilizados como agentes analgésicos em anestesia balanceada. Estes agentes interagem com receptores opioides localizados no Sistema Nervoso Central (SNC) e em tecidos periféricos (μ , δ , κ) (Yaksh, 1997).

A administração da maioria dos opioides agonistas ou agonistas-antagonistas em cavalos adultos produz graus variados de analgesia, moderada sedação, tremores musculares e aumento da resposta a estímulo sonoro (Muir, 1991). A estimulação dos receptores opioides μ causa analgesia, fenômeno excitatório, bradicardia e depressão respiratória (Szöke et al., 1998).

Há uma crescente demanda e necessidade de terapia antálgica em equinos. Assim como em outras espécies, a clínica equina necessita de fármacos analgésicos para promover alívio ou prevenir a dor, além de produzir contenção química adequada para exames clínicos e procedimentos cirúrgicos menores (Schatzmann et al., 2001). No entanto, a utilização de opioides em equinos ainda é limitada, devido ao substancial estímulo simpático e excitação do SNC observados quando administrados pela via IV (Kamerling et al., 1985b), aliado ao aumento da atividade locomotora e redução na motilidade gastrointestinal (Muir, 1991; Mama et al., 1993; Carregaro et al., 2006). Por outro lado esses sinais clínicos podem ser abolidos ou diminuídos com a administração de opioides antagonistas μ ou com pequenas doses de tranquilizantes ou sedativos (Muir, 1991).

Historicamente, a dor tem sido negligenciada em grandes animais, no entanto na última década houve avanço considerável no seu tratamento. A dor ainda não é tratada de forma apropriada, devido principalmente à falta de conhecimento com relação ao tratamento e o medo dos efeitos colaterais. No Brasil, em pesquisa recente, observou-se que as preocupações sobre os aspectos negativos do uso de opioides em equinos foram, o risco de excitação (78%) e a síndrome cólica (80%) (Lorena et al., 2010). Demonstrou-se também que o fármaco mais utilizado para o tratamento da dor pós-operatória em equinos e bovinos foi o flunixin meglumine (83%) e que foram administrados analgésicos em 62% dos equinos e 33% dos bovinos após a orquiectomia (Lorena et al., 2010). Além disso, os veterinários de animais de grande porte apresentam uma grande dificuldade no reconhecimento da

dor, o que limita a determinação da necessidade de intervenção analgésica, bem como a avaliação da eficiência do tratamento.

A metadona é um fármaco que possui grande potencial para a utilização em medicina veterinária, uma vez que no homem verifica-se efeito analgésico prolongado, minimizando a necessidade de terapia analgésica suplementar no período peri-operatório (Gourlay et al., 1982). A metadona difere dos outros opioides devido a sua meia-vida longa, por possuir atividade antagonista do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) (Santiago-Palma et al., 2001), além de inibir a recaptação de monoaminas no SNC (Davis & Walsh, 2001). Adicionalmente a combinação da atividade agonista μ e antagonista dos receptores NMDA produz uma resposta analgésica aditiva, enquanto limita a tolerância a opioides (Davis & Walsh, 2001), o que faz da metadona um analgésico de bom potencial.

Revisão de Literatura

2. Revisão de literatura

Os analgésicos opioides são amplamente utilizados no tratamento da dor moderada a severa (Holtman & Wala, 2007). Em diversas espécies, os opioides são frequentemente utilizados no período peri-operatório, fazendo parte de uma anestesia balanceada e com isso reduzindo o requerimento anestésico bem como os efeitos depressores cardiovasculares causados pelos agentes inalatórios (Bennett & Steffey, 2002).

O estímulo da atividade locomotora provocada pela administração de opioides tem sido amplamente estudado em camundongos e ratos (Pascoe & Taylor, 2003). Há uma forte associação entre a liberação de dopamina e a estimulação locomotora (Kamerling et al., 1985b, Di Chiara & Imperato, 1988), que pode ser revertida com antagonista da dopamina (Morelli et al., 1989). Em equinos, a naloxona reverteu completamente as respostas locomotoras induzidas pelo μ -agonista fentanil em animais sem dor e houve redução em 75% destes efeitos causados com a administração de uma alta dose de morfina, indicando que estas alterações ocorrem via receptores opioides (Combie et al., 1981).

No entanto, a dopamina também pode estar envolvida neste mecanismo, uma vez que a acepromazina bloqueou parcialmente os efeitos locomotores do fentanil e da morfina (Combie et al., 1981). Porém, Pascoe & Taylor (2003) demonstraram que os antagonistas puros da dopamina não preveniram a estimulação locomotora induzida pelo alfentanil, portanto a participação da dopamina na resposta locomotora produzida pelos opioides em equinos ainda não é clara.

As respostas comportamentais em equinos frente a administração de altas doses de opioides têm sido bem documentadas e consiste na estimulação do SNC com subsequente aumento na atividade locomotora espontânea (Thomasy et al., 2007). Todos estes efeitos são dose-dependentes e a administração de um sedativo, como α_2 -agonistas, antes do opioide pode reduzir a extensão de sua expressão (Combie et al., 1981).

Muitos estudos demonstram que a administração de opioides μ -agonistas, como o fentanil, morfina, metadona, meperidina, pentazocina, anileridina, apomorfina, hidromorfona e o alfentanil (Combie et al., 1979, Tobin et al., 1979; Kalpravidh et al., 1984a; Kamerling et al., 1985b; Mama et al., 1993, Pascoe et al., 1991, Pascoe e Taylor, 2003) aumentam a atividade locomotora espontânea e promovem alterações comportamentais em equinos. Estes efeitos também foram relatados com o uso do agonista-antagonista buprenorfina (Szöke 1998, Carregaro et al., 2007) e o agonista parcial butorfanol (Kalpravidh et al., 1984b; Nolan et al., 1994; Sellon et al., 2001).

Com a administração de tramadol IV, não foram observados estes efeitos clássicos (Dhanjal et al., 2009), como o aumento da ALE e ataxia, como tem sido relatado com o uso de outros opioides, mas os animais pareceram mais alertas e sensíveis aos estímulos. Estudos anteriores demonstraram que com a administração do k-agonista U50,488H, não houve estimulação locomotora (Kamerling et al., 1988b; Mama et al., 1993), mas quando combinado com o fentanil em dose alta estes efeitos foram observados (Mama et al., 1993).

A utilização de baixas doses de opioides em associação com α_2 -agonistas reduz os efeitos colaterais produzidos pelos opioides além de haver a potencialização dos efeitos analgésicos e sedativos. A administração de butorfanol (25 μ g/kg) e levometadona (100 μ g/kg) em associação a detomidina (10 μ g/kg) prolongou a duração da antinocicepção de 15 para 75 minutos quando comparado com a detomidina isolada, tanto no estímulo térmico quanto pressórico (Schatzmann et al., 2001). Em estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa, com a associação de detomidina (10 μ g/kg) e metadona (0,2 mg/kg) IV houve prolongamento da sedação e da analgesia de 15 para 30 minutos, quando comparada com a administração isolada de detomidina (Pignaton, 2011).

Os receptores opioides estão distribuídos pelo SNC e trato gastrointestinal (Boscan et al., 2006a) e os mecanismos pelo qual muitos destes fármacos exercem seu efeito analgésico central envolvem vias também encontradas no sistema nervoso entérico o qual tem importante papel no controle da motilidade do trato gastrointestinal (Merritt et al., 1998). A morfina reduziu a motilidade propulsiva gastrointestinal em equinos (Sojka et al., 1988), o fentanil induziu respostas motoras

com eventos espasmódicos ou constipação, mas estes efeitos não foram observados com a administração do k-agonista U50488H (Roger et al., 1994).

A administração única de butorfanol (0,1 mg kg⁻¹) IV, foi associada com efeitos adversos comportamentais e no trato gastrointestinal incluindo ataxia, redução dos borborismos intestinais e da defecação (Sellon et al. 2001). Os escores de auscultação reduziram significativamente durante 4 horas após a administração IV de buprenorfina,(10 µg/kg) (Carregaro et al. 2006) e com a administração de morfina IV (0,5 mg/kg) a cada 12 horas durante 6 dias, foi observado diminuição na motilidade gastrointestinal e no teor de umidade das fezes no lúmen do trato gastrointestinal (Boscan et al. 2006a). No entanto, Andersen et al. (2006) demonstraram em um estudo retrospectivo, que o uso de morfina não foi associada com aumento de cólica no período pós-operatório. Dessa forma, o uso de opioides deve ser feito com cautela, principalmente em animais que já tenham comprometimento da motilidade do trato gastrointestinal.

Metadona

A metadona é um agonista sintético dos receptores μ -opioides com propriedades farmacológicas similares a morfina (Davis & Walsh, 2001; Coda, 2009). Foi desenvolvida na década de 40 pelos alemães no período entre as duas Guerras Mundiais (Shaiova, 2005). A falta de morfina para tratar os feridos da guerra induziu a necessidade de se conseguir desenvolver um analgésico sintético, mas foi só após o fim da 2^a. Guerra Mundial que a metadona foi descoberta nos arquivos alemães sendo os Estados Unidos responsáveis pelas pesquisas posteriores (Paulino & Carvalho, 2000)

A metadona difere dos outros opioides devido a sua longa meia-vida de eliminação em humanos, ação agonista nos receptores μ e atividade analgésica não opioide, com moderada ação antagonista nos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), além de inibir a recaptção da serotonina e norepinefrina no sistema nervos central (SNC) (Faisinger et al., 1993; Davis & Walsh, 2001; Santiago-Palma et al., 2001, Inturrisi, 2002, Inturrisi, 2005; Shaiova, 2005; Leppert, 2009).

Este fármaco possui propriedades que o distingue de todos os outros opioides, o que a torna um excelente analgésico (Linardi et al., 2009). A metadona tem um carbono assimétrico que resulta em dois enantiômeros, (R) ou levo- (l-) ou (S) ou dextro- (d-) isômeros, mas a mistura racêmica é a forma mais comumente utilizada clinicamente e em estudos laboratoriais (Inturrisi, 2005). O isômero d-metadona é inativo ou fraco como um opioide, enquanto o l-metadona produz analgesia por afinidade nos receptores opioides μ (Davis & Walsh, 2001), além de ser de 8 a 50 vezes mais potente que a d-metadona, a qual tem propriedade antitussígena predominante (Faisinger et al., 1993; Shaiova, 2005).

A metadona é altamente lipofílica (Shaiova, 2005), com alta ligação as proteínas plasmáticas (Brown et al., 2004) e é amplamente distribuída para os tecidos (Faisinger et al., 1993; Brown et al., 2004). Seu início de ação após administração parenteral é rápida, em torno de 10 a 20 minutos (Coda, 2009) e após a administração oral pode produzir atividade analgésica a partir de 30-60 minutos com duração de ação de 4 a 8 horas (Shaiova, 2005). Seu uso no tratamento da dor crônica é favorecido por ser um fármaco altamente eficaz e com efeitos analgésicos prolongados quando administrado pela via oral (Gourlay et al., 1986; Inturrisi, 2002) devido a sua alta biodisponibilidade (Coda, 2009), que varia de 41 a 99%, ou seja três vezes a biodisponibilidade oral da morfina (Davis & Walsh, 2001).

