

Daniela Campagnol

**“Farmacologia clínica da metadona peridural e
intravenosa em cães”**

Botucatu

2011

Daniela Campagnol

**“Farmacologia clínica da metadona peridural e
intravenosa em cães”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Anestesiologia da Faculdade
de Medicina da Unesp, Campus de Botucatu,
para obtenção do título de Doutor em
Anestesiologia

Orientador: Prof. Adj. Francisco José Teixeira Neto

**Botucatu
2011**

DEDICATÓRIA

Ao meu marido, Eduardo Raposo Monteiro

*Por corresponder ao meu amor,
Ser companheiro e paciente e
Por, insistentemente, tentar estabelecer um equilíbrio em minha vida!*

***Aos meus pais,
Wilson e Neusa (in memoriam)
E irmãos,
Gabriela e Rafael***

*Pelo amor incondicional
E incentivo pessoal e profissional
Sempre!*

Amo todos vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao Meu Orientador

Prof. Francisco José Teixeira Neto

Pelos conhecimentos transmitidos,

Pelas oportunidades oferecidas,

Pela amizade

E sua tamanha paciência e generosidade

AGRADECIMENTOS

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

Às pós-graduandas Luiza, Renata, Flávia, Lídia e Sharlenne

Pela ajuda na execução dos estudos

Pela amizade sincera e acolhedora

Por me fazer sentir saudades em acordar enquanto ainda estava escuro (e frio...) e de almoçar marmita com garfo de plástico ou salgado do PS entre pelos de cachorro...

Ao Prof. Bruno Watanabe Minto

Pela realização das mastectomia do estudo

Pelo profissionalismo, competência e imensa disponibilidade

É sempre muito bom trabalhar com você!

Ao Prof. Carlos Roberto Teixeira

Por disponibilizar um cantinho tranqüilo para a execução do estudo clínico

E me ajudar a transpor muitos outros obstáculos

Aos Prof.(s) Stelio Pacca Loureiro Luna e Antonio José de Araújo Aguiar

Pela preciosa contribuição na minha formação científica, pela amizade e convivência prazerosa

À Prof. Cláudia Valéria Seullner Brandão

Por viabilizar a realização do estudo clínico junto à rotina da cirurgia de pequenos animais

À Juliana Brondani

Pela amizade, importante ajuda científica com relação à avaliação da dor em pequenos animais e sua extrema disponibilidade. Obrigada também por me ceder o aconchego e a tranqüilidade de sua casa, por me ajudar com o Chico...

Aos residentes da cirurgia de pequenos animais Lisiane, Marina, Samantha e Victor

Pela ajuda imprescindível na seleção dos animais do estudo clínico

À Ana Maria Sauer Tardevo e Vanessa Vidotto Basseto

Pela amizade e toda ajuda prática e burocrática

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

À Prof. Maria Jaqueline Mamprim

À Pós-graduanda Priscilla Macedo de Souza

Às residentes Viviam e Lídice

Pela execução de todos os exames radiográficos

Departamento de Clínica Veterinária

À Prof. Maria Lucia Gomes Lourenço

À Prof. Maria do Carmo Fernandez Vailatti

Ao Prof. Luiz Henrique de Araújo Machado

Aos residentes da CMPA

Pela realização de todas as avaliações cardíacas e pela assistência clínica

À pós-graduanda Márcia Moleta Colodel

À Prof. Noeme Sousa Rocha

Pela realização de todos os exames citológicos e histopatológicos

À Prof. Regina Kiomi Takahira

À Pós-graduanda Carla C. Machado Riani Costa

Às residentes do laboratório clínico

Pela realização dos exames laboratoriais

Aos cães que tive o prazer de conviver durante os estudos

Sem exceção, animais excepcionais...

Aos proprietários dos cães empregados no estudo

Pela confiança!

À Prof. Rosangela G. Peccinini

Pela realização das dosagens de metadona no plasma e no líquido e dos cálculos farmacocinéticos.

À Prof. Liciane V. A. Silveira e ao Prof. José Eduardo Corrente

Pela realização das análises estatísticas

À FAPESP

Pelo suporte financeiro (bolsa de doutorado proc. nº 07/57060-4 e auxílio pesquisa proc. nº 08/58894)

À Neli, André e aos funcionários da pós-graduação da Medicina

Por serem sempre tão disponíveis e atenciosos

Às amigas Luiza Q. Medeiros, Tatiana H. Ferreira, Juliany G. Quitzan

Pelo companheirismo, incentivo e, principalmente, pela dedicação à nossa amizade.

Aos meus vizinhos Karine, Franco e suas picurruas Laura e Luiza e amigos

Gui, Netão, Betânia, Kiki

Pela amizade, pelo incentivo e pelos momentos de distração!

Campagnol, D. *Farmacologia clínica da metadona peridural e intravenosa em cães* [tese de doutorado]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2011.

RESUMO

A metadona é um opióide que possui potência analgésica semelhante à da morfina. Doses elevadas de metadona intravenosa (0,5-1,0 mg/kg), apesar de reduzirem a concentração alveolar mínima do isoflurano (CAM_{ISO}), resultam em maior depressão cardíaca que a observada com a morfina intravenosa (1,0 mg/kg) em cães. Com a hipótese de que a metadona peridural poderia proporcionar vantagens clínicas em relação à metadona intravenosa (maior potencialização da anestesia inalatória e maior eficácia analgésica), os estudos apresentados objetivaram comparar aspectos farmacocinéticos e farmacodinâmicos destas vias de administração da metadona em cães. Nos dois estudos iniciais (*Capítulos 1 e 2*), os mesmos seis animais foram anestesiados com isoflurano e tratados com metadona (0,5 mg/kg) peridural ou intravenosa em ocasiões distintas. No primeiro estudo (*Capítulo 1*), para comparação da farmacocinética destas duas vias de administração, a concentração de metadona foi determinada no plasma e no líquido da cisterna magna antes e durante 450 minutos após a administração do opióide. No segundo estudo (*Capítulo 2*), a CAM_{ISO} foi mensurada antes e após 2,5 e 5 horas da administração da metadona, mediante a aplicação da estimulação nociceptiva em membro pélvico e torácico (via peridural) ou em membro pélvico apenas (via intravenosa). No último estudo (*Capítulo 3*), cadelas apresentando tumores mamários, após serem tratadas de forma preemptiva com metadona (0,5 mg/kg) peridural ou intravenosa (10 animais por grupo), foram submetidas à mastectomia unilateral. Nesta etapa, avaliou-se a concentração expirada de isoflurano (ET_{ISO}) necessária à realização da mastectomia e, no período pós-operatório, avaliou-se os escores de dor, limiares nociceptivos mecânicos (LNM) das cadeias mamárias e requerimento de resgates analgésicos. No estudo do *Capítulo 1*, a via peridural, quando comparada à via intravenosa, prolongou a sua meia vida de eliminação da metadona no plasma e resultou em baixas concentrações do opióide no líquido da cisterna magna. No estudo do *Capítulo 2*, tanto a via peridural como intravenosa reduziram a CAM_{ISO} de forma similar numa fase inicial (30% de redução da CAM_{ISO} às 2,5 horas), com o

efeito da via peridural sobre a CAM_{ISO} persistindo por período mais prolongado (5 horas) em dermatômos específicos (membro torácico). A similaridade da redução da CAM_{ISO} promovida pelas vias peridural ou intravenosa (*Capítulo 2*) confirmou-se no estudo clínico (*Capítulo 3*), onde a ET_{ISO} necessária à manutenção do plano cirúrgico não diferiu entre as vias de administração (até 1,5 horas do opióide). Quando comparada à via intravenosa, a via peridural reduziu os escores de dor e consumo de analgésicos suplementares, elevou o LNM e aumentou o intervalo para o primeiro resgate analgésico (3-4 horas e 8-12 horas para a via intravenosa e peridural, respectivamente). Conclui-se que, embora a metadona peridural não ofereça vantagens em relação à metadona intravenosa quanto à potencialização da anestesia inalatória numa fase inicial (até 2,5 horas), o efeito analgésico mais intenso e prolongado associado à via peridural justifica seu uso clínico. A farmacocinética da metadona peridural e intravenosa auxilia na compreensão de algumas alterações sistêmicas induzidas por este opióide e fornece subsídios para o entendimento da ação analgésica espinhal segmentar associada à via peridural.

Palavras-chave: analgesia, concentração alveolar mínima, farmacocinética, isoflurano, metadona.

Campagnol, D. *Clinical pharmacology of peridural and intravenous methadone in dogs* [tese de doutorado]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"; 2011.

ABSTRACT

Methadone is an opioid that has analgesic potency comparable to that of morphine. High doses of intravenous methadone (0.5-1.0 mg/kg), in spite of reducing the minimum alveolar concentration of isoflurane (MAC_{ISO}), cause greater cardiac depression than intravenous morphine (1 mg/kg) in dogs. The studies presented here aimed to compare some pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of peridural and intravenous methadone in dogs, testing the hypothesis that peridural methadone could result in clinical advantages when compared to intravenous methadone (greater reduction in anesthetic requirements and greater analgesic efficacy). In the first 2 studies (Chapters 1 and 2), the same six animals underwent isoflurane anesthesia and were treated with methadone (0.5 mg/kg) administered via the peridural or intravenous routes during different occasions. During the first study (Chapter 1), in order to compare the pharmacokinetics of these two administration routes, methadone concentrations were determined in plasma and in the cisternal cerebrospinal fluid before and for 450 minutes after opioid injection. During the second study (Chapter 2), MAC_{ISO} was measured before, 2.5 and 5 hours after methadone injection via nociceptive stimulation of the thoracic and pelvic limb (peridural) or the pelvic limb (intravenous). During the last series of studies (Chapter 3), bitches presented with mammary gland tumors were preemptively treated with peridural or intravenous methadone (0.5 mg/kg) (10 animals per group) and underwent unilateral mastectomy. The end-tidal isoflurane concentration (ET_{ISO}) necessary for maintaining surgical anesthesia was evaluated and, during the post-operative period, parameters evaluated included Glasgow pain scores, mechanical nociceptive thresholds (MNT) in the mammary glands, and requirement for supplemental analgesia. In first study (Chapter 1), peridural methadone prolonged the opioid's plasma elimination half-life and resulted in low opioid concentrations in cisternal cerebrospinal fluid. In Chapter's 2 study, both peridural and intravenous methadone decreased MAC_{ISO} to a similar degree during an initial phase (30%

MAC_{ISO} reduction at 2.5 hours), with the effect of the peridural administration on the MAC_{ISO} lasting longer (5 hours) at specific dermatomes (thoracic limb). The similarity of MAC_{ISO} reduction induced by peridural and intravenous methadone (Chapter 2) was confirmed in the clinical study (Chapter 3), where the ET_{ISO} maintaining surgical depth of anesthesia did not differ between the administration routes (up to 1.5 hours after opioid injection). When compared to the intravenous methadone, peridural opioid injection decreased the pain scores and the consumption of supplemental analgesics, increased the MNT, and increased the interval to the first analgesic rescue (3-4 hours and 8-12 hours for intravenous and peridural methadone, respectively). Even though peridural methadone is not advantageous in comparison to intravenous methadone because the anesthetic sparing effect provided by either route of administration is similar in procedures lasting up to 2.5 hours, peridural administration of this opioid is justifiable in clinical situations because it results in more prolonged and intense postoperative analgesic effect. The pharmacokinetics of peridural and intravenous methadone provides the background for understanding the segmental analgesic effect associated with the peridural route and for explaining some of the systemic changes induced by this opioid.

Key-words: analgesia, minimum alveolar concentration, pharmacokinetics, isoflurane, methadone.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO.....	13
-----------------	----

REVISÃO DA LITERATURA.....	18
----------------------------	----

CAPÍTULO 1 - “Comparação da farmacocinética da metadona peridural e intravenosa em cães anestesiados com isoflurano”

RESUMO.....	31
-------------	----

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	33
--------------------------------	----

MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
--------------------------	----

RESULTADOS.....	48
-----------------	----

DISCUSSÃO.....	53
----------------	----

CAPÍTULO 2 - “Comparação dos efeitos da metadona peridural ou intravenosa sobre a concentração alveolar mínima do isoflurano em cães”

RESUMO.....	60
-------------	----

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	62
--------------------------------	----

MATERIAIS E MÉTODOS.....	63
--------------------------	----

RESULTADOS.....	69
-----------------	----

DISCUSSÃO.....	76
----------------	----

CAPÍTULO 3 - “Comparação dos efeitos da metadona peridural ou intravenosa sobre o requerimento de isoflurano e sobre a dor pós-operatória em cadelas submetidas à mastectomia”

RESUMO.....	82
-------------	----

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	84
--------------------------------	----

MATERIAIS E MÉTODOS.....	86
--------------------------	----

RESULTADOS.....	100
-----------------	-----

DISCUSSÃO.....	121
----------------	-----

CONCLUSÃO.....	133
----------------	-----

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	134
APÊNDICE I - CAPÍTULO 1.....	150
APÊNDICE II - CAPÍTULO 2.....	160
APÊNDICE III - CAPÍTULO 3.....	167

INTRODUÇÃO

Levantamentos epidemiológicos mais recentes demonstram que a preocupação dos veterinários com o reconhecimento e a prevenção / tratamento da dor pós-operatória em cães apresentou aumento substancial nos últimos 15 anos (Dohoo & Dohoo, 1996ab; Capner et al., 1999; Hugonnard et al., 2004; Williams et al., 2005; Hewson et al., 2006a; Lorena, 2010). Embora cada levantamento avalie a conduta de profissionais de um país específico, parece haver uma tendência evolutiva quando eles são analisados cronologicamente. Fatores anteriormente empregados para justificar a restrição ao uso de analgésicos em pacientes submetidos à cirurgia, como receio dos efeitos colaterais causados pelos opióides e custo dos analgésicos (Dohoo & Dohoo, 1996ab), passaram a ser encarados de forma mais criteriosa e não restritiva (Williams et al., 2005; Lorena, 2010). Além disso, a idéia suportada no passado por parcela significativa dos veterinários de que a manutenção de certo grau de dor traria benefícios à recuperação cirúrgica do animal através de sua inatividade, com o passar do tempo, está sendo considerada cada vez mais infundada (Capner et al., 1999; Raekallio et al., 2003; Hugonnard et al., 2004; Williams et al., 2005; Hewson et al., 2006a; Lorena, 2010).

Deve ser considerado, entretanto, que o aumento na proporção de veterinários adeptos ao uso de analgésicos se deve ao grande desenvolvimento técnico-científico observado nesse intervalo de tempo. A introdução de novos fármacos analgésicos, como os anti-inflamatórios não esteroidais, e o aumento considerável nas pesquisas com opióides de alta eficácia na espécie canina, mudaram o cenário de forma radical. Parecer haver uma tendência de analgésicos opióides sabidamente de baixa eficácia e/ou de curta duração de ação, como o butorfanol e a meperidina, cederem lugar a opióides que apresentam efeitos analgésicos mais consistentes (ex: morfina) (Dohoo & Dohoo, 1996ab; Capner et al., 1999; Williams et al., 2005; Hewson et al., 2006a; Lorena, 2010).

Além da conscientização dos profissionais sobre o impacto negativo da dor na recuperação pós-cirúrgica, modalidades analgésicas mais eficazes, como a forma preemptiva (administração do analgésico antes da deflagração do estímulo nociceptivo) e multimodal (associação de analgésicos que atuam em pontos distintos

da via nociceptiva), passaram a ser consideradas na rotina clínico-cirúrgica (Williams et al., 2005; Lorena, 2010).

Na análise cronológica dos levantamentos, nota-se haver uma tendência dos profissionais atribuírem escores de dor cada vez mais elevados a determinados procedimentos cirúrgicos e de se enquadrarem na categoria dos “adeptos ao uso de analgésicos”, muito embora grande parcela ainda considere o seu conhecimento relativo à dor como inadequado (Dohoo et al., 1996ab; Hewson et al., 1996ab; Williams et al., 2005; Lorena, 2010). Também se observa que, independente da época em que o levantamento foi realizado, a maior parte dos “adeptos ao uso de analgésicos” foi composta por profissionais com menor tempo de graduação (Dohoo et al., 1996b; Williams et al., 2005; Hewson et al., 2006b; Lorena, 2010). Este aparente contra-senso (ser “adepto ao uso de analgésicos” *versus* considerar seu conhecimento inadequado) sugere que uma maior busca por conhecimento ou um acesso mais fácil a informações atualizadas pode estar aumentando a capacidade de discernimento dos veterinários com relação a suas próprias limitações.

A principal limitação dos veterinários com relação à abordagem da dor em animais está relacionada à dificuldade de interpretar as alterações comportamentais e fisiológicas e dar dimensão à dor de seus pacientes, uma vez que os mesmos não podem expressar verbalmente sua experiência dolorosa (Short, 1998). Enquanto uma linha de pesquisa muito forte vem sendo destinada ao desenvolvimento de métodos e escalas para a mensuração da dor em algumas espécies animais (Holton et al., 2001; Morton et al., 2005; Murrell et al., 2008), outra linha tem concentrado esforços na identificação de terapias eficazes (Troncy et al., 2002; Kona-Boun et al., 2006; Leibetseder et al., 2006), diminuindo o impacto do caráter subjetivo da dor sobre o seu controle efetivo.

Considera-se que, para a instituição de terapia antálgica adequada, aspectos farmacológicos / posológicos do(s) fármaco(s) empregado(s) devem ser conhecidos e respeitados (American Animal Hospital Association et al., 2007). Sabe-se também que, dentre os opióides disponíveis para uso médico em animais, há maior prevalência de opióides de curta a moderada duração (< 6 horas), o que impõe a necessidade de reaplicações frequentes ao longo do tempo. Reaplicações

frequentes aumentam as chances de o profissional administrar analgésicos em intervalos inadequados, proporcionando períodos de analgesia insatisfatória, caso o intervalo entre doses seja mais extenso que o recomendado, ou períodos de analgesia satisfatória, porém associada a efeitos colaterais (ex: sedação, depressão respiratória), se o intervalo for extremamente curto.

Certos de que não há garantias da existência de um analgésico ideal, vários pesquisadores vêm buscando formas alternativas ao uso dos “velhos” fármacos, com o objetivo de não somente otimizar seus efeitos desejáveis (aumento de sua eficácia e/ou duração de ação), como também limitar a ocorrência de efeitos adversos. Visando atingir esses objetivos, a via peridural vem sendo amplamente estudada (Bernards, 2002).

A morfina é considerada o melhor opióide para uso peridural por apresentar características clínicas (elevada eficácia analgésica, efeito analgésico prolongado e com ampla abrangência segmentar) que, até o presente momento, nenhum outro opióide demonstrou possuir (Valverde et al., 1989; Day et al., 1995; Troncy et al., 2002; Bonnet et al., 2010). Por se tratar de um agente pouco lipossolúvel (facilidade de solubilização no fluido cérebro-espinhal) (Kaufman et al., 1975; Plummer et al., 1990), o seu emprego pela via peridural proporciona longo período de permanência no compartimento subaracnóide e capacidade de difusão rostral (Andersen et al., 1986; Valverde et al., 1989; Valverde, 2008). Estas particularidades farmacocinéticas da morfina peridural, embora favoreçam seu efeito analgésico, são apontadas como responsáveis pela ocorrência de efeitos adversos como depressão respiratória tardia, vômito, prurido e retenção urinária, o que tem limitado seu uso na espécie humana (Kafer et al., 1983; Ballantyne et al., 1988; Asantila et al., 1993). Em cães, a incidência de prurido e retenção urinária após o uso da morfina peridural tem sido considerada baixa (< 1% e 3% para prurido e retenção urinária, respectivamente) (Herperger, 1998; Troncy et al., 2002), desconhecendo-se relatos de depressão respiratória tardia associada ao seu uso em doses terapêuticas (0,1 mg/kg) nesta espécie.

A metadona é um opióide que vem sendo utilizado no tratamento de dor crônica e neuropática no homem (Altier et al., 2001; Mizoguchi et al., 2009). Além de exercer atividade agonista mu (μ) (Peckham & Traynor, 2006), a metadona atua em

outros pontos na via nociceptiva através de mecanismos não opióides (ex: atividade antagonista de receptores NMDA) (Gorman et al., 1997; Callahan et al., 2004). Apesar desse mecanismo antinociceptivo dual (receptores opióides e NMDA) torná-la altamente interessante no controle / prevenção da dor peri-operatória, seu emprego nessa situação em pacientes humanos não tem se popularizado. A justificativa disto está relacionada ao metabolismo lento e eliminação extremamente prolongada da metadona no homem (meia-vida de eliminação variando entre 18 a 35 horas (Gourlay et al., 1982; Dale et al., 2002; Eap et al., 2002; Dale et al., 2004), o que dificulta a adequação das doses para controle da dor pós-operatória aguda e aumenta o risco de sobredosagem com o uso repetido (Peng et al., 2005).

Embora a metadona seja considerada um analgésico de longa duração (> 18 horas) no homem (Gourlay et al., 1982), o mesmo não se aplica para os cães, pois a duração da ação deste opióide administrado por vias parenterais perdura por no máximo 6 horas (Thurmon et al., 1996a; Wagner, 2002). Tal característica pode estar relacionada ao metabolismo/eliminação mais rápido do opióide na espécie canina (meia-vida de eliminação 1,5 a 3,9 horas) (Kukanich et al., 2005a; Kukanich & Borum, 2008; Ingvast-Larsson et al., 2010).

A duração de ação relativamente moderada da metadona administrada por vias parenterais em cães é uma característica pouco vantajosa, pois exige que reaplicações relativamente frequentes sejam feitas para a manutenção da analgesia, aumentando o risco de ocorrência de efeitos adversos. A via peridural é uma alternativa interessante para uso da metadona, pois pode permitir que o seu efeito antinociceptivo dual seja favorecido pela proximidade entre ao sítio de deposição do fármaco e aos receptores espinhais envolvidos na modulação da nocicepção. Há somente um estudo, publicado recentemente na literatura, avaliando o efeito analgésico da metadona peridural em cães (Leibetseder et al., 2006). Neste estudo, o emprego deste opióide pela via peridural (0,3 mg/kg) proporcionou maior redução no requerimento de isoflurano para a realização de cirurgia em membro pélvico que a mesma dose administrada pela via intravenosa (Leibetseder et al., 2006). Outros estudos também suportam a ação analgésica espinhal segmentar induzida pela administração peridural da metadona em gatos (Tung & Yaksh, 1982).

Fármacos lipossolúveis, quando administrados pela via peridural, apresentam baixa capacidade de solubilização no líquido e podem, preferencialmente, se depositar no tecido adiposo da região e/ou serem absorvidos sistemicamente (Bernards, 2004; Valverde, 2008). Como essa característica tende a dificultar seu acesso aos sítios de efeito espinhal, doses não tão reduzidas ou próximas às doses parenterais necessitam ser empregadas para se obter efeito analgésico eficaz (Valverde, 2008). Embora a necessidade de emprego de doses relativamente elevadas pareça inviabilizar o uso desses fármacos pela via peridural, considerando-se a possibilidade de absorção sistêmica significativa, um efeito analgésico segmentar menos abrangente pode ser benéfico se estiver relacionado à menor ascensão rostral do opióide no canal espinhal.

Diante dessas características potencialmente favoráveis da administração peridural da metadona, o presente estudo teve como objetivo geral comparar os aspectos farmacocinéticos e farmacodinâmicos da metadona administrada pela via peridural ou intravenosa em cães, com a hipótese de que seu emprego pela via peridural proporcionaria vantagens clínicas (maior potencialização da anestesia inalatória e maior eficácia analgésica) em relação à via intravenosa.

Como o caráter lipossolúvel da metadona (Kaufman et al., 1975) pode diminuir sua biodisponibilidade aos receptores-alvo localizados no corno dorsal da medula espinhal, nos estudos aqui apresentados, a comparação entre as diferentes vias de administração foi realizada com o emprego de doses idênticas (0,5 mg/kg) de metadona, visando maximizar sua ação analgésica espinhal. Embora a literatura preconize doses menores de metadona para uso clínico (0,3 mg/kg) (Leibetseder et al., 2006), publicações recentes têm demonstrado que doses superiores (0,5 mg/kg) desse opióide podem ser empregadas pela via sistêmica com o objetivo de produzir sedação (Maiante et al., 2009; Monteiro et al., 2009) e reduzir a concentração alveolar mínima do isoflurano em cães (Credie et al., 2010).

REVISÃO DE LITERATURA

Metadona

Estruturalmente diferente da morfina e seus congêneres, a metadona (6-dimetilamina-4,4-difenil-3-3-heptanona) é um opióide sintético que possui um carbono assimétrico em sua estrutura molecular (Figura 1). Esta assimetria resulta na composição de 2 enantiômeros: o enantiômero levógiro (L-metadona / R-metadona) e o enantiômero dextrógiro (D-metadona / S-metadona) (Inturrisi, 2005). A formulação comercial disponível para uso clínico constitui-se da mistura racêmica com proporções equivalentes de ambos os enantiômeros.