Devido a sua meia-vida de eliminação longa, a metadona é frequentemente utilizada para o tratamento da dor crônica e neuropática e no tratamento da síndrome de abstinência aos opioides (Santiago-Palma et al., 2001, Brown et al., 2004; Coda, 2009). Também é empregada no controle da dor não responsiva a outros μ opioides como o fentanil, hidromorfona e oxicodona (Davis & Walsh, 2001). Apesar de ser menos empregada no tratamento da dor peri-operatória, a administração IV de uma dose única de metadona proporciona analgesia prolongada, reduzindo o requerimento de doses suplementares de analgésicos no período pós-operatório (Gourlay et al., 1982; Chui & Gin, 1992). A administração de metadona na dose total de 20 mg em 23 pacientes submetidos a vários tipos de cirurgia, aboliu completamente a necessidade de analgesia suplementar no período pós-operatório em 39% dos indivíduos (Gourlay et al., 1982). Neste estudo, houve a necessidade de analgesia suplementar com opioides somente após cerca de 18 horas do término da cirurgia em 35% dos pacientes, enquanto que os 26% restantes

necessitaram apenas de analgésicos não opioides, decorridas 26 horas do período pós-operatório (Gourlay et al, 1982).

Em humanos, quando se compara a eficácia analgésica da metadona e da morfina, após cirurgia abdominal, o tempo para a administração da primeira dose suplementar foi significativamente diferente no grupo metadona ($20,7 \pm 20,2h$) em relação ao grupo morfina ($6,2 \pm 3h$) (Gourlay et al., 1986). Em outro estudo comparando os efeitos analgésicos pós-operatórios da metadona e da morfina em pacientes submetidos a cirurgias abdominais, observou-se que 67% dos indivíduos que receberam metadona (0,25 mg/kg, IV) durante a anestesia não necessitaram de analgesia suplementar com opioides, enquanto todos os pacientes tratados com dose equipotente de morfina (0,25 mg/kg, IV) necessitaram de pelo menos duas doses adicionais de morfina para o controle da dor pós-operatória (Chui & Gin, 1992). Entretanto apesar da maior eficácia analgésica da metadona, ocorreu uma maior incidência de náusea e vômito em relação a morfina (Chui & Gin, 1992).

No homem, a meia-vida plasmática da metadona é de 24 horas (Inturrisi, 2002) podendo chegar a 27 horas (Gourlay et al., 1982). Também apresenta uma rápida fase de distribuição e meia-vida de eliminação altamente variável e prolongada nesta espécie, sugerindo-se que a analgesia prolongada se deva a lenta fase de eliminação (Gourlay et al., 1984). As concentrações sanguíneas consideradas terapêuticas da metadona para dor aguda variam entre 33 e 59 ng/mL no homem (Gourlay et al., 1982; Gourlay et al., 1986).

A metadona é menos sedativa que a morfina e sua natureza altamente lipofílica produz menos náusea (Davis & Walsh, 2001). No entanto, muitos efeitos colaterais comuns são associados com o uso da metadona, em comum com os outros μ agonistas, como vômito, tontura, constipação, sudorese e depressão respiratória (Davis & Walsh, 2001, Shaiova, 2005; Coda, 2009). O efeito adverso mais comum dos opioides é a constipação, pois estes fármacos atuam em vários sítios no trato gastrointestinal e na medula espinhal e produzem redução na secreção intestinal e peristaltismo, o que resulta em ressecamento das fezes e constipação (Inturrisi, 2002). De forma similar a morfina, a metadona também pode causar constipação principalmente em pacientes submetidos a tratamento prolongado (Yuan et al., 1998).

Em humanos, o citocromo P450 (CYP) 3A4 é a principal enzima envolvida na biotransformação dos enantiômeros da metadona por *N*-desmetilação, produzindo 2-etileno-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolodina (EDDP) e 2-etil-5-metil-3,3-difenil-1-pirrolina (EMDP) como o principal metabolito inativo terapêutico (Eap et al., 2002; Lugo et al., 2005). Sugere-se que o CYP2B6, CYP2D6 e outras enzimas podem também contribuir para o metabolismo da metadona, mas em menor extensão (Foster et al., 1999; Shaiova, 2005). O EDDP e EMDP são considerados metabólitos menores e o CYP3A4 pode não ser a principal enzima do metabolismo em cães (Kukanich et al., 2005).

Na espécie canina, diferente do homem, a metadona é rapidamente eliminada e apresenta meia-vida de eliminação entre 1,53-1,75 (Kukanich et al., 2005; Kukanich & Borum, 2008). O uso da metadona pela via oral não é recomendada devido a sua baixa biodisponibilidade (Kukanich & Borum, 2008). Em outro estudo, a administração de 0,4 mg/kg de metadona apresentou meia-vida de eliminação de $3,9 \pm 1$ horas após administração intravenosa e $10,7 \pm 4,3$ horas após administração subcutânea, mas por esta via a variação individual nas concentrações plasmáticas foi maior em comparação com a administração IV em cães (Ingvast-Larsson et al., 2010). Após administração IV, a concentração plasmática de metadona em 10 minutos foi de $82,1 \pm 9,2$ ng/mL, o volume de distribuição de $9,2 \pm 3,3$ L/kg e a depuração plasmática de $27,9 \pm 7,6$ minutos/mL/kg. Após a administração SC, o tempo para a concentração plasmática máxima foi de $1,26 \pm 1,04$ horas e a concentração plasmática máxima de metadona foi de $23,9 \pm 14,4$ ng/mL (Ingvast-Larsson et al., 2010).

Em equinos, a administração oral de metadona foi bem tolerada e resultou em alta e rápida concentração sérica consistente com analgesia em outras espécies, sem a ocorrência de efeitos colaterais comportamentais e fisiológicos (Linardi et al., 2009). O perfil farmacocinético da metadona foi caracterizado por alta depuração, pequeno volume de distribuição e curta meia-vida de eliminação, mas outros estudos são necessários para determinar a biodisponibilidade oral e farmacodinâmica da metadona em equinos (Linardi et al., 2009).

Alterações comportamentais também são observadas com a administração de metadona em animais conscientes e sem dor, assim como para os outros μ

agonistas (Pascoe, 2000). Em cães é relatado comportamento disfórico, taquipnéia excessiva, vocalização e aumento na frequência de choro após a administração de metadona IV (Maiante et al., 2009; Garofalo, 2010, Ingvast-Larsson et al., 2010). No entanto, em estudo realizado por Kukanich et al. (2005) não foi observado disforia ou excitação. Em outro estudo em cães, a metadona produziu sedação moderada, mas quando associada a xilazina ou acepromazina produziu maior sedação e melhor analgesia (Monteiro et al., 2008; Monteiro et al., 2009). Nestes estudos não foi observado a ocorrência de êmese e esta pode ser considerada uma vantagem em relação a morfina.

Sua grande potência analgésica e baixo custo tornam a metadona popular para o uso parenteral como analgésico ou em combinação com tranquilizantes para sedação (Leibetseder et al., 2006). No entanto, em medicina veterinária, apesar do seu grande potencial analgésico, existem poucos estudos avaliando a eficácia da metadona. Em gatas submetidas à ovariectomia, a administração de 0,5 mg/kg de metadona IM como medicação pré-anestésica produziu analgesia pós-operatória com duração que variou de 1,5 até 6,5 horas (Dobromylskyj, 1993). Tanto a metadona racêmica (0,6 mg/kg IM) como a levo-metadona (0,3 mg/kg IM) promoveram analgesia em gatas após ovariectomia, sem relatos de efeitos comportamentais e cardiorrespiratórios adversos (Bley et al., 2004).

Leibetseder et al. (2006) observaram que a administração extradural de metadona reduziu significativamente o requerimento de isoflurano comparado com a metadona IV durante cirurgia da articulação fêmoro-tibial em cães, entretanto não houve diferença na duração da analgesia pós-operatória associada com a via de administração. Em felinos, com a administração de 0,2 mg/kg SC de metadona, houve aumento no limiar nociceptivo térmico demonstrando que a metadona pode ser uma alternativa promissora nesta espécie (Steagall et al., 2006). Já em ovinos a administração IM de metadona não produziu efeito antinociceptivo (Grant et al., 1996).

Em equinos existem poucos relatos dos efeitos analgésicos da administração de metadona. Tanto a administração subaracnóidea de metadona hiperbárica como a administração peridural de metadona produziu analgesia sem depressão

cardiorrespiratória, ataxia ou excitação do SNC (Olbrich & Mosing, 2003; Natalini et al.; 2006).

Como a terapia antálgica em equinos ainda está longe da ideal, pela dificuldade de se obter um opioide eficaz para a analgesia e desprovido de efeitos colaterais, a metadona pode ser uma boa opção no tratamento da dor em equinos, considerando-se todas as vantagens citadas anteriormente para outras espécies.

Objetivos

3. Objetivos

Objetivou-se avaliar o efeito antinociceptivo, na atividade locomotora espontânea e gastrointestinal da administração intravenosa de metadona por via intravenosa.

Materiais e Métodos

4. Materiais e métodos

Esta pesquisa foi aprovada pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita filho”, Campus de Botucatu/SP, sob o protocolo nº 175/2008- CEEA.

4.1. Animais

Foram utilizados seis equinos adultos, fêmeas, de peso $382 \pm 18,2$ kg. Os animais foram vermifugados a intervalos de três meses com abamectina¹ e submetidos ao controle de ectoparasitas regularmente com produto a base do organofosforado fention². Os animais eram alojados em piquetes coletivos e mantidos à pasto de capim “coast-cross”, silagem e ração³ comercial para equinos. A higidez dos animais foi comprovada por meio do hemograma e exame bioquímico (perfil renal e hepático).

4.2. Delineamento e protocolo experimental

O estudo foi dividido em três etapas, detalhadas em seguida, as quais apresentam dois ou três grupos experimentais, formados por seis animais autocontroles em cada grupo.

Cada animal recebeu um dos três diferentes tratamentos pela via IV, após cateterização⁴ da veia jugular, com intervalo mínimo de uma semana entre cada tratamento:

- ✓ Controle: 10 ml de solução salina.
- ✓ MET_{0,2}: Metadona⁵ 0,2 mg/kg, seguido de 10 ml de solução salina .
- ✓ MET_{0,5}: Metadona 0,5 mg/kg, seguido de 10 ml de solução salina.

¹ Avotan gel®, Intervet Schering-Plough Animal Health, Cotia-SP.

² Tiguvon 15 Spot-on®, Produtos Bayer Health Care, São Paulo-SP.

³ Ração Equinos Campestre, Fanton Nutrição Animal, Bauru-SP.

⁴ Insyte 14 G, Beckton Dickinson, São Paulo, SP, Brasil

⁵ Mytedon®, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos, Itapira-SP.

Os tratamentos IV foram administrados durante 1 minuto. Em caso de efeitos colaterais exacerbados, que trouxessem riscos para o animal e para a equipe de trabalho, foi realizada a reversão destes efeitos com naloxona⁶ na dose de 0,01 mg/kg IV.

4.3. Etapa 1: avaliação da atividade antinociceptiva

A avaliação da atividade antinociceptiva foi obtida por meio do teste de latência para o reflexo de retirada do membro aos estímulos térmico e elétrico. Os testes com o estímulo térmico foram realizados nas instalações do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da UNESP, Campus de Jaboticabal. Os testes com o estimulador elétrico foram realizados no Centro de Biotecnologia em Reprodução Equina (CERBEC - Posto de Monta) na Fazenda Lageado da Faculdade de Ciências Agrárias, da UNESP, Campus de Botucatu.

Com base em metodologia previamente descrita, a dor somática foi avaliada por meio de estimulação nociceptiva de natureza térmica (Kamerling et al. 1985a; Carregaro et al 2007) e elétrica (Jöchle e Hamm, 1986). Antes de cada experimento, os animais foram submetidos a jejum alimentar de doze horas, com água *ad libitum*. No dia do experimento, foi realizada a tricotomia da face lateral da falange proximal do membro torácico esquerdo, sendo na semana seguinte utilizado o membro oposto. A área foi pintada com tinta preta a base de água para uniformizar o campo de incidência da luz e a absorção do calor. A lâmpada com projeção de calor⁷ foi focada sobre uma distância de 20 cm da área e mantida ligada até o início do reflexo de retirada (Figura 1A). O tempo de latência foi obtido por meio de um cronômetro de precisão em centésimos de segundos, acoplado ao aparelho, o qual era acionado e desativado simultaneamente com a lâmpada. O aparelho possui também uma lâmpada secundária, não focalizada, que era acionada no intervalo das mensurações, para evitar a ocorrência de reflexo condicionado à percepção de luz (Figura 1B).

⁶ Narcan®, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos, Itapira-SP.

⁷ Lâmpada de Irradiação de Calor. Kentucky University, USA..



Figura 1: Acionamento da lâmpada de projeção de calor (A) e acionamento da lâmpada não focalizada (B) na face lateral da falange proximal do membro torácico.

O reflexo de retirada ao estímulo elétrico foi avaliado pelo estimulador de nervos de corrente contínua⁸. Dois eletrodos adesivos foram firmemente fixados há sete cm de distância um do outro (Figura 2), sobre a banda coronária submetida a tricotomia de um dos membros torácicos (Figura 2). O estímulo elétrico seriado de 50 Hz, corrente alternada, quadrada e com 10 ms de duração foi iniciado com 1 V e aplicado de forma crescente (1 V para cada 5 s, com intervalo de 15 segundos entre cada estímulo) até o reflexo de retirada, a fim de avaliar a antinocicepção. As respostas dolorosas foram consideradas positivas após movimentos intencionais de retirada dos membros e/ou tentativas de escoicear, após o estímulo. Para evitar dano tissular, o estímulo máximo aplicado foi limitado a 40 V.

Em cada momento foram realizadas três mensurações e realizada a média dos valores. Os registros realizados imediatamente antes do tratamento foram considerados como valores basais. Após o tratamento as mensurações foram realizadas aos 15, 30, 60, 120 e 180 minutos após os tratamentos. No grupo controle o tempo de mensuração foi antes da administração da solução salina e aos 15, 30 e 60 minutos.

⁸ Grass S48 Square Pulse Stimulator. Grass Technologies, Astro-Med Industrial Park, West Warwick, USA.- Fapesp Proc 00/02583-3



Figura 2: Demonstração do posicionamento dos eletrodos adesivos na banda coronária e adaptação dos jacarés nesses eletrodos. Notar cabo intermediário fixado na canela (seta) que era ligado ao cabo principal do equipamento de eletroestimulação.

4.4. Etapa 2: avaliação da atividade locomotora espontânea (ALE)

A avaliação da atividade locomotora espontânea (ALE) foi realizada no Departamento de Fisiologia e Morfologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Campus de Jaboticabal, São Paulo.

Para a avaliação da ALE foi utilizada a metodologia descrita por Kamerling et al. (1985b). Cada animal foi alocado em baia individual medindo 16m² (Figura 3A) com quatro paredes de sensores fotoelétricos⁹ emissores de feixe infravermelhos (Figura 3B). A interrupção do feixe infravermelho entre os pares de sensores pelo movimento das patas gerava um pulso, traduzido em contagens por minuto e armazenado em um computador.

⁹ Banner, Engineering Corp., Minneapolis, MN, USA.

Os equinos foram alojados nas baias na tarde anterior aos experimentos para familiarização com o ambiente, quando recebiam 1 kg de ração comercial, feno e água *ad libitum*. Na manhã seguinte, eram novamente alimentados e uma hora após, era retirado o resto da comida e água, a fim de que não interferissem na movimentação do animal e conseqüentemente nas leituras. A ALE foi registrada por 30 minutos antes da administração do tratamento. O tempo imediatamente antes da administração do tratamento foi considerado como basal (tempo 0). Após o tratamento a ALE foi registrada aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos e duas, três, quatro e cinco horas.

Durante todo o período do experimento, o comportamento dos animais foi observado de forma que o animal não pudesse ver o observador, através de uma pequena janela espelhada internamente com o observador posicionado fora da baia. Os sinais de excitação (agitação, balançar de cabeça, movimentos de cavar, relinchos, trote, galope) foram registrados, mas não quantificados. O computador registrou como dados o número de interrupções de cada feixe de luz durante a primeira hora a cada 1 minuto e após este período a cada 5 minutos. Os valores foram somados e a média foi calculada por minuto de acordo com o intervalo de tempo.

Desta forma, os resultados da ALE foram calculados como a soma do número de interrupções por minuto durante o intervalo de tempo entre a última contagem e contagem seguinte. Por exemplo, a ALE atribuída ao tempo de 5 minutos refere-se ao número de interrupções que ocorreram entre zero hora e 5 minutos, dividido pelo número de minutos (neste caso, 5 minutos). Da mesma forma, a ALE de 15 minutos e 30 minutos referem-se ao número de interrupções que ocorreu entre 5 e 15 minutos e 15 e 30 minutos, respectivamente, dividido pelo número de minutos (neste caso, 10 e 15 minutos respectivamente). A partir dos 60 minutos a ALE foi calculada a partir da meia hora anterior ao momento (número de passos/30 minutos).

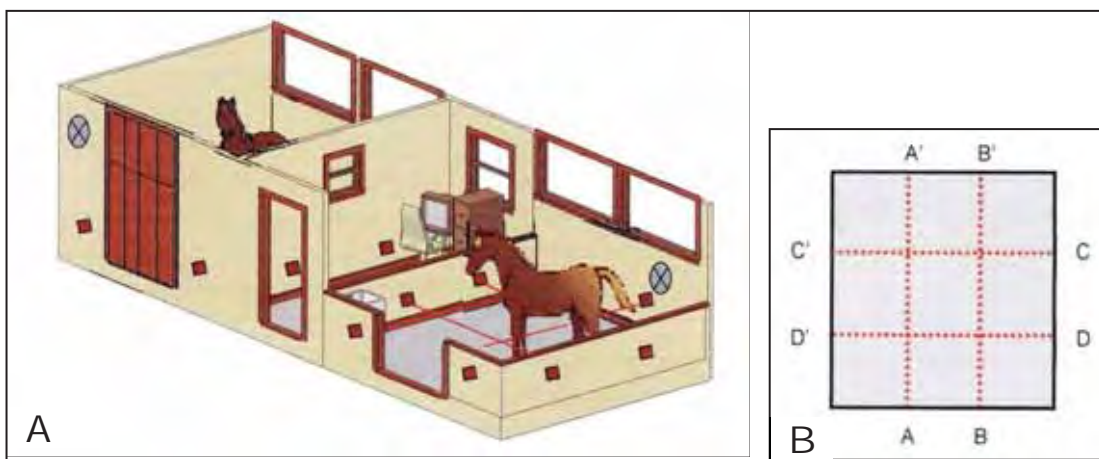


Figura 3: Representação esquemática das baias comportamentais com sensores fotoelétricos conectados ao computador central (A) e da disposição dos pares de sensores fotoelétricos (AA', BB', CC' e DD') (B).

4.5. Etapa 3: avaliação gastrointestinal

Os escores de auscultação abdominal foram obtidos por estetoscopia abdominal, segundo Teixeira Neto et al. (2004a,b). Para tal, o flanco lateral direito foi dividido em duas porções, avaliando-se a abertura da válvula íleo-cecal, na fossa paralombar (porção dorsal) e cólon ventral direito, próximo ao rebordo das últimas três costelas. O mesmo foi realizado no lado esquerdo, avaliando-se a motilidade do cólon dorsal, na porção caudal da fossa paralombar e o cólon ventral, na porção ventral do abdome.

Cada quadrante foi auscultado por no mínimo um minuto, com um intervalo de poucos segundos entre eles. Uma pontuação subjetiva foi designada para cada quadrante: 0-ausência de som; 1-sons tipo crepitação, pouco audíveis e abafados, com frequência de uma vez por minuto; 2- sons tipo crepitação, pouco audíveis e abafados, com frequência de duas vezes por minuto; 3-sons tipo borboríngas, bem audíveis, com frequência de uma vez por minuto; 4- sons tipo borboríngas, bem audíveis, com frequência de duas vezes por minuto.

Para padronização, a auscultação foi realizada por apenas uma pessoa. As pontuações foram somadas, e variaram entre 0, ou seja, parada completa das movimentações do intestino, a 16, atestando motilidade normal do intestino.

4.6. Análise Estatística

A estatística foi realizada utilizando-se o programa SAS¹⁰. Para as variáveis paramétricas LRRM e VRRM foi aplicada a análise de variância (ANOVA) para amostras pareadas com posterior teste de Dunnett para comparações de médias dentro de cada grupo em relação ao valor basal. Para comparações entre grupos, em cada momento foi realizado o teste de Tukey. Para as variáveis ALE e auscultação intestinal, foi ajustado um modelo linear generalizado para medidas repetidas considerando o erro aleatório assumindo distribuição de Poisson e função de ligação log. Para comparações entre grupos em cada momento e entre momentos em cada grupo foi aplicado o teste da razão de verossimilhança. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Todos os resultados paramétricos foram expressos em média \pm desvio padrão. A ALE e auscultação intestinal foram expressas em mediana.

¹⁰ SAS Institute Inc, versão 9.1.3, Gary, NC, USA.

Resultados

5. Resultados

Durante o estudo com estímulo nociceptivo térmico, ALE e auscultação intestinal, foram observados algumas alterações comportamentais e efeitos colaterais no grupo MET_{0,5}, tais como ataxia, tremor muscular na face, ao redor dos olhos, pescoço, garupa e membros, abertura do quadrilátero de apoio, hiperestesia, andar rígido e em círculos, sialorreia em três animais, sudorese intensa em um animal, sudorese discreta na cabeça, membros e peito. Os animais apresentavam comportamento normal após 1 hora da administração da metadona. Já no grupo MET_{0,2} em todos os animais foi observado um efeito sedativo discreto e transitório. No entanto, durante a avaliação da ALE, dois animais do grupo MET_{0,2} apresentaram sinais de excitação, leve ataxia, movimentos de cabeça, andar em círculos, mas pouco rígido, por cerca de 30 minutos, voltando ao normal após este período.

Durante a realização do estímulo elétrico, após a administração da dose de 0,5 mg/kg IV de metadona em um animal, o primeiro que estava sendo avaliado, as alterações comportamentais desencadeadas pelo fármaco impossibilitaram posicionar os jacarés nos eletrodos. Devido à sudorese e movimentação intensas dentro do tronco de contenção os eletrodos se soltaram, não sendo possível realizar o estímulo. Além disso, devido a excitação, o animal começou a se bater no tronco, e para evitar que o animal se machucasse e por segurança da equipe de trabalho, optou-se pela reversão destes efeitos com naloxona na dose de 0,01 mg/kg IV. Em 1 minuto o animal voltou a seu estado normal. Sendo assim, ficou inviável a realização deste tipo de estímulo em animais tratados com altas doses de opioides.

Não houve aumento no limiar de dor após um estímulo nociceptivo térmico no grupo MET_{0,2}. A LRRM foi significativamente maior aos 15 e 30 minutos após a administração de 0,5 mg de metadona/kg, em comparação com a LRRM nos grupos controle e MET_{0,2} (Tabela 1 e Figura 4). Para o limiar de dor em resposta à estimulação elétrica, houve uma tendência de aumento nos valores de VRRM ao longo do tempo com diferença significativa em todos os tempos no grupo MET_{0,2} em relação aos valores basais, mas não houve diferença significativa em relação ao grupo controle até os 60 minutos (Tabela 2 e Figura 5).