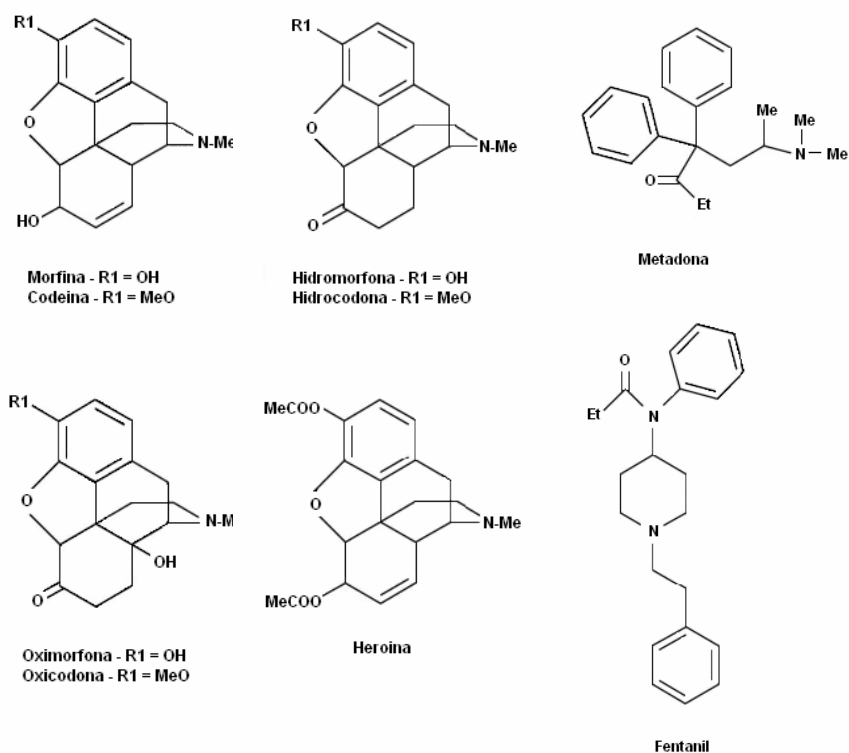


Figura 1 - Estrutura molecular de alguns opióides agonistas μ , demonstrando que a metadona e o fentanil são estruturalmente diferentes da morfina (adaptado de Peckham & Traynor, 2006)

A metadona apresenta atividade agonista em receptores opióides mu (μ), kappa (κ) e delta (δ) localizados em sítios centrais e periféricos (Peckham & Traynor, 2006). A maior parte dos efeitos proporcionados por este opióide, desejáveis (ex:

analgesia) ou não (ex. depressão respiratória, íleus, tolerância), está principalmente relacionada à sua atuação em receptores opióides do tipo μ , ao qual apresenta maior afinidade e seletividade (Peckham & Traynor, 2006). Em estudos em ratos utilizando técnicas *in vitro*, foi demonstrado que a metadona apresenta menor potência e afinidade a receptores μ que a morfina, porém maior seletividade e eficácia intrínseca (Selley et al., 2001; Peckham & Traynor, 2006). Por outro lado, quando a potência analgésica da metadona foi avaliada em ratos submetidos ao teste de retirada da cauda em água quente, relação inversa entre estes opióides foi observada (metadona > morfina) (Peckham & Traynor, 2006). A potência analgésica superior da metadona *in vivo* sugere que outros mecanismos podem estar envolvidos no efeito antinociceptivo da metadona.

A literatura considera que a potência analgésica da metadona parenteral na espécie canina é similar (1:1) ou ligeiramente maior que a da morfina (1:1,5 (Wagner, 2002). Entretanto, não foram encontrados estudos nesta espécie que comprovem esta relação.

A atuação da metadona em receptores opióides é estéreo-específica, com a L-metadona exibindo afinidade a receptores μ e potência analgésica 10 e 50 vezes maior que a D-metadona, respectivamente (Olsen et al., 1976; Kristensen et al., 1995; Lemberg et al., 2006).

Além da ativação de receptores opióides, a metadona apresenta atividade antagonista de receptores N-Metil-D-Aspartato (NMDA), com a participação de ambos os enantiômeros neste quesito (não estéreo-específico) (Gorman et al., 1997; Callahan et al., 2004).

Os receptores NMDA tem como ligantes naturais os aminoácidos glutamato e aspartato, que são importantes mediadores da neurotransmissão excitatória no sistema nervoso central (SNC). Estes receptores têm atividade basal mínima nos circuitos da dor durante sua atividade normal. No entanto, a atividade glutaminérgica aumenta significativamente durante a dor crônica e neuropática e em outros estados de hipersensibilidade (Muir, 2002; Thurmon et al., 1996b).

Quando comparada à morfina, a metadona racêmica se mostrou 8 a 16 vezes mais potente em inibir a função eletrofisiológica de vários subtipos de receptores NMDA (Callahan et al., 2004). A concentração de metadona necessária para a inibição de receptores NMDA também foi significativamente menor que a concentração de outros opióides como meperidina, fentanil, codeína e naloxona (Yamakura et al., 1999). Essa característica farmacodinâmica tem sido implicada à eficácia da metadona no tratamento de dores neuropáticas e crônicas e no tratamento de pacientes com síndrome de abstinência à morfina e heroína (Trujillo & Akil, 1991; Gorman et al., 1997; Altier et al., 2001). Diante das evidências de que os receptores NMDA podem impedir o desenvolvimento de tolerância a opióides (Trujillo & Akil, 1994), tem sido sugerido que a metadona possui habilidade intrínseca de limitar a sua própria tendência a induzir tolerância (Callahan et al., 2004).

Outros mecanismos que podem contribuir para o efeito antinociceptivo da metadona são sua atividade monoamérgica, inibindo a recaptação de noradrenalina e serotonina (Codd et al., 1995), e sua atividade antagonista de receptores nicotínicos (Xiao et al., 2001). A L-metadona é considerada o principal enantiômero responsável pela atividade monoaminérgica (Codd et al. 1995; Kristensen et al. 1995).

No homem, a duração prolongada da analgesia promovida pela metadona é considerada uma de suas principais vantagens em relação aos outros opióides (Gourlay et al., 1982; Gourlay et al., 1984; Gourlay et al., 1986). Esta característica tem sido atribuída à longa meia-vida de eliminação da metadona nesta espécie (Gourlay et al., 1982). Em estudo realizado por Gourlay et al. (1982), a administração pré-operatória de 20 mg de metadona pela via intravenosa em dose única proporcionou analgesia por 18 a 72 horas em pacientes submetidos a cirurgias variadas (colecistectomia, gastrectomia, entre outras). Neste estudo, a concentração mínima efetiva do opióide (CME) nos pacientes estudados foi de aproximadamente 30 ng/mL.

A concentração mínima efetiva (CME) é definida com a concentração do opióide no plasma/sangue mensurada no momento em que a suplementação analgésica é requerida pelo paciente. Considera-se que o alívio da dor é "garantido" desde que a concentração plasmática do opióide seja mantida acima do valor de CME (Gourlay et al., 1982; Gourlay et al., 1984; Gourlay et al., 1986; Gourlay et al., 1988).

Em estudo subsequente, os mesmos pesquisadores (Gourlay et al., 1984) avaliaram a eficácia analgésica da metadona administrada em um regime de múltiplas doses (dose pré-operatória de 20 mg seguido por suplementação de 2,5 a 10 mg no período pós-operatório), objetivando verificar a variabilidade intra e inter-individual nos valores de CME. Os resultados demonstraram significativa correlação entre a duração da analgesia da metadona e a CME ($r = -0,84$), mas a variabilidade inter-individual foi relativamente elevada (CME = 34,5 a 80,3 ng/mL).

Embora a literatura considere a duração da analgesia da metadona em cães com sendo de 2 a 6 horas (Thurmon et al., 1996a; Wagner, 2002), há poucos estudos com acesso disponível que avaliam especificamente os aspectos qualitativos e temporais deste efeito na espécie. No único estudo ao qual se teve acesso (Leibetseder et al., 2006), a duração do efeito analgésico metadona (0,3 mg/kg) administrada pela via intravenosa em cães submetidos à cirurgia ortopédica (média $\pm$ desvio padrão; $6,2 \pm 1,6$ horas) foi próxima à reportada na literatura.

Em felinos, a administração de 0,3 mg/kg de metadona pela via intravenosa e 0,6 mg/kg pela via transmucosa oral promoveu analgesia com duração similar (2 e 4 hora) (Ferreira, 2010) a considerada para a espécie canina. No estudo de Ferreira (2010), a concentração plasmática de metadona atingiu o pico máximo após 10 minutos (106,0 ng/mL) e 2 horas (76,5 ng/mL) da administração intravenosa e transmucosa, respectivamente, e se manteve elevada por 24 horas em ambos os tratamentos (17,0 e 28,8 ng/mL, respectivamente). Estes dados demonstram que, diferente do que ocorre no homem, a duração da analgesia da metadona não foi fortemente relacionada à sua concentração plasmática em felinos.

Diferenças entre a farmacocinética da metadona em cães e no homem auxiliam a compreender a mais curta duração da analgesia na espécie canina. No homem, a meia-vida de eliminação da metadona varia de 18 a 35 horas (Gourlay et al., 1982; Dale et al., 2002; Eap et al., 2002; Dale et al., 2004), enquanto, no cão, a variação é de 1,5 a 3,9 horas (Kukanich et al., 2005a; Kukanich & Borum, 2008; Ingvast-Larsson et al., 2010).

A meia-vida de eliminação é definida como o tempo requerido para que a concentração do fármaco no plasma ou sangue diminua em 50% após atingir um estado de pseudo-equilíbrio. Tal variável considera que, após esta condição ter sido alcançada, a redução da concentração do fármaco no compartimento central é devido à sua eliminação do organismo (Toutain & Bousquet-Mélou, 2004a). Embora frequentemente utilizada como uma medida da eficiência dos processos de eliminação, a meia vida de eliminação depende tanto do volume de distribuição (Vd) quanto da taxa de depuração (Cl), os quais exercem influência inversa sobre esta variável ($T_{1/2}$ eliminação = $0,693 \text{ Vd} / \text{Cl}$).

Frente à similaridade no volume de distribuição da metadona entre espécies diferentes (3,5 a 9,6 L/kg no cão; 2,6 a 6,4 L/kg no gato e 1,7 a 9,2 L/kg no homem) (Inturrisi et al., 1987; Wolf et al., 1993; Kukanich et al., 2005a; Kukanich & Borum, 2008; Ingvast-Larsson et al., 2010), a justificativa para a meia vida de eliminação mais curta em cães é embasada na alta taxa de depuração (Cl) do opióide do plasma (26 a 56 mL/min/kg) (Kukanich et al., 2005a; Kukanich & Borum, 2008; Ingvast-Larsson et al., 2010). No homem e em felinos, a taxa de depuração da metadona (1,08 a 3,10 mL/min/kg e 4,3 a 5,9 mL/min/kg, respectivamente) (Gourlay et al., 1982; Dale et al., 2002; Eap et al., 2002; Ferreira, 2010) é substancialmente menor que a do cão. Na espécie canina, a similaridade entre a taxa de depuração da metadona e fluxo sanguíneo hepático (30 mL/min/kg) (Davies & Morris, 1993), indica que este opióide possui alta taxa de extração hepática.

A taxa de depuração (Cl) é uma medida da habilidade do organismo em remover um fármaco do compartimento central através do seu metabolismo e/ou excreção (Sams & Muir, 2009). Seu valor representa o volume de sangue (ou plasma) em que o fármaco é removido por unidade de tempo. Este parâmetro é determinado pelo produto do fluxo sanguíneo da artéria hepática e sistema porta

(Q) e pela taxa de extração hepática (E) ($Cl = Q \times E$; E variando de 0 a 1) (Sams & Muir, 2009). Diante disto, a Cl de fármacos com alta taxa de extração hepática ($E \sim 1$), como parece ser o caso da metadona no cão, depende quase que exclusivamente do fluxo sanguíneo hepático ($Cl \sim Q$) (Sams & Muir, 2009).

Em comparação a outros opióides, a taxa de depuração da metadona no cão é similar a do fentanil (28 mL/min/kg) e menor que a da morfina e do tramadol (48,2 mL/min/kg e 54,63 mL/min/kg, respectivamente) (Kyles et al., 1996; KuKanich & Papich, 2004; KuKanich et al., 2005b).

Em felinos, o padrão farmacocinético da metadona é semelhante ao observado no homem, com taxa de depuração baixa e a meia vida de eliminação prolongada. No estudo de Ferreira (2010), estes parâmetros foram, respectivamente, de 5,9 mL/min/kg e 13,8 horas em felinos conscientes e 3,4 mL/kg/min e 24 horas em felinos anestesiados com sevoflurano. A discrepância observada entre as meias-vidas de eliminação em felinos conscientes e anestesiados sugere que uma possível redução no débito cardíaco causada pelo agente halogenado ou por sua associação à metadona possa ter interferido na depuração plasmática do opióide (Ferreira, 2010).

A alta taxa de extração hepática da metadona em cães corrobora com a baixa biodisponibilidade ($F = 29\%$) observada após sua administração pela via oral (efeito de primeira passagem) (Kukanich et al., 2005a). No homem, por sua vez, a biodisponibilidade oral da metadona é de 65 a 95% (Kristensen et al., 1996; Rostami-Hodjegan et al., 1999; Dale et al., 2002; Eap et al., 2002). Na tentativa de limitar o efeito de primeira passagem, Ferreira (2010) avaliou a biodisponibilidade da metadona por via transmucosa oral na espécie felina, embasada no caráter básico deste opióide (o pH mais elevado da cavidade oral poderia favorecer sua absorção transmucosa). A biodisponibilidade da metadona nestes estudos não foi tão elevada quanto se esperava e apresentou grande variabilidade inter-individual ($67,4 \pm 35,3\%$) (Ferreira, 2010).

No homem, a metadona é metabolizada pelo citocromo P450, principalmente pela isoforma CYP3A4, dando origem ao metabólito 2-etil-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolidina (EDDP), o qual é farmacologicamente inativo. No cão, por outro

lado, a isoforma CYP3A não é considerada a enzima responsável pela metabolização da metadona e a EDDP não parece ser o seu principal metabólito, uma vez que o mesmo não foi detectado no plasma canino (Garrett et al., 1985; Kukanich et al., 2005a). A enzima do sistema P450 responsável pela metabolização da metadona no cão ainda não foi identificada.