Em todos os grupos, observou-se uma uniformidade da ALE nos 30 minutos que antecederam a administração dos tratamentos, com aproximadamente 12 interrupções/minuto. Todos os animais do grupo MET_{0,5} demonstraram-se excitados 5 minutos após a administração da metadona e ao longo do tempo esta excitação se exacerbou. Observou-se inquietude, movimentos estereotipados com a cabeça, ataxia, tremores musculares na cabeça e/ou membros pélvicos, andar rígido e em círculos, hiperestesia, cauda em bandeira e leve sudorese. Já no grupo MET_{0,2} apenas dois animais apresentaram sinais de excitação, sendo estes mais sutis e de curta duração. Nos grupos MET_{0,5} e MET_{0,2} houve aumento significativo na ALE em relação ao momento basal dos 5 e 15 minutos, respectivamente até 2 horas (Figura 6). Ao se comparar os grupos em cada momento, houve diferença significativa do grupo MET_{0,5} em relação ao grupo controle dos 15 minutos até 2 horas. Já aos 90 minutos a ALE foi maior no grupo MET_{0,5} em relação ao grupo MET_{0,2} (Tabela 3).

Apesar de pequenas oscilações, o escore de auscultação abdominal basal no grupo controle foi de 10,5 (10 a 16) e nenhuma alteração significativa foi detectada por 2 horas após a administração de solução salina. Após a administração de 0,5 mg/kg de metadona, a motilidade intestinal diminuiu significativamente aos 15 minutos (Figura 7), permanecendo diminuída por 2 horas, com maior redução aos 30 minutos (Tabela 4). Houve diferença significativa no grupo MET_{0,5} em relação aos grupos controle e MET_{0,2} dos 15 aos 90 minutos e as 2 horas o grupo MET_{0,5} diferiu significativamente apenas do grupo MET_{0,2}. Não houve diferença significativa entre os grupos MET_{0,2} e MET_{0,5} das 3 as 8 horas (Figura 7). Apesar da redução dos escores de auscultação após a administração de 0,5 mg/kg de metadona, nenhum dos animais apresentou sinais clínicos de desconforto abdominal (cólica).

Tabela 1: Valores médios (\pm desvio padrão) do tempo de latência para o reflexo de retirada do membro (segundos) em resposta ao estímulo térmico, após a administração intravenosa de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET_{0,2}; 0,5 mg/kg - MET_{0,5}) em equinos (n=6).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Tratamentos</i>		
	Controle	MET_{0,2}	MET_{0,5}
Basal	4,54 \pm 0,85	4,09 \pm 1,19	3,21 \pm 0,83
15	4,56 \pm 1,02 ^A	3,94 \pm 1,37 ^A	8,61 \pm 1,60 ^{B*}
30	4,50 \pm 0,57 ^A	4,08 \pm 1,54 ^A	9,11 \pm 1,97 ^{B*}
60	4,72 \pm 0,96	3,47 \pm 0,61	4,00 \pm 1,21
120	-	3,29 \pm 1,75	3,12 \pm 0,54
180	-	3,25 \pm 0,69	3,28 \pm 1,21

^{A,B} Diferença significativa entre os tratamentos (médias seguidas da mesma letra não diferem entre si). * Diferença significativa em relação ao momento basal ao longo do tempo em cada grupo (tempo 0)(p<0,05)

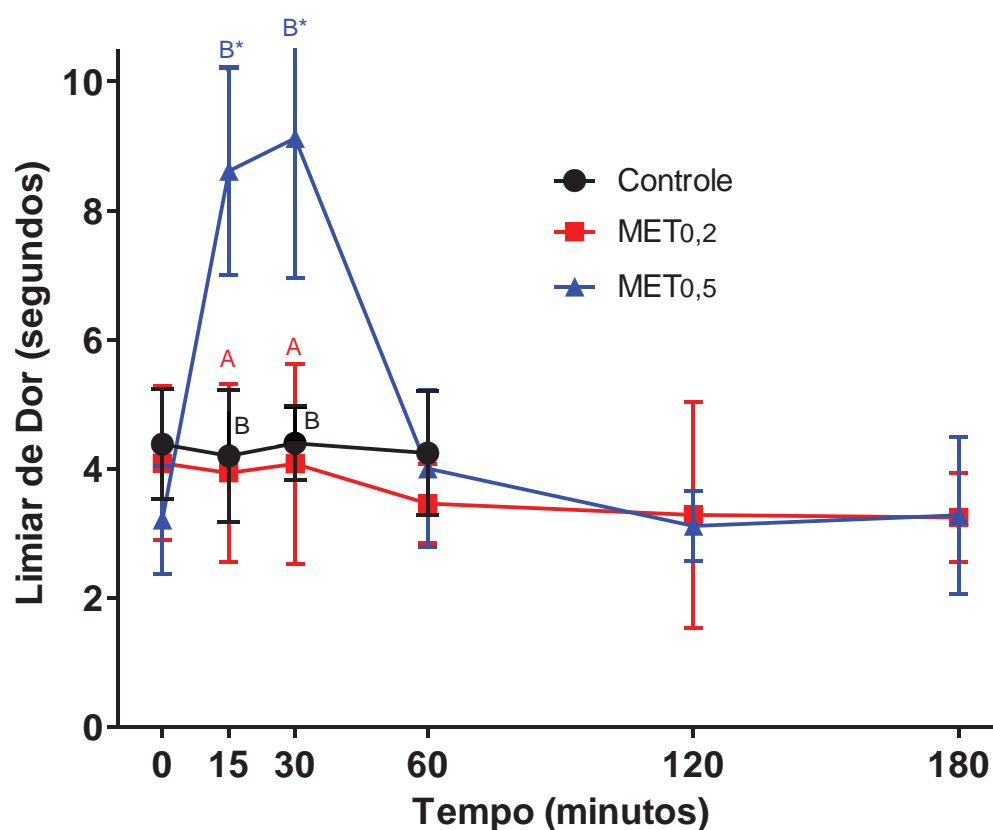


Figura 4: Valores médios (\pm desvio padrão) do tempo de latência para o reflexo de retirada do membro (segundos) em resposta ao estímulo térmico após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET_{0,2}; 0,5 mg/kg - MET_{0,5}) de equinos (n=6).

^{A,B} Diferença significativa entre os tratamentos (médias seguidas da mesma letra não diferem entre si). * Diferença significativa em relação ao momento basal ao longo do tempo em cada grupo (tempo 0). ($p < 0,05$)

Tabela 2: Valores médios (\pm desvio padrão) do limiar de dor (Volts) em resposta ao estímulo elétrico após a administração intravenosa de solução salina (controle) e metadona (0,2 mg/kg -MET_{0,2}) em equinos (n=6).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Tratamentos</i>	
	Controle	MET_{0,2}
Basal	3,92 \pm 1,02	3,40 \pm 0,42
15	3,83 \pm 0,86	4,40 \pm 0,75*
30	3,75 \pm 1,14	4,70 \pm 0,83*
60	3,88 \pm 0,95	4,27 \pm 0,69*
120	-	4,67 \pm 0,77*
180	-	4,27 \pm 0,78*

* Diferença significativa em relação ao momento basal ao longo do tempo em cada grupo (tempo 0). (p<0,05)

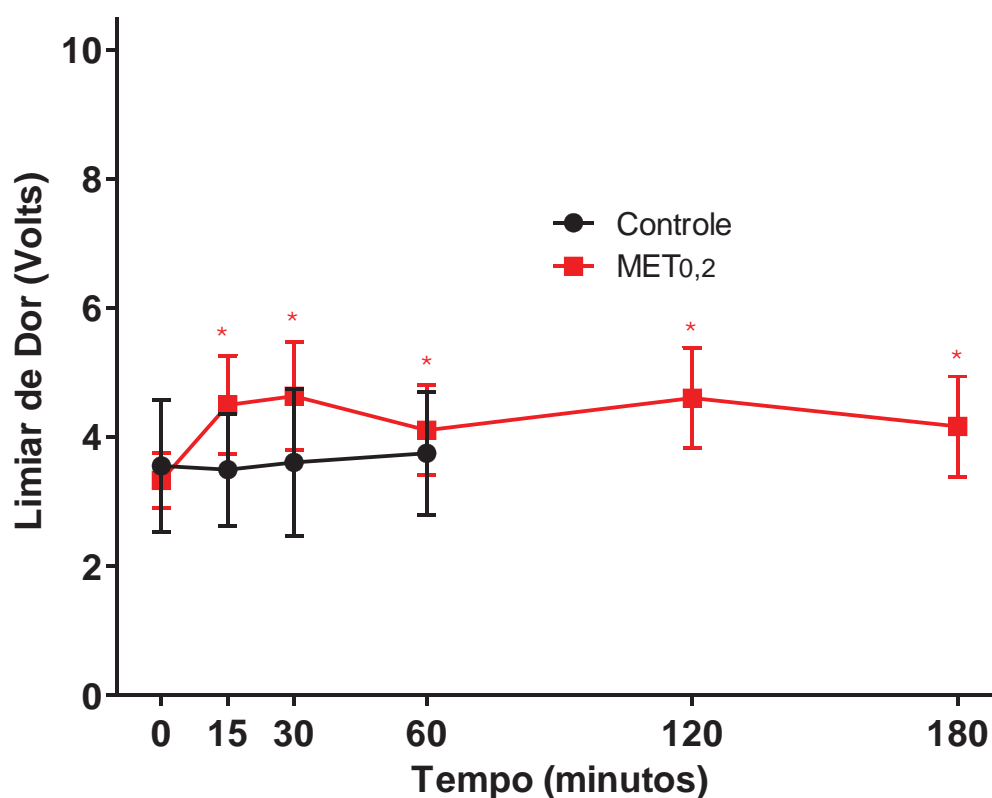


Figura 5: Valores médios (\pm desvio padrão) do limiar de dor (Volts) após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET_{0,2}) em equinos (n=6).

* Diferença significativa em relação ao momento basal ao longo do tempo em cada grupo (tempo 0). (p<0,05)

Tabela 3: Medianas da atividade locomotora espontânea após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET0,2; 0,5 mg/kg - MET0,5) em equinos (n=6).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Tratamentos</i>		
	Controle	MET0,2	MET0,5
-20	13	17	9
-10	6	10	9
Basal	3	6	14
5	18	26	63*
15	8 ^A	49 ^{AB*}	104 ^{B*}
30	4 ^A	78 ^{AB*}	103 ^{B*}
60	6 ^A	69 ^{AB*}	123 ^{B*}
90	12 ^A	56 ^{A*}	84 ^{B*}
120	9 ^A	25 ^{AB*}	68 ^{B*}
180	10	13	22
240	5	15	10
300	7	8	11

^{A,B} Diferença significativa entre os tratamentos (médias seguidas da mesma letra não diferem entre si). * Diferença significativa em relação ao momento basal ao longo do tempo em cada grupo (tempo 0). (p<0,05)

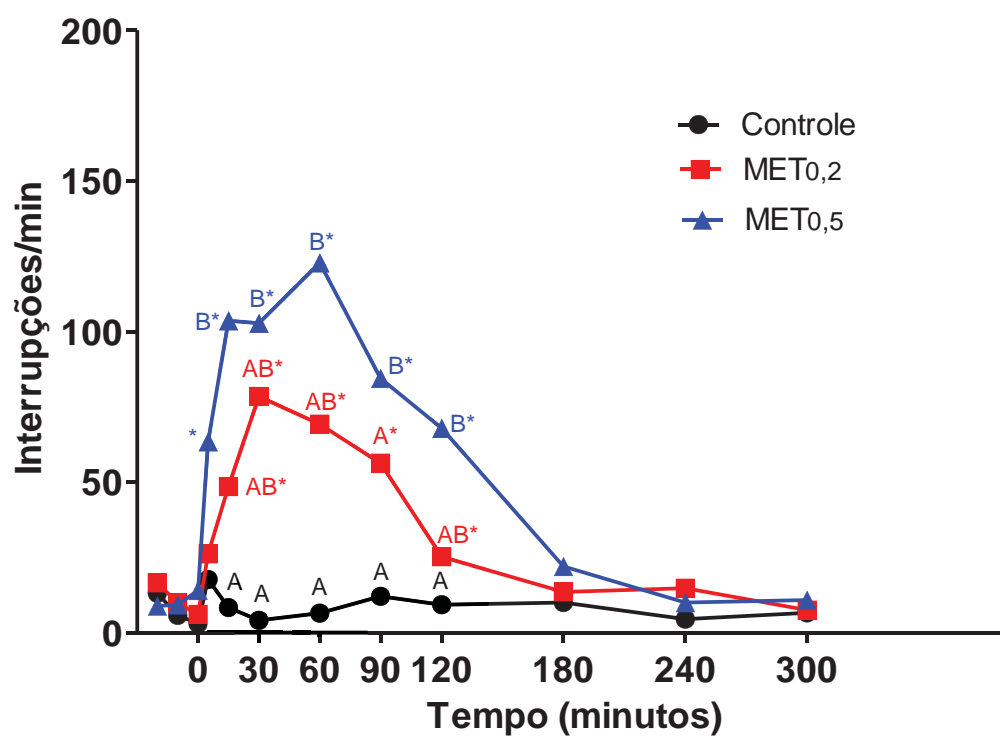


Figura 6: Medianas da atividade locomotora espontânea após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET0,2; 0,5 mg/kg - MET0,5) em equinos (n=6).

^{A,B} Diferença significativa entre os tratamentos (médias seguidas da mesma letra não diferem entre si). * Diferença significativa em relação ao momento basal ao longo do tempo em cada grupo (tempo 0). ($p < 0,05$)

Tabela 4: Medianas dos escores da auscultação intestinal após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET0,2; 0,5 mg/kg - MET0,5) em equinos (n=6).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Tratamentos</i>		
	Controle	MET0,2	MET0,5
Basal	10,5	11,5	12,5
15	10,5 ^A	10,5 ^A	7 ^{B*}
30	9,5 ^A	12 ^A	2,5 ^{B*}
60	10 ^A	11,5 ^A	4,5 ^{B*}
90	9,5 ^A	12 ^A	4,5 ^{B*}
120	9,5 ^{AB}	13,5 ^A	6,5 ^{B*}
180	-	13	9,5
240	-	13,5	9,5
360	-	13	12,5
480	-	12,5	13

^{A,B} Diferença significativa entre os tratamentos (médias seguidas da mesma letra não diferem entre si). * Diferença significativa em relação ao momento basal ao longo do tempo em cada grupo (tempo 0). (p<0,05)

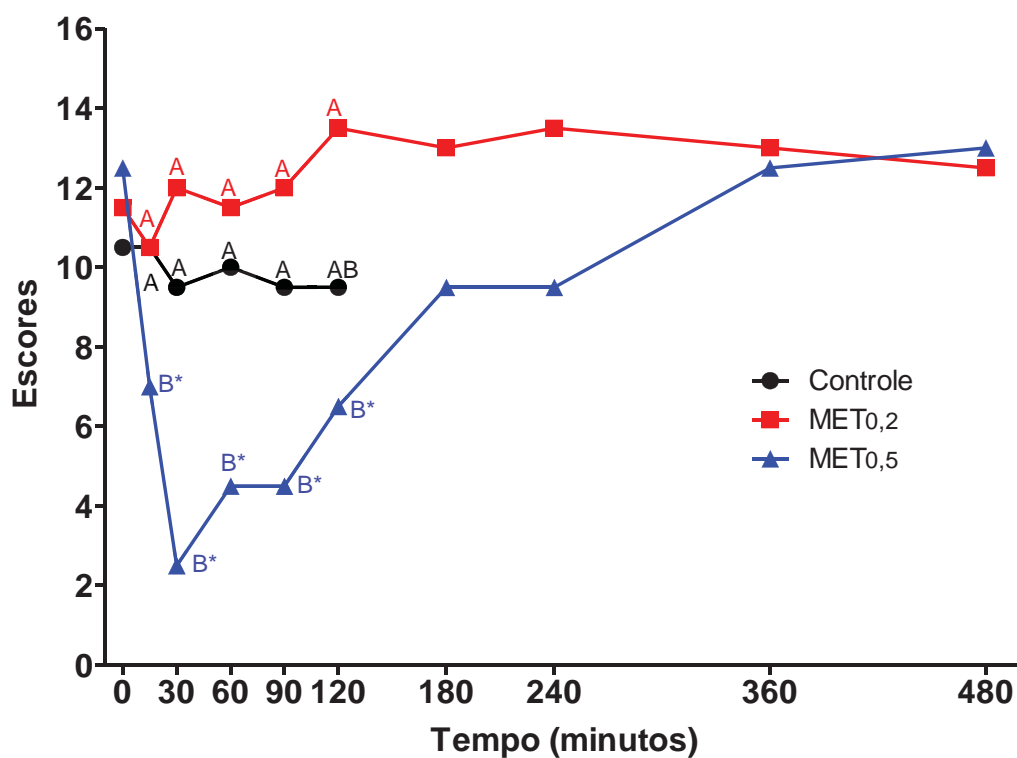


Figura 7: Medianas dos escores da auscultação intestinal após a administração IV de solução salina (controle) ou metadona (0,2 mg/kg - MET0,2; 0,5 mg/kg - MET0,5) em equinos (n=6).

^{A,B} Diferença significativa entre os tratamentos (médias seguidas da mesma letra não diferem entre si). * Diferença significativa em relação ao momento basal ao longo do tempo em cada grupo (tempo 0). (p<0,05)

Discussão

6. *Discussão*

Em medicina veterinária, a terapia analgésica em equinos com opioides ainda é muito limitada, principalmente pelos poucos estudos que avaliam os efeitos analgésicos e colaterais, como excitação, alterações hemodinâmicas e gastrointestinais. Frente a este fato, há a necessidade de mais estudos para prover informação relativa a técnicas analgésicas seguras em equinos.

Os estímulos nociceptivos empregados neste estudo foram os somáticos térmico e elétrico. A lâmpada de calor é um método amplamente utilizado como teste nociceptivo em equinos e tem sido utilizada para alguns fármacos como α_2 -agonistas e opioides (Pipi & Lumb, 1979; Kamerling et al, 1985a; Kamerling et al., 1988a; Zamur, 2002; Carregaro et al., 2007; Dhanjal et al., 2009).

Hamm et al (1995), determinaram o limiar nociceptivo após alteração da corrente elétrica contínua, utilizando eletrodos colocados na banda coronária e na cernelha de equinos para avaliar o efeito antinociceptivo e sedativo da detomidina e romifidina em equinos. Este estímulo foi utilizado por Schatzmann et al (2001) na banda coronária para avaliar o efeito sinérgico do butorfanol e da levometadona associados à detomidina em equinos. No presente estudo, utilizou-se metodologia semelhante com a diferença que o incremento na voltagem foi a variável do método e não o incremento da corrente elétrica. Com esse estímulo, foram observadas respostas claras e bem definidas de retirada do membro de equinos estimulados na banda coronária.

Em equinos, a percepção da nocicepção é difícil de ser avaliada, pois os resultados são influenciados pelo aumento da ALE e dos efeitos excitatórios. Com isso, a interpretação da resposta do animal ao estímulo nociceptivo pode ser errônea. Tanto que para o estímulo elétrico, que foi realizado dentro de um tronco de contenção, a excitação produzida pela metadona impossibilitou que os eletrodos e jacarés permanecessem fixos e posicionados de forma correta, além do risco do animal se machucar, não sendo possível realizar este tipo de estímulo submetidos a administração da dose mais alta do opioide. Já durante a avaliação nociceptiva para o estímulo térmico, os animais foram mantidos em baias, e por meio da contenção dos mesmos foi possível realizá-lo.

Devido aos efeitos excitatórios e aumento da ALE, Carregaro et al. (2007) avaliaram o efeito antinociceptivo da buprenorfina direcionando a luz para a região da cernelha, avaliando-se o frêmito cutâneo. Os autores observaram um menor tempo de latência do frêmito cutâneo, em relação ao tempo até a retirada do membro, o qual pode ter sido influenciado pelo aumento do tônus muscular e espasmos normalmente observados com o uso de opioides em cavalos (Kalpravidh et al., 1984a; Mircica et al., 2003). Sugeriram que mesmo com aumento na atividade locomotora, a LRRM parece ser melhor que a latência para o reflexo do frêmito cutâneo (LRFC) para a avaliação da antinocicepção. Somando-se a resposta menos evidente previamente reportada, às dificuldades em se executar os testes em ambiente isento de moscas, aliado a boa acuidade da avaliação da LRRM, optou-se por não se usar a avaliação da resposta ao estímulo nociceptivo térmico aplicado na cernelha. Tendo em vista que as médias basais foram uniformes e com pequeno desvio-padrão, demonstra-se que a utilização do membro para a realização do estímulo nociceptivo não comprometeu a avaliação. Além disso, durante o pico analgésico os valores chegaram ao tempo máximo de estimulação de 10 segundos.

Neste estudo constatou-se um efeito dose-dependente tanto na ALE quanto na LRRM após o estímulo térmico. Uma vez que os no grupo MET_{0,5} a resposta nociceptiva chegou ao tempo máximo de estimulação, no entanto por apenas 30 minutos. O diferencial entre a ALE e o efeito antinociceptivo está no período de ação, já que o aumento da ALE perdurou por um tempo maior que o efeito antinociceptivo. Esta diferença também foi observada por Carregaro et al. (2007) que compararam as doses de 5 µg/kg e 10 µg/kg de buprenorfina IV, sendo observado aumento dose-dependente na atividade locomotora espontânea, enquanto que apenas a dose de 10 µg/kg induziu efeito antinociceptivo.

Pippi & Lumb (1979) avaliaram a analgesia da metadona (0,22 mg/kg) em equinos para o estímulo nociceptivo térmico e não foi observado aumento no limiar nociceptivo quando comparado com valores basais. Tanto o estudo anterior, quanto este em pauta sugerem que a dose utilizada clinicamente recomendada deva ser aumentada para que seja efetiva em animais sadios e desprovidos de dor, no entanto há aumento dos efeitos colaterais. Esta observação está de acordo com os resultados deste estudo, uma vez que a metadona causou aumento nos efeitos colaterais de forma dose-dependente, sendo que apenas com a dose de 0,5 mg/kg

de metadona houve efeito antinociceptivo para o estímulo térmico, chegando-se ao tempo máximo de estímulo (10 segundos).

O efeito antinociceptivo da metadona também tem sido avaliado em outras espécies. Em gatos, após administração SC deste opioide houve aumento significativo no limiar térmico e pressórico, de 1 a 3 horas e de 45 a 60 minutos respectivamente (Steagall et al., 2006). Esta diferença no início de ação pode estar relacionada com a via de administração. Já em ovinos, não foi detectado nenhum efeito antinociceptivo após administração de 0,2 a 1 mg/kg IM para o estímulo nociceptivo elétrico (Grant et al., 1996). A falha da metadona em produzir algum efeito analgésico significativo pode estar relacionada com a natureza do estímulo nociceptivo, a via de administração que pode alterar o perfil farmacológico dos fármacos e as alterações comportamentais como aumento na ALE, que pode levar a uma interpretação errada da resposta ao estímulo (Grant et al., 1996).