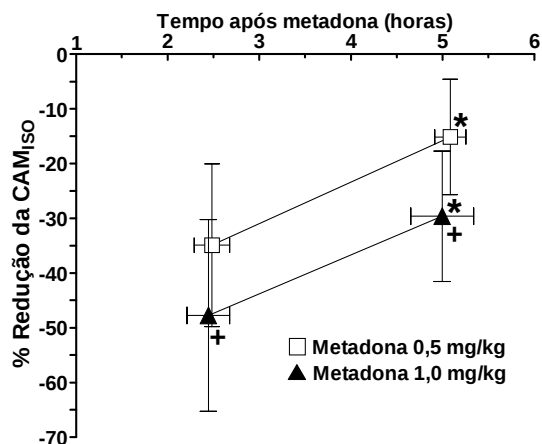
Em estudos avaliando os efeitos sedativos e comportamentais da metadona em cães livres de dor, foi observado que este opióide pode proporcionar desde sedação leve a moderada (Kukanich & Borum, 2008, Monteriro et al., 2009; Maiente et al., 2009) até disforia / excitação (Garofalo, 2010). O fator determinante desta ampla variação comportamental não está muito bem esclarecido, mas, em cães que se mostraram disfóricos após a administração da metadona, a estimulação do SNC foi revertida com butorfanol (antagonista de receptor μ), sugerindo a participação dos receptores μ na deflagração deste efeito (Garofalo, 2010). A disforia pós-metadona em cães se caracteriza por inquietação acompanhada por vocalização/choramingo intermitente, opistótono e movimentos repetitivos de cabeça (Monteiro et al., 2008; Maiente et al., 2009; Garofalo, 2010). Por outro lado, quando a administração da metadona é sucedida por sedação, os cães assumem decúbito lateral espontâneo, podendo até mesmo apresentar rotação de globo ocular e relaxamento de tônus de mandíbula (Maiente et al., 2009). O efeito sedativo da metadona (0,5 e 1 mg/kg; IV), quando presente, foi similar ao desencadeado pela morfina (1 mg/kg; IV) (Maiente et al., 2009). Quando a sedação proporcionada pela associação opióide-acepromazina (0,05 mg/kg, IV) foi avaliada em cães, o efeito foi mais intenso com a metadona (0,5 mg/kg, IV) do que com a morfina (0,5 mg/kg, IV) ou o butorfanol (0,15 mg/kg, IV) (Monteiro et al., 2009).

A metadona também potencializa a ação de agentes halogenados. Em cães, dose de 0,5 mg/kg de metadona causou 35 e 14% de redução da CAM do isoflurano (CAM_{ISO}) após 2,5 e 5,0 horas da sua administração intravenosa, enquanto que o dobro da dose do opióide (1 mg/kg) intensificou e prolongou o efeito (49 e 30% de redução da CAM_{ISO} às 2,5 e 5,0 horas) (Figura 2). Estes dados sugerem que o efeito potencializador dos agentes halogenados promovido pela metadona é mais intenso que o proporcionado por dose “equipotente” de morfina (39% e <10% após 0,5 e 4 horas da administração intravenosa de 1 mg/kg) (Steffey et al., 1993).

Figura 2 - Médias e desvio padrão da percentagem de redução da concentração alveolar mínima do isoflurano (CAM_{ISO}) determinada 2,5 e 5 horas após a administração intravenosa de 0,5 ou 1,0 mg/kg de metadona em seis cães.

* Diferença significativa em relação à primeira determinação de CAM_{ISO} (2,5 h)

+ Diferença significativa entre tratamentos (Credie et al., 2009)



Os efeitos cardiovasculares da metadona na espécie canina se encontram bem caracterizados. Em cães conscientes, de forma geral, este opióide resulta em redução da frequência (FC) e do índice cardíaco (IC) e elevação da pressão arterial média (PAM) (Maiente et al., 2009; Garofalo, 2010). O impacto da metadona nestes parâmetros, entretanto, se mostrou muito variável entre estudos. Em estudo onde a população de cães avaliada se mostrou predominantemente sedada após a administração da metadona (Maiente et al., 2009), as reduções na FC e no IC (46 e 52%, em relação ao valor basal, respectivamente) foram muito mais intensas que as observadas em outro estudo (Garofalo, 2010) onde todos os cães se mostraram disfóricos (33% e 22% em relação ao valor basal, respectivamente). Garofalo (2010), diante da elevação das concentrações plasmáticas de epinefrina e norepinefrina em seus cães disfóricos após a administração da metadona, sugeriu que o aumento da atividade simpática em decorrência do fenômeno excitatório causado pelo opióide em animais livres de dor tendeu a compensar a depressão cardíaca promovida pela metadona (Garofalo, 2010).

Em cães anestesiados com isoflurano, por sua vez, a depressão cardíaca promovida pela metadona é muito mais pronunciada que em cães conscientes (Garofalo, 2010). Esta intensificação no efeito cardiodepressor da metadona em cães anestesiados (redução de FC e IC em aproximadamente 60% do valor basal) foi relacionada à inibição do tônus simpático promovida pelo isoflurano, uma vez que nestes animais não houve elevação nas concentrações plasmáticas de catecolaminas (Garofalo, 2010). Tanto em cães conscientes quanto anestesiados

com isoflurano a administração da metadona resultou em aumento nas concentrações séricas de vasopressina. Este hormônio parece estar envolvido no aumento da resistência vascular periférica observada principalmente em cães anestesiados (Garofalo, 2010).

A metadona deprime a resposta ventilatória ao CO₂ em cães conscientes (Schlitt et al., 1978). Entretanto, este efeito depressor não resulta em alterações hemogasométricas de grande significado clínico em animais hígidos conscientes tratados com metadona nas doses recomendadas (até 1 mg/kg) (Maiante et al., 2009; Garofalo, 2010). Em animais submetidos à anestesia geral inalatória, por sua vez, a administração de metadona pode ser sucedida por redução intensa na frequência respiratória ou mesmo apnéia, necessitando que suporte ventilatório artificial (Leibetseder et al., 2006; Garofalo, 2010).

O *panting* é frequentemente observado após a administração da metadona em cães livres de dor, assim como ocorre com outros opióides (Smith et al., 2001; Monteiro et al., 2008; Maiante et al., 2009; Garofalo, 2010). Este evento parecer estar relacionado à interferência do opióide no centro termorregulador hipotalâmico, que, por sua vez, passa a reconhecer falsamente a temperatura corpórea como elevada e desencadeia o aumento compensatório da frequência respiratória (Pascoe, 2000).

Emprego de opióides pela via peridural

A administração de fármacos pela via espinhal, de uma forma geral, tem como objetivo favorecer seu acesso aos receptores-alvo presentes na medula espinhal, dada a proximidade anatômica entre o sítio de aplicação e o sítio de ação (Skarda, 1996; Bernards, 2004). Em vista desse “acesso facilitado”, doses menores de opióides que as empregadas por vias parenterais podem proporcionar efeito analgésico similar, mais intenso e/ou mais prolongado. Além disso, o uso de doses reduzidas tende a limitar a ocorrência de efeitos colaterais (ex: bradicardia e depressão respiratória), que frequentemente ocorrem quando o opióide administrado por via sistêmica atinge o tronco cerebral (Skarda, 1996).

Contudo, o fato de um opióide ser injetado pela via peridural não garante que seu efeito analgésico seja seletivamente mediado por mecanismos espinhais (Bernards, 2004). De fato, alguns estudos no homem demonstraram que a infusão contínua peridural de opióides lipofílicos como fentanil, alfentanil e sufentanil, não apresentou vantagens em relação à sua administração por infusão contínua intravenosa (Ellis et al., 1990; Loper et al., 1990; Camu & Debucquoy, 1991; Glass et al., 1992; Geller et al., 1993; Miguel et al., 1994; Coda et al., 1999) e que, independente da via de administração, os níveis plasmáticos atingidos foram similares (Loper et al., 1990; Glass et al., 1992; Miguel et al., 1994; Coda et al., 1999).

Diante das contradições encontradas na literatura sobre o real mecanismo de ação (espinhal *versus* supra-espinhal) dos opióides lipofílicos administrados pela via peridural, Ginosar et al. (2003) se propuseram a avaliar a influência da forma de administração (*bolus* ou infusão contínua) do fentanil pela via peridural sobre as características do efeito analgésico promovido, correlacionando-as com as concentrações plasmáticas atingidas. Os resultados desse estudo demonstraram que o efeito analgésico se caracterizou com sendo segmentar e não relacionado à concentração plasmática quando o opióide foi administrado em *bolus* e não-segmentar e relacionado à concentração plasmática quando administrado por infusão contínua (Ginosar et al., 2003). Dessa forma, foi sugerido que administração em *bolus* estabelece um gradiente que favorece a biodisponibilidade espinhal do opióide (efeito espinhal), enquanto o mesmo não acontece quando fármaco é lentamente injetado no espaço peridural, o que, por sua vez, favorece sua absorção sistêmica (efeito supra-espinhal) (Ginosar et al., 2003).

Os opióides modulam o impulso nociceptivo em níveis espinhais e supra-espinhais. Receptores opióides μ , κ e δ estão presentes nas terminações pré-sinápticas das fibras aferentes nociceptivas e nos neurônios de projeção ou interneurônios do corno dorsal da medula espinhal (lamina I e II) (Besse et al., 1990; Besse et al., 1991). Já os receptores μ e δ são os mais comuns na substância cinzenta periaquedutal (uma das estruturas envolvidas na modulação descendente da dor) (Waksman et al., 1986). Em níveis supra-espinhais, os opióides não somente ativam as vias antinociceptivas descendentes, como também inibem a inibição mediada pelo ácido gama-

aminobutírico (GABA) nesta mesma via (desinibição) (Vanderah, 2007). Em níveis espinhais, estes fármacos atuam em receptores opióides das terminações pré-sinápticas das fibras aferentes, bloqueando indiretamente os canais de cálcio e propiciando a abertura de canais de potássio, o que, por sua vez, resulta em hiperpolarização da célula neuronal e inibição da liberação de glutamato e substância P (Vanderah, 2007; Lamont, 2008). Ao atuarem em receptores opióides das terminações pós-sinápticas dos neurônios de projeção ou interneurônios, os opióides também inibem a ascensão do estímulo nociceptivo por hiperpolarização através da abertura de canais de potássio (Vanderah, 2007; Lamont, 2008).

Teoricamente, para que um opióide administrado pela via peridural produza efeito analgésico, se faz necessário que o mesmo se desloque do espaço peridural e atinja os receptores opióides presentes no corno dorsal da medula espinhal. Este deslocamento do fármaco do espaço peridural para a medula espinhal, no entanto, não segue um trajeto exclusivo e regiões circunvizinhas podem “competir” consideravelmente por sua disponibilidade (Bernards, 2002).

Embora outras propriedades físico-químicas influenciem a cinética de um opióide administrado pela via peridural, a lipossolubilidade (Tabela 1) do agente parece ser um dos fatores mais relevantes que governam sua distribuição pelos tecidos e compartimentos do organismo. Bernards et al. (2003), estudando a cinética peridural de 4 diferentes agonistas totais de receptores μ , observaram que a lipossolubilidade do opióide apresentou correlação linear com seu tempo médio de permanência e sua meia-vida de eliminação terminal do espaço peridural. As diferenças farmacocinéticas dependentes da lipossolubilidade observadas entre os opióides estão extremamente relacionadas à extensão com que os esses diferentes fármacos se difundem para o tecido adiposo peridural (Bernards, 2004). Dessa forma, o longo tempo médio de permanência e a meia-vida de eliminação terminal mais prolongada dos opióides mais lipofílicos podem ser justificados pela intensa difusão para a gordura peridural e liberação lenta do fármaco nesse compartimento (Bernards et al., 2003; Bernards, 2004).

Tabela 1 - Coeficiente de distribuição aparente de diferentes opióides (octanol / tampão ou água em pH = 7,4 a 37 °C)

Opióide	Coeficiente de Distribuição
Morfina	1,0 ^c – 1,27 ^b - 1,42 ^a
Meperidina	39 ^a
Metadona	116 ^a
Alfentanil	130 ^c
Fentanil	706 ^b - 955 ^c
Sufentanil	1737 ^c

^a Kaufman et al., 1975; ^b Plummer et al., 1990; ^c Mather, 1983.

Em contrapartida, o longo tempo médio de permanência de um opióide lipofílico no espaço peridural incorre em baixas concentrações do fármaco no fluido cérebro-espinhal (FCE) (Bernards et al., 2003; Bernards, 2004). Esse fato explica porque as concentrações de alfentanil e fentanil atingidas no FCE são relativamente menores que a da morfina (um fármaco hidrofílico) (Bernards et al., 2003; Bernards, 2004).

O desvio do opióide para a gordura peridural, entretanto, não explica toda a farmacocinética dos opióides lipofílicos. O espaço peridural é extremamente vascularizado e a absorção sistêmica do opióide administrado pela via peridural também pode ocorrer (Bernards, 2004). O alfentanil é um exemplo de opióide que, apesar de apresentar lipossolubilidade intermediária entre a da morfina e do fentanil, atinge concentrações plasmáticas mais elevadas que os outros dois opióides citados após administração peridural (Bernards et al., 2003). Portanto, pode-se considerar que a biodisponibilidade do alfentanil no FCE é relativamente menor que a da morfina, uma vez que esse opióide é rapidamente sequestrado pela gordura peridural e rapidamente depurado do espaço peridural para a circulação sistêmica (Bernards, 2004).

Se por um lado a maior biodisponibilidade de um opióide no FCE permite seu melhor acesso aos receptores-alvo espinhais, por outro, essa característica farmacocinética favorece sua difusão rostral no espaço subaracnóide (Bernards et al., 2003; Bernards, 2004). A difusão rostral através do FCE, como ocorre com a

morfina, ajuda a explicar o efeito analgésico segmentar abrangente (incluindo tórax e membros torácicos) observado após sua administração peridural lombo-sacra (Valverde et al., 1989).

Outro fator importante é a biodisponibilidade do opióide no fluido extracelular da medula espinhal, pois um fármaco que se apresente em altas concentrações nesse fluido é capaz de se difundir para a substância cinzenta e se ligar facilmente aos receptores opióides (Bernards, 2004). Há a hipótese que fármacos mais lipossolúveis são seqüestrados para a substância branca da medula espinhal, que é rica em lipídios, enquanto que fármacos hidrofílicos se apresentam em maior proporção na substância cinzenta tornando-se mais disponíveis para atuar nos receptores-alvo (Bernards, 2004).

Há vários estudos no homem avaliando a eficácia analgésica da metadona pela via peridural na dor pós-operatória (Welch & Hrynaszkiewicz, 1981; Torda & Pybus, 1982; Beeby et al., 1984; Evron et al., 1985; Villalonga et al., 1989; Haynes et al., 1993). Embora todos deles comprovem a alta eficácia analgésica da metadona pela via peridural, a duração do efeito é substancialmente menor que a promovida por sua administração sistêmica (> 18 horas) (Gourlay et al., 1982). Além disso, a metadona peridural no homem, embora promova analgesia com menor latência (17 e 36 minutos, respectivamente) que a proporcionada pela morfina peridural, a duração de ação do seu efeito também é substancialmente (5-9 e 16 horas, respectivamente) (Bromage et al., 1980; Torda & Pybus, 1982).

De acordo com a literatura consultada, há somente um estudo avaliando especificamente o efeito analgésico da metadona peridural na espécie canina (Leibetseder et al., 2006). Neste estudo, a administração preemptiva de 0,3 mg/kg de metadona pela via peridural lombo-sacra em cães submetidos à cirurgia de reconstrução de ligamento cruzado proporcionou maior redução no requerimento de isoflurano necessário para a manutenção do plano anestésico que a mesma dose do opióide administrado pela via intravenosa em procedimento com duração superior à 120 minutos. Por outro lado, maior eficácia analgésica da metadona peridural em relação à sua administração intravenosa no período pós-operatório não pode ser comprovada (analgesia com duração aproximada de 7 e 6 horas, respectivamente) (Leibetseder et al., 2006).

Capítulo 1:

“COMPARAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA METADONA PERIDURAL E INTRAVENOSA EM CÃES ANESTESIADOS COM ISOFLURANO”

RESUMO

Objetivou-se comparar a farmacocinética da metadona administrada pela via peridural ou intravenosa em cães anestesiados com isoflurano. Através de delineamento cruzado, seis cães adultos ($16,5 \pm 2,5$ kg) foram anestesiados com isoflurano em 2 ocasiões distintas (intervalos mínimos de 7 dias) e tratados, de forma aleatória, com metadona ($0,5$ mg/kg em $0,25$ mL/kg) pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamento MEP). Em ambos os tratamentos, o plano anestésico foi mantido com concentrações equipotentes de isoflurano. Amostras de sangue arterial e líquido da região atlânito-occipital foram colhidas antes e após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos da administração do opióide. As concentrações de metadona no plasma e no líquido foram mensuradas através de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa e analisadas através da ANOVA bifatorial seguida pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os parâmetros farmacocinéticos foram comparados através de teste t ($P < 0,05$). Os dados estão apresentados como média $\pm$ desvio padrão. O emprego da via intravenosa resultou em concentrações de metadona no plasma e no líquido significativamente maiores que o emprego da via peridural durante 30 e 60 minutos, respectivamente. A concentração plasmática obtida após 10 minutos da administração da metadona foi $291,6 \pm 95,2$ ng/mL e $83,3 \pm 23,2$ ng/mL nos tratamentos MIV e MEP, respectivamente. Com a via intravenosa, o pico de concentração de metadona no líquido foi significativamente maior ($C_{\max} = 8,32 \pm 1,70$ ng/mL) e mais precoce ($T_{\max} = 18 \pm 4$ minutos) que com a via peridural ($1,82 \pm 0,45$ ng/mL e 55 ± 12 minutos para $C_{\max}$ e $T_{\max}$, respectivamente). A meia-vida de distribuição ($11,4 \pm 1,9$ e $11,7 \pm 3,6$ minutos; tratamentos MIV e MEP, respectivamente), a taxa de depuração ($30,0 \pm 5,9$ e $29,6 \pm 6,0$ mL/min/kg) e o volume de distribuição em estado de pseudo-equilíbrio ($6,4 \pm 2,0$ e $9,6 \pm 4,6$ L/kg) foram similares entre os tratamentos, enquanto a meia-vida de eliminação foi significativamente maior com o emprego da metadona pela via

peridural ($3,7 \pm 1,1$ horas *versus* $2,4 \pm 0,4$ horas no tratamento MIV). A biodisponibilidade da metadona peridural foi de aproximadamente 73%. O emprego da metadona pela via peridural modifica a farmacocinética observada com a via intravenosa, retardando a sua eliminação do plasma e resultando em baixas concentrações do opióide no líquido da cisterna magna. Tais concentrações fornecem subsídios para o entendimento da ação analgésica segmentar da metadona peridural.

Palavras-chave: opióide, concentração plasmática, líquido.

Key-words: opiod, plasma concentration, liquor.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Observa-se que a absorção sistêmica de opióides administrados pela via peridural é influenciada por sua lipo / hidrossolubilidade (Bernards et al., 2003; Bernards, 2004). A morfina, um opióide de baixa lipossolubilidade (coeficiente de partição octanol / água ou tampão = 1,27 - 1,42) (Kaufman et al., 1975; Plummer et al., 1990), quando administrada pela via peridural, é rapidamente absorvida para a circulação sistêmica, resultando em concentrações plasmáticas semelhantes às obtidas com a administração da mesma dose pela via intravenosa (Andersen et al., 1986). Por outro lado, a administração peridural de opióides de elevada lipossolubilidade, como o fentanil (coeficiente de partição octanol / tampão = 706) (Plummer et al., 1990), resulta em concentrações plasmáticas significativamente menores que as obtidas pela via intravenosa; fato que está relacionado à retenção do opióide nas meninges / tecido adiposo peridural (Andersen et al., 1986).

A metadona apresenta elevada lipossolubilidade (coeficiente de partição octanol / água = 116) (Kaufman et al., 1975), a qual é equiparável à lipossolubilidade do tiopental (Di Francesco & Bickel, 1985). Diante disto, a hipótese formulada é que a administração peridural de metadona (0,5 mg/kg), semelhantemente a outros opióides de elevada lipossolubilidade, resultaria em concentrações plasmáticas menores [valores de área sob a curva de concentração *versus* tempo (ASC) menores] que as observadas com a administração de dose idêntica pela via intravenosa. A liberação lenta do opióide acumulado no tecido peridural para a circulação sistêmica resulta no prolongamento de sua meia-vida de eliminação no plasma (Bernards et al., 2003; Bernards, 2004). Com base nestas evidências e na característica lipossolúvel da metadona (Kaufman et al., 1975; Di Francesco & Bickel, 1985; Betschart et al., 1988), também formulou-se a hipótese que a meia-vida de eliminação da metadona no plasma ($T_{1/2\beta}$) seria mais prolongada com a administração do opióide pela via peridural do que com a sua administração intravenosa.

Para testar as hipóteses mencionadas, o presente estudo objetivou comparar a farmacocinética da metadona (0,5 mg/kg) administrada pela via peridural ou intravenosa em cães anestesiados com isoflurano.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu (Protocolo nº 189/2007-CEEA).

Animais – Foram utilizados seis cães adultos, sem raça definida, com peso corpóreo de $16,5 \pm 2,5$ Kg (média $\pm$ desvio padrão), sendo 2 machos e 4 fêmeas castrados. Todos os animais foram imunizados com vacinas antirrábica e óctupla e receberam controle profilático contra ecto e endoparasitoses com regularidade anual. Dentro de 30 dias do início do estudo, a higidez dos animais foi atestada por meio de exame clínico e testes laboratoriais (hemograma, perfil bioquímico hepático e renal e hemogasometria venosa) com resultados dentro dos limites de normalidade. Em adição a estes exames, no dia anterior a cada experimento, foram mensurados os valores de hematócrito (Ht), proteínas plasmáticas totais (PPT) e hemogasometria venosa para confirmar se estes se encontravam dentro da normalidade (Ht = 45-53%, PPT = 6-8 g/dL, pH = 7,35-7,45; PCO_2 = 35-45 mmHg e HCO_3^- = 18-22 mmol/L).

Protocolos Experimentais – Cada animal foi anestesiado com isoflurano¹ em 2 ocasiões distintas, com intervalo mínimo de 7 dias entre cada anestesia. Em uma das anestésias, os animais receberam a metadona² na dose de 0,5 mg/kg pela via intravenosa (tratamento MIV), enquanto na outra anestesia, a mesma dose de metadona foi administrada pela via peridural (tratamento MEP). Adotou-se um delineamento cruzado, onde a ordem dos tratamentos foi aleatória. Os volumes finais administrados pela via intravenosa e peridural foram ajustados para 0,25 mL/kg com solução de NaCl a 0,9%. Foi utilizada formulação de metadona racêmica livre de preservativos. Tanto pela via peridural quanto pela via intravenosa, a metadona foi administrada durante um período de 1 minuto. Imediatamente após a administração da metadona, o espaço-morto dos cateteres intravenoso ou peridural foi preenchido com 1 mL de solução de NaCl a 0,9%, para garantir que todo o volume da solução contendo o fármaco avaliado fosse injetado em sua respectiva via.

¹ Isoforine, Cristália, Itapira, SP, Brasil.

² Mytedon, Cristália, Itapira, SP, Brasil.

Preparo dos animais – Após jejum alimentar de 12 horas sem restrição hídrica, a anestesia foi induzida com isoflurano diluído em oxigênio através de máscara facial. O vaporizador calibrado³ foi ajustado de forma a vaporizar uma concentração de 5% em um fluxo de O₂ de 5 L/min até que os animais apresentassem ausência de resposta ao pinçamento interdigital e reflexo palpebral, indicando condições adequadas para a intubação endotraqueal. Imediatamente após a intubação, a sonda endotraqueal com cuff foi conectada a um circuito circular valvular⁴, o fluxo de O₂ reduzido para 1 L/min e o vaporizador reajustado de forma a manter os animais em plano moderado de anestesia de acordo com julgamento clínico.

Com os animais em decúbito lateral, foi realizada a cateterização percutânea da veia cefálica e da artéria dorsal podal. O acesso venoso foi utilizado para a infusão de Ringer com lactato de sódio (5 mL/kg/h) por meio de bomba de infusão peristáltica⁵ e para administração da metadona (tratamento MIV). O cateter arterial foi conectado a um transdutor de pressão para mensuração da pressão arterial sistólica, média e diastólica (PAS, PAM e PAD) através de monitor multiparamétrico⁶. O transdutor de pressão foi posicionado na altura do coração (externo) com o valor zero de referência (0 mmHg) ajustado periodicamente de acordo com a pressão ambiente. A via arterial também foi utilizada para colheita de amostras de sangue para hemogasometria⁷ e para mensuração da concentração plasmática de metadona. A análise hemogasométrica de cada amostra foi realizada imediatamente após a colheita e seus valores foram corrigidos de acordo com a temperatura corpórea (T). A T foi aferida através de um sensor trans-esofágico⁶, posicionado de forma que sua extremidade distal atingisse a porção torácica do esôfago, e mantida entre 37,5 e 38,5 °C com o emprego de colchão termo-elétrico⁸ e insuflador de ar aquecido⁹. Para monitoração da frequência cardíaca (FC) e do ritmo cardíaco foi empregada a derivação II do eletrocardiograma⁶.

Utilizou-se um analisador de gases infravermelho⁶, conectado à peça intermediária situada entre o circuito anestésico e a sonda endotraqueal, para a

³ Inter VPZ ISO – Intermed®, São Paulo, SP, Brasil – FAPESP Proc. 05/56586-7.

⁴ Inter Línea C – Intermed®, São Paulo, SP, Brasil – FAPESP Proc. 05/56586-7.

⁵ 550 T2 – Samtronic, São Paulo, SP, Brasil.

⁶ DATEX Engstrom A/S 3, Helsinki, Finland – FAPESP Proc. 98/00748-3.