Devido a estimulação central causada pelos opióides μ , a administração local destes fármacos tem sido estudada. A administração de metadona pela via epidural na dose de 0,1 mg/kg em equinos produziu aumento significativo no tempo de reação ao estímulo nociceptivo térmico durante 5 horas, enquanto a lidocaína administrada pela mesma via resultou em 3 horas de analgesia (Olbrich & Mosing, 2003). Em outro estudo a administração de metadona hiperbárica subaracnóide, produziu analgesia de 2 horas, além disso, nestes estudos não foram observados efeitos colaterais comportamentais e hemodinâmicos, o que pode ser considerado uma vantagem em relação a administração parenteral de opióides (Natalini et al., 2006). A administração oral de metadona (0,1; 0,2 e 0,4 mg/kg) foi bem tolerada em equinos, houve rápida absorção e sem efeitos adversos como excitação, sedação, alterações comportamentais e fisiológicas (Linardi et al., 2009). Neste caso ocorreu uma concentração plasmática de metadona alta e rápida, consistente com analgesia em outras espécies, mas ainda não está determinada em equinos (Linardi et al., 2009).

Neste estudo, verificou-se um aumento significativo na ALE após a administração de metadona. No grupo MET_{0,5} e MET_{0,2}, este efeito foi observado aos 5 e 15 minutos respectivamente, perdurando por 2 horas. Este curto período de

latência também é observado em humanos (Coda, 2009) e pode ser devido a metadona possuir característica lipofílica e alta ligação as proteínas plasmáticas.

A excitação do SNC foi descrita após a administração de opioides pela via IV em equinos (Kamerling et al., 1985b). Narcóticos, como morfina, fentanil, pentazocina e butorfanol são potentes estimulantes locomotores em equinos, por mecanismo ainda não esclarecido, mas pode ser resultado da liberação cerebral de noriepinefrina e dopamina (Combie et al., 1979; Combie et al., 1981, Kamerling et al., 1985b). O aumento na ALE e a excitação do SNC produzida pela metadona provavelmente ocorra via receptores opioides, uma vez que com administração de naloxona (0,01 mg/kg IV) houve reversão completa das alterações comportamentais desencadeadas pela metadona.

A naloxona quando administrada na dose de 0,015 mg/kg bloqueou completamente a atividade locomotora induzida pelo fentanil (0,02 mg/kg IV) em equinos e a estimulação motora produzida pela morfina administrada na dose de 2,4 mg/kg IV foi reduzida em 75% pela naloxona (Combie et al., 1981). Já a acepromazina, bloqueou parcialmente as respostas motoras induzidas pelo fentanil e a morfina, o que indica a participação de outros sistemas receptores, tanto adrenérgico como dopaminérgico (Combie et al., 1981). Entretanto, em outro estudo, os antagonistas puros da dopamina não inibiram a atividade locomotora induzida pelo alfentanil e ambos os fármacos pareceram provocar estimulação locomotora por si mesmo, demonstrando assim que o envolvimento da dopamina neste mecanismo não é claro em equinos (Pascoe & Taylor, 2003).

Em estudo anterior, a metadona nas doses de 0,5 e 1 mg/kg IV aumentou as respostas locomotoras, que atingiu um pico com cerca de uma hora e durou em torno de quatro horas com a dose mais alta (Combie et al., 1979). Neste estudo, com a dose mais alta todos os equinos ficaram incoordenados e batendo repetidamente nas paredes da instalação com tendência a cair, enquanto que com a dose menor foi observado incoordenação em dois de quatro animais. No presente estudo, com a dose maior de metadona o pico da ALE ocorreu em uma hora e perdurou duas horas. Tal diferença pode estar relacionada à variação individual, inter-racial, metodologia utilizada e a dose. Observou-se que quanto maior a dose mais rápido e prolongado é o efeito da metadona. Além disso, todos os animais ficaram atáxicos,

mas não a ponto de cair e apenas um deles se batia nas paredes da baia enquanto caminhava.

Muitos relatos têm demonstrado que opioides causam excitação e aumento na atividade locomotora em equinos (Kamerling et al., 1988a; Combie et al., 1981; Pascoe et al., 1991; Mama et al., 1993; Szöke et al., 1998; Sellon et al., 2001; Boscan et al., 2006a; Carregaro et al., 2007). Todos estes efeitos são dose-dependentes e a administração de um sedativo, como α_2 -agonistas, antes do opioide pode reduzir a extensão de sua expressão (Combie et al., 1981). A maior sensibilidade aos fármacos opioides na espécie equina deve-se a uma elevada concentração de receptores μ de alta afinidade, a qual é parecida com a do córtex cerebral de ratos, assim como de outras espécies nas quais ocorre estimulação do SNC induzida por opioides, como o camundongo e porquinho da índia (Thomasy et al., 2007). Deve-se também à diferença na distribuição dos receptores α_2 -adrenérgicos e nos tipos de receptores opioides no encéfalo equino (Hellyer et al., 2003).

Em todos os estudos anteriores, a estimulação do SNC ocorreu em animais desprovidos de dor. Aparentemente estes efeitos não ocorrem patologias que cursam com dor. Em estudo retrospectivo a administração de baixas doses de morfina (100-170 $\mu\text{g}/\text{kg}$) no período intra-operatório não foi associado com alterações comportamentais na recuperação (Mircica et al., 2003). Adicionalmente, a qualidade da recuperação foi melhor nos equinos que receberam morfina quando comparado aos que não receberam (Love et al., 2006; Clark et al., 2005). A ausência destas alterações comportamentais pode ser devido ao efeito sedativo dos fármacos utilizados como parte da anestesia e por ser uma dor real com o opioide exercendo seu efeito analgésico (Clutton, 2010).

A redução na motilidade intestinal já era esperada, uma vez que os opioides produzem um aumento no tônus da musculatura lisa do intestino, e os eventos mecânicos sequenciais que são responsáveis pela motilidade propulsiva são inibidos, o que resulta em constipação (Roger et al., 1994) . Diante deste cenário, a metadona assim como a morfina reduzem a atividade propulsiva do intestino e podem causar constipação (Coda, 2009). Esta redução foi inversamente proporcional a dose utilizada, uma vez que com a dose de 0,2 mg/kg IV não houve

redução nos escores de auscultação e com 0,5 mg/kg IV a redução foi intensa, principalmente aos 30 minutos voltando aos valores normais após duas horas.

Os efeitos adversos observados com administração de metadona, como aumento da ALE poderia ser minimizado ou abolido com a associação a outros fármacos, como sedativos ou tranquilizantes. Entretanto, alguns destes fármacos como os α_2 -agonistas, os quais possuem os mesmos efeitos sobre a motilidade gastrointestinal poderiam agravar este quadro. Merritt et al. (1998) demonstraram que a detomidina na dose de 0,0125 mg/kg e a associação de xilazina (0,5 mg/kg) com o butorfanol (0,05 mg/kg) causaram profundo efeito supressor na motilidade duodenal, sugerindo que o uso destes agentes para o manejo da cólica deve ser levado em consideração.

Por outro lado em estudo realizado pelo nosso grupo, demonstrou-se que tanto a administração da associação de detomidina (10 μ g/kg) e metadona (0,2 mg/kg) IV como a isolada de detomidina reduziram significativamente a motilidade gastrointestinal em relação aos valores basais aos 30 minutos e uma hora, entretanto não houve diferença entre os grupos (Pignaton, 2011). Isto está de acordo com nossos dados, uma vez que a metadona na dose de 0,2 mg/kg não reduziu a motilidade, sendo este efeito supressor ação do α_2 -agonista. Em animais submetidos a cirurgias não abdominais, a redução temporária da motilidade intestinal produzida pela metadona pode não apresentar maiores transtornos ao animal, uma vez que a constipação acentuada ocorreu por 30 minutos elevando-se gradualmente até os valores basais.

Muitos estudos demonstram a redução da motilidade gastrointestinal após a administração de opioides (Roger et al., 1994; Sellon et al., 2001, Boscan et al, 2006a, Boscan et al., 2006b; Carregaro et al., 2006). A administração IV de fentanil (0,01 e 0,05 mg/kg) em pôneis, induziu uma fase inibitória relacionada com a dose, em que os complexos migratórios foram abolidos e em baixas doses induziu o fechamento do esfíncter cecocólico, fazendo com que ocorresse a parada do trânsito intestinal (Roger et al., 1994). U50488H, um kappa agonista induziu uma fase dose-dependente de inibição da motilidade intestinal, mas a migração dos complexos associados com a abertura do esfíncter cecocólico ocorreu em uma taxa normal,

indicando que os agonistas kappa não atrasam o trânsito intestinal, ao contrário dos agonistas μ (Roger et al., 1994).

Embora a administração única IV de butorfanol (0,1 mg/kg) ter sido associada com efeitos adversos no comportamento e no trato gastrointestinal incluindo ataxia, redução nos borborigmos, com redução no escore de auscultação e redução da defecação (Sellon et al., 2001), a administração de butorfanol em infusão contínua durante 24 horas (0,0027 mg/kg/h), resultou em menor interferência nos escores de auscultação abdominal e o tempo médio de transito intestinal não diferiu do controle em nenhum dos tratamentos (Sellon et al., 2001). A administração de 10 μ g/kg IV de buprenorfina reduziu os escores de auscultação quando comparado com os valores basais dos 15 minutos até 4 horas após sua administração, no entanto nenhum dos animais apresentou sinais de desconforto abdominal (Carregaro et al., 2006). Da mesma forma com a metadona no presente estudo, também não foram observados sinais de desconforto abdominal após o período de avaliação.

Boscan et al. (2006a) avaliaram os efeitos da morfina na função do trato gastrointestinal em equinos e observaram que a administração IV de 0,5 mg/kg de morfina a cada 12 horas alterou o comportamento, reduziu o número de movimentos intestinais, a quantidade de fezes produzida e a umidade do conteúdo fecal e aumentou o tempo de trânsito do trato gastrointestinal, demonstrando que esta dose pode causar efeitos deletérios na função do trato gastrointestinal por quatro a seis 6 horas. No entanto, a dose utilizada no estudo citado anteriormente é mais alta que a utilizada na rotina clínica. Em outro estudo, a administração do opioide antagonista N-metilnaltrexona juntamente com a morfina, não inibiu os efeitos excitatórios da morfina e preveniu em parte os efeitos depressores do trato gastrointestinal pela morfina (Boscan et al., 2006b). Esta reversão parcial pode ser devido a alta concentração de morfina ocupando os receptores, pelo efeito da metilnaltrexona ser mais transitório que o da morfina ou os efeitos da morfina no trato gastrointestinal serem mediados parcialmente em nível de SNC (Boscan et al., 2006b).

A metilnaltrexona, um opioide antagonista dos receptores μ , não ultrapassa a barreira hematoencefálica ou reverte a analgesia da metadona (Davis & Walsh, 2001). Em humanos, a metilnaltrexona quando administrada pela via IV pode reverter a constipação induzida pelo uso crônico de metadona e melhorar o tempo

de trânsito oral-cecal por bloqueio seletivo nos receptores μ localizados periféricamente, neste caso no trato gastrointestinal (Yuan et al., 1999; Yuan et al., 2000), poupando os efeitos dos opioides no SNC, principalmente a analgesia (Yuan et al., 2000). Esta pode ser uma alternativa viável para prevenir os efeitos dos μ agonistas no trato gastrointestinal sem reverter a analgesia, no entanto, outros estudos são necessários para elucidar este mecanismo e avaliar seu efeito quando associado a metadona em equinos.

Alguns estudos demonstram que o uso de doses baixas de morfina no período intra-operatório não está relacionado com o desenvolvimento de cólica pós-operatória (Mircica et al., 2003; Andersen et al., 2006). Além disso, outros fatores podem favorecer o desenvolvimento de distúrbios na motilidade, como a hospitalização, mudanças de manejo e alimentação, bem como a dor, e estes fatores também devem ser levados em consideração.

Conclusões

7. Conclusões

- Apenas a dose de 0,5 mg/kg IV de metadona promove efeito antinociceptivo térmico por 30 minutos.
- A metadona produz aumento dose-dependente na ALE além de alterações comportamentais.
- Apenas a dose de 0,5 mg/kg IV de metadona reduz a motilidade intestinal por duas horas, mas sem provocar sinais de cólica.