⁷ pH/Blood Gas Analyzer Model 348 – Chiron Diagnostics, Halstead, England – FAPESP Proc. 98/00748-3.

⁸ Estek® – Ortovet, São Paulo, SP, Brasil.

⁹ Warmtouch® – Mallinkrodt, Pleasanton, CA, EUA – FAPESP Proc. 00/13695-7.

amostragem contínua dos gases das vias aéreas (200 mL/min) e determinação das concentrações expiradas de isoflurano (ET_{ISO}) e CO_2 ($ETCO_2$). Antes de cada experimento, o analisador de gases foi calibrado com amostra de gás padrão¹⁰, composta por 3% de agente anestésico (enflurano), 55% O_2 , 33% N_2O e 5% CO_2 . A calibração foi considerada adequada quando a variação no vol% do agente anestésico foi menor ou igual a 0,03% em relação ao valor de referência (3%). Durante o experimento, foi realizada ventilação com pressão controlada⁴. A pressão inspiratória máxima e a frequência respiratória foram ajustadas de forma a prevenir hipercapnia ($PaCO_2 > 45$ mmHg).

A cateterização peridural foi realizada quando os animais foram submetidos ao tratamento MEP. A técnica foi realizada com os animais posicionados em decúbito esternal e seus membros pélvicos estendidos cranialmente. A região adjacente ao ponto de punção foi submetida à tricotomia e antissepsia com iodopovidina e álcool 70% (Figura 1.1-A). Para a punção do espaço peridural foi utilizada agulha de Tuohy 18 GA¹¹, a qual foi inserida num ângulo aproximado de 60 graus com a pele, entre a 7ª vértebra lombar (L_7) e a 1ª vértebra sacral (S_1) (Figura 1.1-B). O bisel da agulha foi introduzido com a abertura distal voltada cranialmente. O posicionamento correto da agulha no espaço peridural foi confirmado através da aspiração de uma gota de solução salina inserida no canhão da agulha e através da ausência de resistência à injeção de um pequeno volume de solução salina (1 mL), concomitantemente à ausência de líquido ou sangue à aspiração. Caso fosse constatada a presença de sangue à aspiração, a agulha era removida e subsequentemente reintroduzida. Nos casos de punção subaracnóide inadvertida (verificada através da obtenção de líquido durante a aspiração), a anestesia era interrompida e o animal era anestesiado em outro dia (intervalo mínimo de 7 dias entre anestésias). Diante da confirmação do posicionamento da agulha, um cateter peridural 18 GA¹² foi introduzido através da mesma (Figura 1.1-C). A introdução do cateter foi considerada adequada quando o mesmo progredia sem resistência através da agulha em aproximadamente 20 cm de sua extensão. Após a remoção da agulha de Tuohy, o cateter foi reposicionado de forma que apenas 10 cm de sua extensão permanecessem no interior do espaço peridural. Este reposicionamento foi

¹⁰ Quick Cal™ Calibration Gás, Datex-Engstrom Division Instrumentarium Corp, Helsinki, Finland.

¹¹ BD Tuohy, Bencton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda, Juiz de Fora, MG, Brasil.

¹² Portex® Epidural Catheter, Smiths Medical Systems, Newton, MA, USA.

realizado de acordo com as marcações presentes no cateter e levou em consideração a profundidade com que a agulha de Tuohy atingiu o espaço peridural. De acordo com exame radiográfico prévio (Figura 1.2), em todos os animais do estudo, ao se introduzir a extensão de 10 cm do cateter no interior do espaço peridural a partir da punção lombo-sacra, a extremidade distal do cateter atingiria a altura da 4ª vértebra lombar (L₄). O cateter peridural foi mantido até o final do experimento. Para que não houvesse contaminação ou deslocamento, o cateter peridural foi transposto no tecido subcutâneo adjacente com o auxílio da agulha de Tuohy (Figura 1.1-D) e, em seguida, protegido com adesivo específico¹³ (Figura 1.1-E e 1.1-F).



Figura 1.1 - Cateterização peridural: (A) tricotomia e antissepsia; (B) introdução da agulha de Tuohy no espaço lombo-sacro; (C) introdução do cateter peridural através da agulha de Tuohy; (D) transposição do cateter peridural no tecido subcutâneo adjacente; (E) finalização do posicionamento do cateter; (F) colocação do adesivo protetor

¹³ NeoDerm[®]TM, ConMed[®] Corporation, NY, USA.

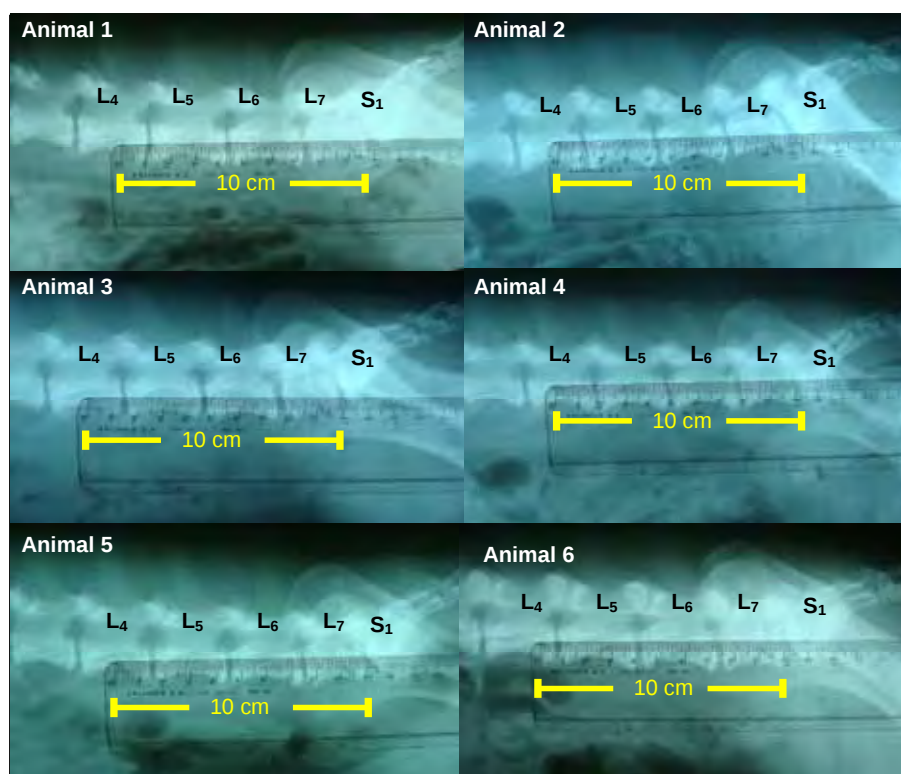


Figura 1.2 - Radiografias latero-laterais da coluna lombo-sacra dos animais, realizadas antes do início do estudo. Em cada imagem está marcada a altura que a extremidade distal do cateter peridural atingiria ao serem inseridos 10 cm de sua extensão no canal vertebral (L₄ para todos os animais)

Ajustes na concentração expirada de isoflurano (ET_{ISO}) – Durante o período de colheita das amostras de plasma e líquido para a avaliação da farmacocinética da metadona intravenosa ou peridural, a anestesia foi mantida com concentrações equipotentes de isoflurano ($ET_{ISO} = 1,3 \text{ CAM}_{ISO}$). Estas concentrações se basearam nos resultados obtidos no estudo do *Capítulo 2*, onde os valores de CAM_{ISO} individual foram determinados antes (basal) e após 2,5 e 5 horas da administração da mesma dose de metadona intravenosa ou peridural empregadas no presente estudo. Entretanto, como o efeito redutor máximo da CAM_{ISO} promovido pela metadona intravenosa e peridural ocorre em um período anterior às 2,5 horas de sua aplicação (período em que não foi determinado a CAM_{ISO} no estudo do *Capítulo 2*), na primeira hora pós-metadona, a ET_{ISO} foi ajustada em $1,3 \text{ CAM}_{ISO}$, considerando-se 40 a 50% de redução da CAM_{ISO} . Esta conduta foi adotada com o objetivo de minimizar as alterações cardiovasculares (redução da PAM) promovidas pela manutenção dos animais em planos mais profundos de anestesia.

Colheita das amostras de plasma e líquido – Amostras de sangue arterial (5 mL) e líquido (1 mL) para a mensuração da concentração de metadona foram colhidas antes (basal) e após 10, 20, 30, 60, 150 e 450 minutos da administração intravenosa ou peridural do opióide.

As amostras de sangue arterial foram colhidas da artéria dorsal podal em tubos contendo heparina lítica e imediatamente centrifugadas¹⁴ a 4 °C por 10 minutos a 1000 g. O plasma obtido foi separado e estocado em freezer¹⁵ a -70 °C para análise posterior.

Para a colheita de amostras de líquido, uma agulha espinhal 22 GA¹⁶ foi introduzida de forma asséptica entre a protuberância occipital e o atlas, com os animais posicionados em decúbito lateral e a cabeça flexionada ventralmente num ângulo de 90 graus com o pescoço. O posicionamento da agulha no espaço subaracnóide foi confirmado através da observação de extravasamento de líquido pelo canhão da agulha após a remoção do mandril. A agulha espinhal (juntamente com o mandril) foi mantida no local de punção durante todo o experimento. As amostras de líquido foram colhidas por gotejamento em tubos sem anticoagulante (Figura 1.3) e imediatamente estocados em freezer a -70 °C.

Para verificar a ocorrência de extravasamento de sangue / plasma oriundo da ruptura vascular durante a punção do espaço subaracnóide, que, por sua vez, influenciariam na concentração real de metadona no líquido, amostras adicionais (0,5 mL) de líquido foram colhidas e submetidas à contagem de hemácias (He) e células nucleadas (CN) e determinação da concentração de proteínas totais (PLT). Estas amostras foram colhidas em 3 momentos fixos (antes e após 150 e 300 minutos da administração da metadona intravenosa ou peridural) e imediatamente após a reintrodução da agulha espinhal, caso esta se deslocasse acidentalmente do espaço subaracnóide. As contagens de He e CN nas amostras de líquido foram realizadas, no máximo, 1 hora após a colheita, em câmara hematómica de Neubauer sem o

¹⁴ 2-16 PK - Centrífuga Refrigerada Sigma, Osterode am Harz, Germany - FAPESP Proc. 08/50302-5.

¹⁵ UPUL 580 Freezer Vertical - Dairei Europe S/A, Esbjerg, Denmark - FAPESP Proc. 08/50302-5.

¹⁶ Spinocan® - B Braun, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

uso de reagentes. A PLT foi mensurada através da técnica do Azul de Comassie¹⁷ em espectrofotômetro¹⁸.

A mensuração das concentrações de metadona no líquido foi realizada somente quando as amostras colhidas em cada dia experimental apresentavam menos que 500 He/ μ L e 10 CN/ μ L e PLT inferior a 40 mg/dL, indicando ausência ou mínima contaminação iatrogênica do líquido por sangue/plasma (valores referência em cães hígidos: ~0 He/ μ L; 0 a 5 CN/ μ L e PLT entre 10 e 40 mg/dL; Terlizze & Platt, 2006). Quando as amostras de líquido não atendiam aos requisitos mencionados, o animal era anestesiado em outra ocasião para a repetição do tratamento experimental (intervalo mínimo de 7 dias entre anestésias).



Figura 1.3 – Colheita de amostra de líquido através de uma agulha espinhal posicionada no espaço subaracnóideo mediante punção da região atlânto-occipital

Período pós-colheita das amostras – Após a colheita da última amostra de plasma e líquido (450 minutos após a administração da metadona), a agulha espinhal foi removida e meloxicam (0,2 mg/kg) e dipirona (25 mg/kg) foram administrados em dose única pela via intravenosa. Antes da remoção do cateter peridural e interrupção da anestesia inalatória, novo exame radiográfico foi realizado para a confirmação do posicionamento do cateter no espaço peridural. Para sua visualização, o espaço-morto do cateter peridural foi preenchido com volume similar (0,3 mL) de iohexol¹⁹.

¹⁷ Microprote - Doles®, Goiânia, Brasil.

¹⁸ SB-190 - CELM, Barueri, SP, Brasil.

¹⁹ Omnipaque - GE Healthcare CO LTD, Shanghai, China.

Condições Cromatográficas – Para a análise da concentração plasmática de metadona foi empregado o sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC)²⁰ equipado com detector de massas²¹, coluna C18 (3,5 µm, 4,6 mm x 75 mm)²² e injetor automático. A fase móvel utilizada foi constituída por ácido fórmico²³, diluído a uma concentração de 0,1%, e acetonitrila²⁴ (proporção de 1:1). O fluxo e o volume de injeção do sistema foram de 0,5 mL/min e 20 µL, respectivamente.

A detecção espectrométrica de massa foi realizada em um instrumento triplo quadripolo (MS/MS), utilizando o monitoramento de reações múltiplas (MRM). Íons foram gerados em modo de ionização positiva utilizando uma interface de eletrospray. Os parâmetros dependentes do composto de metadona estão descritos na Tabela 1.1. As razões das áreas de pico, obtidas a partir do MRM da metadona (m/z 310,2 - 256,2), foram utilizadas para a quantificação.