Referências

8. Referências

- Andersen MS, Clark L, Dyson SJ, Newton JR. Risk factors for colic in horses after general anaesthesia for MRI or nonabdominal surgery: absence of evidence of effect from perianaesthetic morphine. *Eq Vet J* 2006; 38(4):368-374.
- Bennett RC, Steffey EP. Use of opioids for pain and anesthetic management in horses. *The Vet Clin Equine Practice* 2002; 18:47-60.
- Bley CR, Neiger-Aeschbacher G, Busato A, Schatzmann U. Comparison of perioperative racemic methadone, levo-methadone and dextromoramide in cats using indicators of post-operative pain. *Vet Anaesth Analg* 2004; 31:175-182.
- Boscan P, Van Hoogmoed LM, Farver TB et al. Evaluation of the effects of the opioid agonist morphine on gastrointestinal tract function in horses. *Am J Vet Res* 2006a; 67(6):992-996.
- Boscan P, Van Hoogmoed LM, Pypendop BH, Farver TB, Snyder JR. *Am J Vet Res* 2006b; 67(6): 998-1004.
- Brown R, Kraus C, Fleming M et al. Methadone: applied pharmacology and use as adjunctive treatment in chronic pain. *Postgrad Med J* 2004; 80:654-659.
- Carregaro AB, Teixeira Neto FJ, Beier SL, Luna SPL. Cardiopulmonary effects of buprenorphine in horses. *Am J Vet Res* 2006; 67(10):1675-1680.
- Carregaro AB, Luna SPL, Mataqueiro MI, Queiroz-Neto A. Effects of buprenorphine on nociception and spontaneous locomotor activity in horses. *Am J Vet Res* 2007; 68(3):246-250.
- Chui PT; Gin T. A double-blind randomised trial comparing postoperative analgesia after perioperative loading doses of methadone or morphine. *Anaesth Intensive Care* 1992 ; 20(1):46-51.
- Clark L, Clutton RE, Blissitt KJ, Chase-Topping ME. Effects of peri-operative morphine administration during halothane anaesthesia in horses. *Vet Anaesth Analg* 2005; 32:10-15.
- Clutton Opioid Analgesia in Horses. *Vet Clin Eq* 2010; 26:493-514.
- Coda BA. Opioids. In.: Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK, Cahalan MK, Stock MC. *Clinical Anesthesia*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009. p.465-497.

- Combie J, Dougherty J, Nugent E, Tobin T. The pharmacology of narcotic analgesics in the horse. IV, Dose and time response relationships for behavioral responses to morphine, meperidine, pentazocine, anileridine, methadone, and hydromorphone. *Narcotic Analgesics* 1979; 3:377-385.
- Combie J, Shults T, Nugent EC et al. Pharmacology of narcotic analgesic in the horse: selective blockade of narcotic-induced locomotor activity. *Am J Vet Res* 1981; 42:716-721.
- Davis MP, Walsh D. Methadone for relief of cancer pain: a review of pharmacokinetics, pharmacodynamics, drug interactions and protocols of administration. *Support Care Cancer* 2001; 9:73-83.
- Dhanjal JK, Wilson DV, Robinson NE, Tobin T, Dirokulu L. Intravenous tramadol: effects, nociceptive properties and pharmacokinetics in horses. *Vet Anaesth Analg* 2009; 36:581-590.
- Di Chiara G, Imperato A. Opposite effects of mu and kappa opiate agonists on dopamine release in the nucleus accumbens and in the dorsal caudate of freely moving rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 244(3):1067-1080.
- Dobromylskyj P. Assessment of methadone as an anaesthetic premedicant in cats. *J Small Ani Pract* 2008; 34(12):604-608.
- Eap CB, Buclin T; Baumann P. Interindividual variability of the clinical pharmacokinetics of methadone: implications for the treatment of opioid dependence. *Clinical Pharmacokinetics* 2002; 41:1153–1193.
- Faisinger R, Schoeller T, Bruera E. Methadone in the management of cancer pain: a review. *Pain* 1993; 52: 137–47.
- Foster DJR; Somogyi AA; Bochner F. Methadone N-demethylation in human liver microsome: lack of stereoselectivity and involvement of CYP3A4. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 47:403-412.
- Garofalo NA. Botucatu. Alterações hemodinâmicas e neuroendócrinas associadas ao uso de metadona em cães conscientes. [dissertação] Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2010.
- Gourlay GK, Wilson PR, Glynn CJ. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of methadone during the perioperative period. *Anesthesiology* 1982; 57:458-467.
- Gourlay GK, Willis RJ, Wilson PR. Postoperative pain control with methadone: influence of supplementary methadone doses and blood concentration – response relationships. *Anesthesiology* 1984; 61:19-26.
- Gourlay GK, Willis RJ, Lamberty J. A double-blind comparison of the efficacy of methadone and morphine in postoperative pain control. *Anesthesiology* 1986; 64:322-327.

- Grant, C, Upton RN, Kuchels TR. Efficacy of intra-muscular analgesics for acute pain in sheep. *Aust Vet J* 1996; 73(4):129-132.
- Hamm D, Turchi P, Jöchle W. Sedative and analgesic effects of detomidine and romifidine in horses. *Vet Rec* 1995; 136, 324-327.
- Hellyer PW, Bai L, Supon J, Quail C, Wagner AE, Mama KR, Magnusson KR. Comparison of opioid and alpha-2 adrenergic receptor binding in horse and dog brain using radioligand autoradiography. *Vet Anaesth Analg* 2003; 30:172-182.
- Holtman J, Wala EP. Characterization of the antinociceptive and pronociceptive effects of methadone in rats. *Anesthesiology* 2007; 106(3):563-571.
- Ingvast-Larsson C, Holgersson A, Bondesson U, Lagerstedt AS, Olsson K. Clinical Pharmacology of methadone in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2010; 37:48-56.
- Inturrisi CE. Clinical Pharmacology of opioids for pain. *The Clin J Pain* 2002; 18:S3-S13.
- Inturrisi CE. Pharmacology of methadone and its isomers. *Minerva Anestesiol* 2005 71:435-437.
- Jöchle W, Hamm D. Sedation and analgesia with Domosedan[®] (detomidina hydrochloride) in horses: dose response studies on efficacy and its duration. *Acta Vet Scan* 1986; 82:69-84
- Kalpravidh, M, Lumb WV, Wright M, Heath, RB. Effects of butorphanol, flunixin, levorphanol, morphine, and xilazine in ponies. *Am J Vet Res* 1984a; 45(2):217-223.
- Kalpravidh, M, Lumb WV, Wright M, Heath, RB. Analgesic effects of butorphanol in horses: dose-response studies. *Am J Vet Res* 1984 b; 45(?):211-216.
- Kamerling SG, Wekman TJ, Dequik DJ, Tobin T, T. A method for studying cutaneous pain perception and analgesia in horses. *J Pharmacol Method* 1985a; 13:267-74.
- Kamerling SG, Dequik DJ, Wekman TJ, Tobin T. Dose-related effects of fentanyl on autonomic and behavioral responses in performance horse. *Gen Pharmacol* 1985b; 16(3):253-8.
- Kamerling SG, Wekman TJ, Donahoe J, Tobin T. Dose related effects of the kappa agonist U-50, 488H on behaviour, nociception and autonomic response in the horse. *Equine Vet Journal* 1988a; 20(2):114-118.
- Kamerling SG, Cravens WMT, Bagwell CA. Objective assessment of detomidine-induced analgesia and sedation in the horse. *Eur J Pharmacol* 1988b; 151:1-8.

- Kukanich B, Lascelles BD, Aman AM, Mealey KL, Papich MG. The effects of inhibiting cytochrome P450 3A, p-glycoprotein, and gastric acid secretion on the oral bioavailability of methadone in dogs. *J Vet Pharmacol Therap* 2005; 28:461-466.
- Kukanich B, Borum SL. The disposition and behavioral effects of methadone in Greyhounds. *Vet Anaesth Analg* 2008; 35:242-248.
- Leibetseder EN, Mosing M, Jones RS. A comparison of extradural and intravenous methadone on intraoperative isoflurane and postoperative analgesia requirements in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2006; 33:128-136.
- Leppert W. The role of methadone in cancer pain treatment – a review. *Inter J Clin Pract* 2009; 63(7):1095-1109.
- Linardi RL, Stokes AM, Barker SA et al. Pharmacokinetics of the injectable formulation of methadone hydrochloride administered orally in horses. *J Vet Pharmacol Therap* 2009; 32:492-497.
- Lorena SERS, Luna SPL, Lascelles DXB, JE Corrente Attitude of Brazilian veterinarians in the recognition and treatment of pain in large animals. *Vet Anaesth Analg* 2010; 37:68.
- Love EJ, Lane JG, Murison PJ. Morphine administration in horses anaesthetized for upper respiratory tract surgery. *Vet Anaesth Analg* 2006; 33:179-188.
- Lugo RA; Satterfield KL; Kern SE. Pharmacokinetics of methadone. *J Pain Palliat Care Pharmacother* 2005; 19:13–24.
- Maiante AA, Teixeira-Neto FJ, Beier SL, Corrente JE, Pedroso CEBP. Comparison of the cardio-respiratory effects of methadone and morphine in conscious dogs. *J Vet Pharmacol Therap* 2009; 32(4): 317-328.
- Mama KR, Pascoe PJ, Steffey EP. Evaluation of the interaction of Mu and Kappa opioid agonists on locomotor behavior in the horse. *Can J Vet Res* 1993; 57:106-109.
- Merrit AM, Burrow JA, Hartless CS. Effect of xilazina, detomidine, and a combination of xylazine and butorphanol on equine duodenal motility. *Am J Vet Res* 1998; 59(5):619-623.
- Mircica E, Clutton RE, Kyles KW, Blissitt KJ. Problems associated with perioperative morphine in horses: a retrospective case analysis. *Vet Anaesth Analg* 2003; 30:147-155.
- Morelli M, Fenu S, Di Chiara G. Substantia nigra as a site of origin of dopamine-dependent motor syndromes induced by stimulation of mu and delta opioid receptors. *Brain Res* 1989; 487(1):120-130.

- Monteiro ER, Figueroa CDN, Choma JC, Campagnol D, Bettini CM. Effects of methadone, alone or in combination with acepromazine or xylazine, on sedation and physiologic values in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2008; 35(6):519-523.
- Monteiro ER, Junior AR, Assis HM, Campagnol D, Quitzan JG. Comparative study on the sedative effects of morphine, methadone, butorphanol or tramadol, in combination with acepromazine, in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2009; 36(1):25-33.
- Muir WW. Standing chemical restraint in horses. In: Muir WW, Hubbell JAE. *Equine Anesthesia Monitoring and Emergency Therapy*. St.Louis: Mosby – Year Book; 1991. p.247-280.
- Natalini CC, Polydoro AS, Linardi RL, Futema F. Analgesic effects of subarachnoidally administered hyperbaric opioids in horses. *Am J Vet Res* 2006; 67(6):941-946.
- Nolan AM, Besley W, Reid J, Gray G. The effects of butorphanol on locomotor activity in ponies: a preliminary study. *J Vet Pharmacol Therap* 1994; 17:323-326.
- Olbrich VH, Mosing MA. comparison of the analgesic effects of caudal epidural methadone and lidocaine in the horse. *Vet Anaesth Analg* 2003; 30:156-164.
- Pascoe JP, Black WD, Claxton JM, Sansom RE. The pharmacokinetics and locomotor activity of alfentanil in the horse. *J Vet Pharmacol Ther* 1991; 14(3):317-325.
- Pascoe JP. Opioids analgesics. *Vet Clin Nor Am Small Anim Pract* 2000; 30(4):757:772.
- Pascoe JP, Taylor PM. Effects of dopamine on alfentanil-induced locomotor activity in horses. *Vet Anaesth Analg* 2003; 30:165-171.
- Paulino C, Carvalho S. História da metadona. [Internet] 2000. [Acesso 2011 jan 18]. Disponível em: <http://www.fcsh.unl.pt/cadeiras/ciberjornalismo/ciber2000/metadona/metadonahistoria.html>.
- Pignaton W. Efeitos antinociceptivos, cardiorrespiratórios e gastrointestinais da detomidina associada ou não à metadona em equinos. [dissertação] Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2011.
- Pippi NL, Lumb WV. Objective tests of analgesic drugs in ponies. *Am J Vet Res* 1979; 40(8):1082-1086.
- Roger T, Bardon T, Ruckesbusch Y. Comparative effects of Mu and Kappa opiate agonists on the cecocolic motility in the pony. *Can J Vet Res* 1994; 58:163-166.