Tabela 1.1 - Parâmetros empregados na espectrometria de massa

Parâmetros	Valor
Capilaridade	2,8 kV
Voltagem do cone	25 V
Extrator	3 V
Temperatura da interface	120 °C
Temperatura de dessolvatação	300 °C
Fluxo de gás de dessolvatação (nitrogênio)	400 L/h

Validação do método bioanalítico – Para a construção da curva de calibração foram utilizadas amostras de plasma e líquido branco adicionadas com padrão de metadona²⁵ em 7 (1; 2,5; 5; 7,5; 15; 30 e 75 ng/mL) e 8 (0,5; 1; 2,5; 5; 7,5; 15; 30 e 75 ng/mL) concentrações diferentes, respectivamente. Empregou-se análise de regressão linear para definir matematicamente a curva de calibração (Figura 1.4).

²⁰ Waters Alliance®, Massachusetts, USA.

²¹ Waters Micromass®, Massachusetts, USA.

²² Symmetry®, São Paulo, SP, Brasil.

²³ Synth, Diadema, SP, Brasil.

²⁴ J.T. Baker, New Jersey, USA.

²⁵ Padrão metadona, Cristália, Itapira, SP, Brasil.

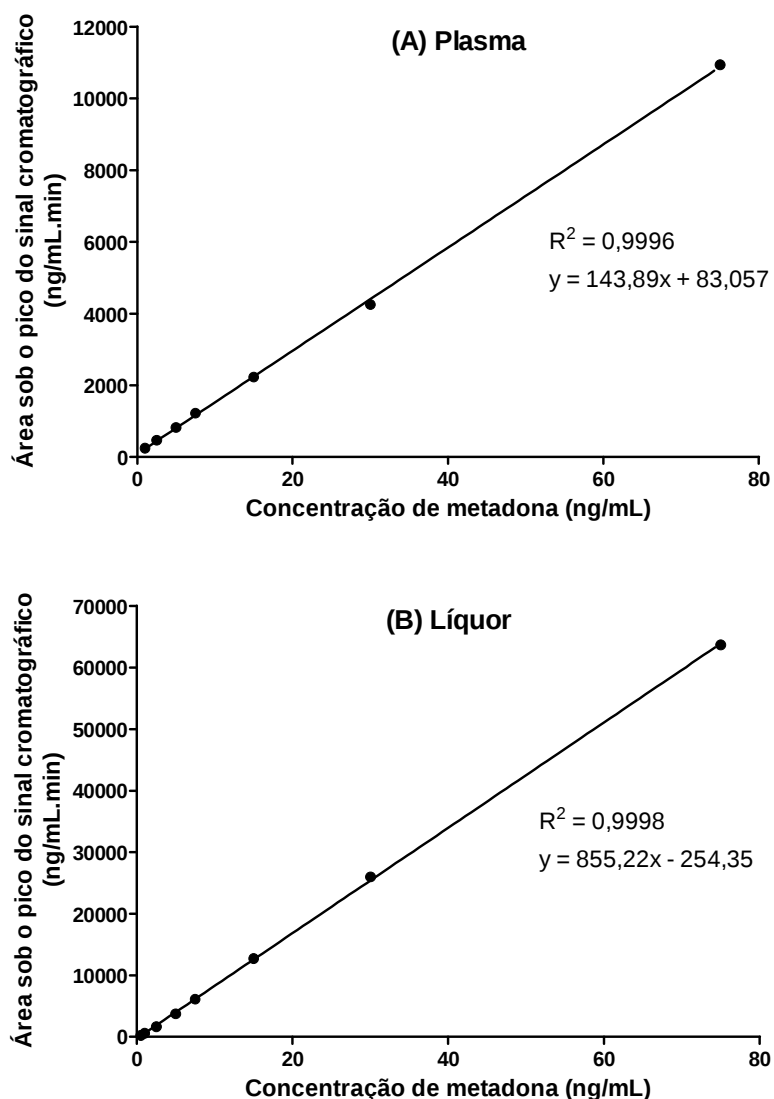


Figura 1.4 - Curva de calibração dos ensaios destinados às dosagens de metadona no plasma (A) e no líquido (B)

Os limites de confiança do método analítico foram determinados de acordo com as normas estabelecidas pela ANVISA (RE 899, 29 de maio de 2003), empregando parâmetros como linearidade, limite inferior de quantificação, limite de detecção, precisão, acurácia e estabilidade.

1. Linearidade: A linearidade do método foi avaliada através da análise de amostras de plasma e líquido contendo metadona nas concentrações utilizadas para a construção da curva de calibração. O método foi considerado linear quando o

coeficiente de variação (CV) até a maior concentração analisada foi menor que 15%. Todas as amostras foram analisadas em triplicata (Figura 1.4 e Tabelas 1.2 e 1.3).

Tabela 1.2 - Valores individuais de áreas sob o pico do sinal cromatográfico obtidos de amostras de plasma branco adicionadas com padrão de metadona em 7 concentrações diferentes (concentração real) e as médias $\pm$ desvios padrão (DP) das áreas obtidas em cada concentração (triplicata); cálculo dos coeficientes de variação (CV) das áreas feitas em triplicata ($CV = DP/média \cdot 100$); cálculo das concentrações mensuradas (a partir da equação definida pela regressão linear) e da inexatidão do ensaio em cada concentração $[(Conc. \text{ Mensurada}/Conc. \text{ Real} \cdot 100) - 100]$

Conc. Real (ng/mL)	Área (ng/mL.min)			Média $\pm$ DP Áreas 1, 2 e 3 (ng/mL.min)	CV (%)	Conc. Mensurada (ng/mL)	Inexatidão (%)
	1	2	3				
1	255,9	204,5	269,1	243,2 $\pm$ 34,1	14,0	1,09	9,3
2,5	402,2	530,01	460,8	464,4 $\pm$ 64,0	13,8	2,62	4,9
5	889,0	732,6	834,2	818,6 $\pm$ 79,4	9,7	5,07	1,5
7,5	1125,0	1244,7	1297,1	1222,3 $\pm$ 88,2	7,2	7,87	4,9
15	2136,01	2335,6	2201,7	2224,5 $\pm$ 101,7	4,6	14,80	-1,3
30	4260,1	4050,8	4426,9	4245,9 $\pm$ 188,5	4,4	28,78	-4,1
75	11271,9	10507,3	11016,3	10931,8 $\pm$ 389,2	3,6	75,03	0,04

Tabela 1.3. Valores individuais de áreas sob o pico do sinal cromatográfico obtidos de amostras de líquido branco adicionadas com padrão de metadona em 8 concentrações diferentes (concentração real) e as médias $\pm$ desvios padrão (DP) das áreas obtidas em cada concentração (triplicata); cálculos dos coeficientes de variação (CV) das áreas feitas em triplicata ($CV = DP/média \cdot 100$); das concentrações mensuradas (a partir da equação definida pela regressão linear) e da inexatidão do ensaio em cada concentração $[(Conc. \text{ Mensurada}/Conc. \text{ Real} \cdot 100) - 100]$

Conc Real (ng/mL)	Área (ng/mL.min)			Média $\pm$ DP Áreas 1, 2 e 3 (ng/mL.min)	CV (%)	Conc. Mensurada (ng/mL)	Inexatidão (%)
	1	2	3				
0,5	249,1	236,7	-	242,9 $\pm$ 8,8	3,6	0,58	16,3
1	597,2	630,5	549,5	592,4 $\pm$ 40,7	6,9	0,99	-1,0
2,5	1561,2	1771,5	1638,8	1657,2 $\pm$ 106,3	6,4	2,24	-10,6
5	3576,70	3749,7	3890,6	3739,1 $\pm$ 157,1	4,2	4,67	-6,6
7,5	6147,7	6203,7	5985,0	6112,1 $\pm$ 113,6	1,9	7,44	-0,7
15	12583,4	13375,0	12198,4	12718,9 $\pm$ 599,9	4,7	15,17	1,1
30	26453,6	26280,6	25217,5	25983,9 $\pm$ 669,3	2,6	30,68	2,2
75	65104,0	63400,67	62464,9	63656,5 $\pm$ 1338,0	2,1	74,73	-0,4

2. Limite Inferior de Quantificação (LIQ): O LIQ é definido como a menor quantidade de um analito numa amostra, a qual pode ser determinada quantitativamente com precisão e exatidão aceitáveis. O LIQ deve ser, no mínimo, cinco vezes superior a qualquer interferência da amostra de plasma/líquor branco. A resposta do analito no LIQ deve ser identificável e reprodutível com precisão de 20% (CV) e inexatidão de $\pm 20\%$ (exatidão de 80 a 120%). Este parâmetro foi

estabelecido por meio da análise da matriz biológica contendo concentrações decrescentes do analito até o menor nível quantificável com precisão e exatidão aceitáveis, utilizando-se 5 amostras de padrões (Tabelas 1.2, 1.3 e 1.4).

3. Limite de detecção (LD): o LD é definido como a menor concentração de um analito que o procedimento bioanalítico consegue diferenciar confiavelmente do ruído de fundo. Este parâmetro foi estabelecido por meio da análise de soluções com concentrações conhecidas e decrescentes do analito até o menor nível detectável. Recomenda-se que o LD seja 2 a 3 vezes superior ao ruído da linha de base ou ruído de fundo quando se analisa a amostra de plasma/líquor branco (Tabela 1.4).

Tabela 1.4. Limite inferior de quantificação (LIQ) e limite de detecção (LD) utilizados nas mensurações das concentrações de metadona no plasma e no líquido

	LIQ				LD			
	Conc. Real (ng/mL)	CV (%)	Conc. Mensurada (ng/mL)	Inexatidão (%)	Conc. Real (ng/mL)	CV (%)	Conc. Mensurada (ng/mL)	Inexatidão (%)
Plasma	1,0	14,0	1,09	9,3	0,5	0,4	1,37	174,1
Líquor	0,5	3,6	0,58	16,3	0,25	17,5	0,56	124,1

4. Precisão: a precisão do método foi avaliada através dos coeficientes de variação da análise de amostras de plasma acrescidos de 3 concentrações diferentes de metadona (baixa: 2,5 ng/mL; média: 15 ng/mL e alta: 75 ng/mL) durante 3 dias consecutivos (precisão interensaios ou reprodutibilidade), com 5 repetições num mesmo ensaio / dia experimental (precisão intra-ensaios ou repetibilidade) (Tabela 1.5).

Tabela 1.5. Repetibilidade (precisão intra-ensaios) e reprodutibilidade (precisão interensaios) do método de determinação da concentração plasmática de metadona. A repetibilidade foi calculada como o coeficiente de variação (CV; %) entre 5 repetições da análise da concentração de metadona no plasma para cada uma de 3 concentrações conhecidas de metadona (concentração real). A reprodutibilidade foi calculada como o coeficiente de variação de 3 ensaios / dias distintos

Concentração Real (ng/mL)	Repetibilidade (CV; %)			Reprodutibilidade (CV; %)
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	
2,5	6	8	13	10
15	11	13	11	9
75	5	10	4	6

5. Acurácia ou exatidão: a acurácia, definida como percentagem de erro sistemático, foi obtida pela concordância dos resultados obtidos experimentalmente (concentração mensurada) com os valores reais do fármaco na amostra (concentração real) (Tabela 1.6).

Tabela 1.6. Acurácia do método de determinação da concentração plasmática de metadona, calculada como a percentagem do erro sistemático $[(\text{Concentração Mensurada} / \text{Concentração Real} \times 100) - 100]$. A acurácia ideal é representada por um erro sistemático de 0%

Concentração Real (ng/mL)	Dia 1		Dia 2		Dia 3	
	Concentração Mensurada (ng/mL)	Erro sistemático (%)	Concentração Mensurada (ng/mL)	Erro sistemático (%)	Concentração Mensurada (ng/mL)	Erro sistemático (%)
2,5	2,87	14,7	2.28	-8,6	2.26	-9,6
15	15,03	0,2	14.92	-0,6	12.92	-13,9
75	76,43	1,9	72.55	-3,3	66.20	-11,7

6. Estabilidade: a estabilidade da metadona foi avaliada verificando-se se concentrações conhecidas de metadona apresentavam alterações após um período de armazenamento e pré-processamento laboratorial. As alíquotas foram preparadas em duas concentrações diferentes (baixa e alta) e em triplicatas. Para a análise da estabilidade após ciclos de congelamento e descongelamento, as amostras congeladas à temperatura de -20°C por 24 horas foram submetidas ao descongelamento à temperatura ambiente. Assim que completamente descongeladas, tais amostras foram novamente congeladas à temperatura anterior por 12 a 24 horas. Este procedimento foi realizado sucessivamente até completar 3 ciclos. O fármaco foi quantificado após o terceiro ciclo e os valores comparados aos obtidos na análise das amostras recém-preparadas.

A estabilidade pós-processamento é um parâmetro utilizado em sistemas automáticos, onde a estabilidade do fármaco é avaliada após seu processamento, nas mesmas condições de temperatura em que as análises das amostras serão realizadas e por período de tempo superior à duração da corrida analítica. Utilizou-se, no mínimo, 3 amostras com concentrações baixa e alta determinadas na validação do método analítico. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos na análise das amostras recém-preparadas.