- Santiago-Palma J, Khojainova N, Kornick C, Fischberg DJ, Primavera LH, Payne R, Manfredi P. Intravenous methadone in the management of chronic cancer pain. *Am Cancer Society* 2001; 92(7):1919-1925.
- Schatzmann U, Armbruster S, Stucki F, Busato A, Kohler I. Analgesic effect of butorphanol and levomethadone in detomidine sedated horses. *J Vet Med A* 2001; 48:337-342.
- Sellon DC, Monroe VL, Roberts MC, Papich MG. Pharmacokinetics and adverse effects of butorphanol administered by single intravenous injection or continuous intravenous infusion in horses. *Am J Vet Res* 2001;62(2):183-188.
- Shaiova L. The Role of Methadone in the Treatment of Moderate to Severe Cancer Pain. *Support Cancer Ther* 2005 2(3):176-179.
- Sojka JE, Adams SB, Lamar CH, Eller LL. Effect of butorphanol, pentazocine, meperidine, or metoclopramide on intestinal motility in female ponies. *Am J Vet Res*. 1988; 49(4):527-9.
- Steffey EP, Eisele JH, Baggot JD. Interactions of morphine and isoflurane in horses. *Am J Vet Res* 2003; 64:166-175.
- Stegall PVM, Carnicelli P, Taylor PM, Luna SPL, Dixon M, Ferreira TH. Effects of subcutaneous methadone, morphine, buprenorphine and saline on thermal and pressure thresholds in cats. *J Vet Pharmacol Therap* 2006; 29:531-537.
- Szöke MO, Blais D, Cuvellez SG, Lavoie J.P. Effects of buprenorphine on cardiovascular and pulmonary function in clinically normal horses and horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res* 1998;59(10):1287-1291.
- Teixeira Neto FJ, Mcdonell WN, Black WD, Duronghphongtorn S. Effects of glycopyrrolate on cardiorespiratory function in horses anesthetized with halothane and xylazine. *Am J Vet Res* 2004a; 65(4): 456-463.
- Teixeira Neto FJ, Mcdonell WN, Black WD, Moraes AN, Duronghphongtorn S. Effects of a muscarinic type-2 antagonist on cardiorespiratory function and intestinal transit in horses anesthetized with halothane and xylazine. *Am J Vet Res* 2004b; 65(4): 464-472.
- Thomasy SM, Moeller BC, Stanley SD. Comparison of opioid receptor binding in horse, guinea pig, and rat cerebral cortex and cerebellum. *Vet Anaesth Analg* 2007; 34:351-358
- Tobin T, Combie J, Shults T, Dougherty J. The pharmacology of narcotic analgesics in the horse. III. Characteristics of the locomotor effects of fentanyl and apomorphine. *Pharmacology of Narcotic Analgesics* 1979; 3:284-288.

- Yaksh T.L. Pharmacology and mechanisms of opioid analgesic activity. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41:94-111.
- Yuan CS; Foss JF; O'Connor M. Gut motility and transit changes in patients receiving long-term methadone maintenance. *J Clin Pharmacol* 1998; 38:931-935.
- Yuan CS; Foss JF; O'Connor M; Osinski J; Roizen MF; Moss J. Effects of intravenous methylnaltrexone on opioid-induced gut motility and transit time changes in subjects receiving chronic methadone therapy: a pilot study. *Pain* 1999; 83:631-635.
- Yuan CS, Foss JF, O'Connor M. et al. Methylnaltrexone for reversal of constipation due to chronic methadone use. *J Am Med Assoc* 2000; 283:367-372.

Apêndice

APÊNDICE A – Valores individuais do tempo (segundos) de latência para o reflexo de retirada do membro (LRRM) de 6 equinos submetidos a administração intravenosa de solução salina ou metadona (0,2 mg/kg – MET_{0,2}; 0,5 mg/kg – MET_{0,5}).

Grupos		Momentos (min)				
Controle	Basal	15	30	60	120	180
Animal 1	4,52	3,53	4,59	3,80	-	-
Animal 2	3,6	4,23	3,55	3,80	-	-
Animal 3	4,56	3,77	4,74	3,72	-	-
Animal 4	3,15	3,42	3,97	4,60	-	-
Animal 5	5,38	6,19	5,16	6,06	-	-
Animal 6	5,07	4,08	4,37	3,5	-	-
MET_{0,2}	Basal	15	30	60	120	180
Animal 1	5,45	3,20	3,04	3,14	1,65	2,66
Animal 2	5,19	5,43	6,47	3,48	4,14	3,44
Animal 3	4,56	3,34	3,81	3,36	3,19	3,87
Animal 4	2,51	2,83	2,45	2,89	2,38	2,43
Animal 5	3,84	5,94	5,41	4,65	6,36	4,17
Animal 6	2,97	2,89	3,29	3,27	2,00	2,91
MET_{0,5}	Basal	15	30	60	120	180
Animal 1	2,60	5,67	4,71	2,86	2,40	2,42
Animal 2	3,12	8,61	10	6,18	3,68	5,60
Animal 3	2,46	10	10	3,75	3,43	3,26
Animal 4	2,84	8,17	10	3,13	2,73	2,59
Animal 5	4,72	9,83	10	4,56	3,65	3,43
Animal 6	3,53	9,39	10	3,56	2,80	2,40

APÊNDICE B – Valores individuais da voltagem para o reflexo de retirada do membro (VRRM) de 6 equinos submetidos a administração intravenosa de solução salina ou metadona (0,2 mg/kg – MET_{0,2}; 0,5 mg/kg – MET_{0,5}).

Grupos		Momentos (min)				
Controle	Basal	15	30	60	120	180
Animal 1	2,67	3,33	4,67	4,33	-	-
Animal 2	3,00	3,00	2,00	2,67	-	-
Animal 3	4,00	3,33	3,00	3,17	-	-
Animal 4	3,22	3,89	2,47	3,33	-	-
Animal 5	3,00	4,00	2,35	3,67	-	-
Animal 6	3,22	4,00	2,45	5,33	-	-
MET_{0,2}	Basal	15	30	60	120	180
Animal 1	3,33	4,00	4,00	3,33	4,33	3,67
Animal 2	4,00	5,67	5,33	4,67	5,00	5,33
Animal 3	3,00	4,67	6,00	5,00	5,33	5,00
Animal 4	3,00	4,00	4,17	4,33	5,33	3,67
Animal 5	3,67	3,67	4,00	4,00	3,33	3,67
Animal 6	3,00	5,00	4,33	3,33	4,33	3,67

APÊNDICE C – Valores individuais da atividade locomotora espontânea (passos/minuto) de 6 equinos submetidos a administração intravenosa de solução salina ou metadona (0,2 mg/kg – MET0,2; 0,5 mg/kg – MET0,5).

Grupos	Momentos (min)												
	-20	-10	Basal	5	15	30	60	90	120	180	240	300	
Controle													
Animal 1	20,3	17,5	17,5	28	22,7	30,3	22,2	26,8	40,9	48,7	35,1	18,1	
Animal 2	47,6	38,2	26,4	27,8	30,3	42,7	18,5	13	9,1	49,4	15,3	3,5	
Animal 3	6	0,2	1,4	22,8	9,7	0,6	2,9	12,9	9,4	10,2	2,7	8,4	
Animal 4	14,5	8,6	3,1	8,6	6,9	3,5	5,8	2,4	1	4,1	1,7	17,6	
Animal 5	1,3	2,6	3	6,8	0,6	1,5	7,1	11,2	14,8	9,7	6,2	4,7	
Animal 6	11,6	2,8	1	12,6	1,5	4,6	0,8	1,3	2,5	4,5	2,8	1,1	
MET0,2													
Animal 1	17,5	14,1	13,4	31,4	56	95,4	102,4	64	33,1	34	20,7	6,7	
Animal 2	21,9	6,3	0,2	8	31,4	74,30	48,9	52,1	17,3	4,6	8,7	10,6	
Animal 3	11,3	2,8	5,8	7,2	20,7	27	27,6	20,6	7	10	1,7	2,3	
Animal 4	15,6	15,2	16,4	25,8	89,2	82,5	89,5	60,5	42,8	17	21,3	8,3	
Animal 5	18,7	1,8	3,5	34	41,1	21,5	16	13,6	16,5	9,9	4,1	4,7	
Animal 6	11,8	13,5	6,4	26,4	105,3	123,5	107,7	75,4	83,9	60,4	78	33,9	
MET0,5													
Animal 1	22,5	22,9	20,3	119,4	168,5	163,4	162,3	163,4	147,6	88,4	31,7	26,7	
Animal 2	22,8	13,8	20,4	7,4	40,9	30,6	20,4	73,3	87,4	27,1	8,3	12,7	
Animal 3	8,7	8,5	2,4	150,6	143,7	162,5	143,2	93,7	42,6	16,8	6,7	7,8	
Animal 4	9	7,6	20	155,2	172,2	133,1	154,9	142,2	118,7	58,8	39,8	23,5	
Animal 5	7,4	10	8,1	7	63,5	72,4	102,5	75,2	48,4	10,8	11,6	5,6	
Animal 6	7,6	0,7	0,1	5,8	32,4	23,8	37,6	43,8	13,6	8,1	2	9	

APÊNDICE D – Valores individuais dos escores de auscultação intestinal de 6 equinos submetidos a administração intravenosa de solução salina ou metadona (0,2 mg/kg – MET_{0,2}; 0,5 mg/kg – MET_{0,5}).

Grupos	Momentos (min)									
	Basal	15	30	60	90	120	180	240	360	480
Controle										
Animal 1	11	10	9	9	9	11	-	-	-	-
Animal 2	16	10	10	10	12	11	-	-	-	-
Animal 3	13	14	12	10	9	12	-	-	-	-
Animal 4	10	10	10	11	8	8	-	-	-	-
Animal 5	10	11	9	11	10	8	-	-	-	-
Animal 6	10	12	9	9	13	7	-	-	-	-
MET_{0,2}	Basal	15	30	60	90	120	180	240	360	480
Animal 1	10	8	11	8	10	13	9	13	10	13
Animal 2	10	13	12	10	11	14	12	10	13	12
Animal 3	15	12	12	16	14	15	14	15	16	13
Animal 4	11	9	12	11	11	10	6	9	10	12
Animal 5	14	15	14	15	13	14	15	14	15	16
Animal 6	12	9	9	12	15	11	14	14	13	9
MET_{0,5}	Basal	15	30	60	90	120	180	240	360	480
Animal 1	14	7	4	3	6	4	14	15	13	15
Animal 2	11	11	3	3	8	14	13	14	14	9
Animal 3	13	7	5	9	3	5	8	10	13	12
Animal 4	15	6	2	8	4	1	8	7	11	15
Animal 5	12	2	1	2	5	9	9	9	11	13
Animal 6	10	7	2	1	4	8	10	8	12	13