Processamento de amostras – A metadona foi extraída do material biológico através da adição de 200 µL de acetonitrila a 200 µL de amostra, agitando-se por 10 minutos e centrifugando-se a 18000 *g* por 15 minutos. Uma alíquota de 20 µL do sobrenadante foi injetada no sistema LC/MS/MS para análise.

Parâmetros farmacocinéticos calculados – Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados com base nas curvas de concentração plasmática *versus* tempo. As curvas obtidas assumiram perfil de modelo bicompartimental, permitindo o cálculo da fase de distribuição.

As áreas sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo desde o momento zero até o último momento de coleta dos dados (450 min) ($ASC_{0 \rightarrow t}$) foram calculadas pelo método dos trapezóides e as áreas sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo desde o momento zero até infinito ($ASC_{0 \rightarrow \infty}$) foram calculadas através da equação:

$$ASC_{0 \rightarrow \infty} = ASC_{0 \rightarrow t} + C_{p_n} / \beta$$

onde C_{p_n} foi a última concentração plasmática determinada e β a constante de eliminação.

A biodisponibilidade (*F*) da metadona administrada pela via peridural foi calculada através da comparação das $ASC_{0 \rightarrow \infty}$ obtidas após a administração da metadona peridural ou intravenosa.

$$F = ASC_{0 \rightarrow \infty \text{ PERIDURAL}} / ASC_{0 \rightarrow \infty \text{ IV}} * 100$$

As relações entre $ASC_{0 \rightarrow t} / ASC_{0 \rightarrow \infty}$ foram analisadas com o objetivo de avaliar se o tempo de coleta foi adequado segundo o desenho experimental. Considerou-se como critério de aceitação uma relação de, no mínimo, 75%.

As constantes de distribuição (α) foram obtidas a partir da construção de uma nova curva de concentração plasmática *versus* tempo pelo método dos resíduos e as meia-vidas de distribuição calculadas através da equação:

$$t_{1/2\alpha} = 0,693 / \alpha$$

As constantes de eliminação (β) foram determinadas através da construção da equação exponencial para os resultados de concentração plasmática *versus* tempo e as meia-vidas de eliminação foram calculadas através da equação:

$$t_{1/2\beta} = 0,693 / \beta$$

As taxas de depuração (CI) e o volume de distribuição em estado de pseudo-equilíbrio ($V_{\text{área}}$) foram calculados pela aplicação das seguintes equações (ambos os modelos considerados independentes):

$$CI = \text{dose} \times F / ASC_{0 \rightarrow \infty}$$

$$V_{\text{área}} = CI / \beta$$

considerando $F = 1$ no cálculo da taxa de depuração da metadona administrada pela via intravenosa.

As concentrações máximas (C_{max}) de metadona no plasma e no líquido, assim como o seu tempo de ocorrência (T_{max}), foram obtidas diretamente dos dados experimentais.

Análise estatística – Os dados de concentrações de metadona no plasma e no líquido foram submetidos à análise de variância considerando 2 fatores (tratamento e momento) e a interação entre eles. Pelo fato de cada animal ter sido submetido aos 2 tratamentos e avaliados em mais de um momento, incorporou-se à análise a variabilidade inerente ao animal (medida repetida). Para comparações múltiplas foi utilizado o teste de Tukey.

Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados a partir das curvas de concentrações de metadona no plasma ou no líquido *versus* tempo, utilizando análise bicompartimental. Os parâmetros que apresentaram distribuição normal de acordo com o teste Kolmogorov-Smirnov foram submetidos ao teste t pareado, enquanto que aqueles que se mostraram assimétricos, foram submetidos ao teste de Wilcoxon.

As análises foram realizadas através do Proc Mixed do SAS, versão 9.2 e todos os testes foram realizados considerando o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Todos os animais se recuperaram da anestesia sem nenhuma complicação clinicamente detectável ao final de cada experimento. Durante a realização do tratamento MEP, a cateterização peridural foi executada com sucesso na primeira tentativa em todos os animais e, em nenhum deles, houve a aspiração de sangue ou líquido durante a realização da técnica. O exame radiográfico realizado ao término da colheita das amostras de plasma e líquido demonstrou que, em todos os animais, a extremidade distal do cateter peridural foi posicionada na altura da 4ª vértebra lombar (L₄) ou imediatamente adjacente a ela (L₃ em dois animais e L₅ em um animal). Dobras ou descolamento total do cateter peridural não foram observados (Figura 1.5).

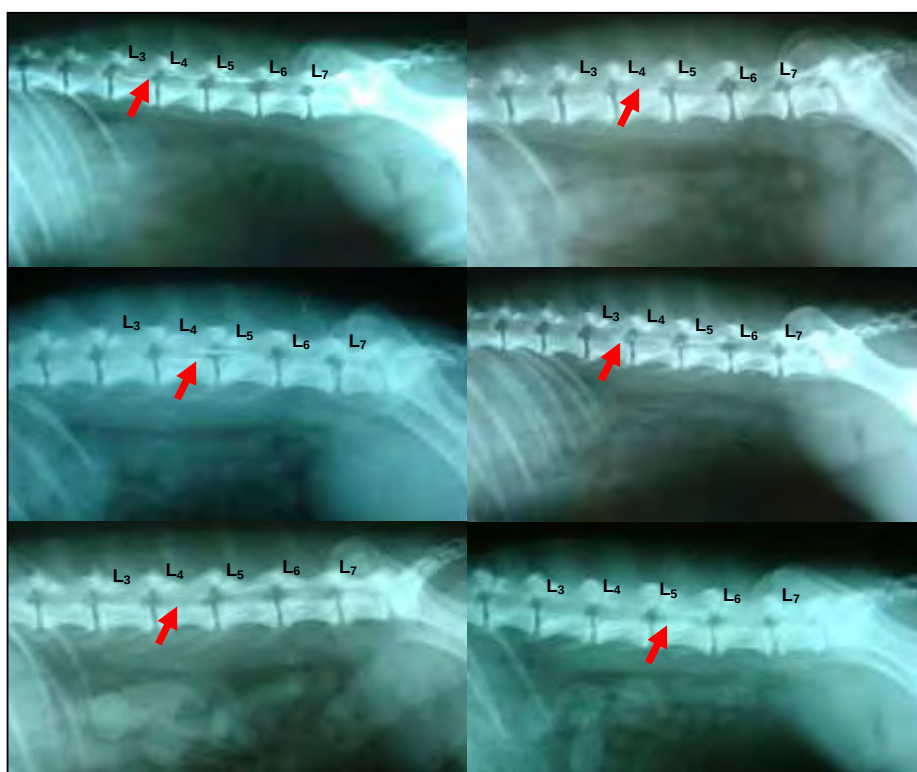


Figura 1.5 - Confirmação radiográfica do posicionamento do cateter peridural em seis animais tratados com metadona peridural (tratamento MEP). A seta indica o posicionamento da extremidade distal do cateter peridural

Nas amostras de líquido colhidas para a avaliação da contaminação iatrogênica por sangue/plasma, as contagens de He e CN foram iguais ou menores a

400 e 10 células/ μ L, respectivamente, enquanto que as concentrações de PLT variaram de 8,3 a 28 mg/dL (Apêndice I.I).

Em ambos os tratamentos, a metadona não foi detectada nas amostras de plasma (LD = 0,5 ng/mL) e líquido (LD = 0,25 ng/mL) colhidas antes da administração do opióide (momento basal) (Tabela 1.7).

A administração da metadona, tanto pela via intravenosa quanto peridural, foi sucedida por rápido aumento de sua concentração no plasma, com os valores de T_{max} observados aos 10 minutos em ambos os tratamentos. Após 10 minutos (T_{max}) da administração, a concentração plasmática de metadona foi significativamente maior no tratamento MIV (C_{max} = 291,6 ng/mL) que no tratamento MEP (C_{max} = 83,3 ng/mL). Nos momentos subsequentes, em ambos os tratamentos, houve decréscimo das concentrações, sendo que as do tratamento MIV permaneceram mais elevadas que no tratamento MEP durante os primeiros 30 minutos (Tabela 1.7 e Figura 1.6).

No tratamento MIV, a C_{max} da metadona no líquido foi significativamente maior ($8,32 \pm 1,70$ ng/mL) e ocorreu mais precocemente (T_{max} = 18 ± 4 minutos) que no tratamento MEP (C_{max} = $1,82 \pm 0,45$ ng/mL e T_{max} = 55 ± 12 minutos). Após atingir o pico, as concentrações de metadona no líquido diminuíram ao longo do tempo no tratamento MIV, enquanto que, no tratamento MEP, as concentrações permaneceram estáveis durante todo o período experimental. As concentrações de metadona no líquido foram significativamente maiores no tratamento MIV que no tratamento MEP durante os primeiros 60 minutos após a administração do opióide (Tabela 1.7 e Figura 1.6).

No tratamento MIV, houve uma correlação positiva entre a concentração de metadona no plasma (variável independente) e no líquido (variável dependente), resultando em coeficientes de determinação (R^2) de 0,75. No tratamento MEP, as concentrações de metadona no líquido não se correlacionaram com as concentrações plasmáticas do opióide (R^2 = 0,05) (Figura 1.7).

Tabela 1.7 - Médias e desvios padrão das concentrações de metadona mensuradas nas amostras de plasma e líquido colhidas antes (basal) e após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamento MEP) em seis cães anestesiados com isoflurano. As amostras de plasma foram colhidas da artéria dorsal podal e as de líquido, do espaço subaracnóide da região atlânto-occipital

	Plasma (ng/mL)		Líquor (ng/mL)	
	MIV	MEP	MIV	MEP
Basal	ND	ND	ND	ND
10 min	291,6 ± 95,2 ^{a†}	83,3 ± 23,2 ^a	7,7 ± 1,5 ^{a†}	0,8 ± 0,4 ^a
20 min	145,9 ± 34,1 ^{b†}	70,1 ± 20,9 ^{ab}	8,0 ± 2,2 ^{a†}	1,3 ± 0,4 ^a
30 min	99,1 ± 31,6 ^{bc†}	52,7 ± 16,7 ^{abc}	7,8 ± 1,7 ^{a†}	1,7 ± 0,5 ^a
60 min	49,6 ± 12,2 ^{cd}	32,1 ± 8,1 ^{abc}	6,6 ± 1,2 ^{a†}	1,8 ± 0,5 ^a
150 min	21,0 ± 3,9 ^d	16,4 ± 2,9 ^{bc}	2,2 ± 0,6 ^b	1,4 ± 0,4 ^a
300 min	10,5 ± 2,4 ^d	10,6 ± 2,2 ^c	1,4 ± 0,3 ^b	1,1 ± 0,2 ^a
450 min	7,1 ± 1,9 ^d	8,7 ± 1,4 ^c	1,0 ± 0,2 ^b	0,9 ± 0,2 ^a

ND: concentrações não detectáveis; limite inferior de quantificação (LIQ) e limite de detecção (LD) de 1 e 0,5 ng/ml no plasma e de 0,5 e 0,25 ng/mL no líquido, respectivamente.

Coluna: valores seguidos por letras distintas diferem significativamente (Tukey, $P < 0,05$);

Linha: † diferença significativa entre tratamentos para um mesmo tipo de amostra (Tukey, $P < 0,05$).

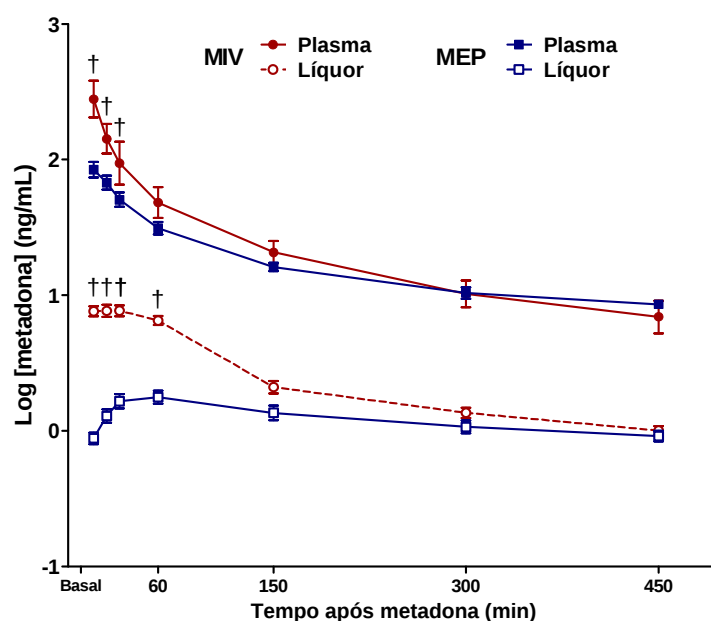


Figura 1.6 - Médias e desvios padrão das concentrações logarítmicas de metadona mensuradas nas amostras de plasma e líquido colhidas antes (basal) e após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamento MEP) em seis cães anestesiados com isoflurano. As amostras de plasma foram colhidas da artéria dorsal podal e as amostras de líquido, do espaço subaracnóide da região atlânto-occipital. † Diferença significativa entre tratamentos para um mesmo tipo de amostra (Tukey, $P < 0,05$)

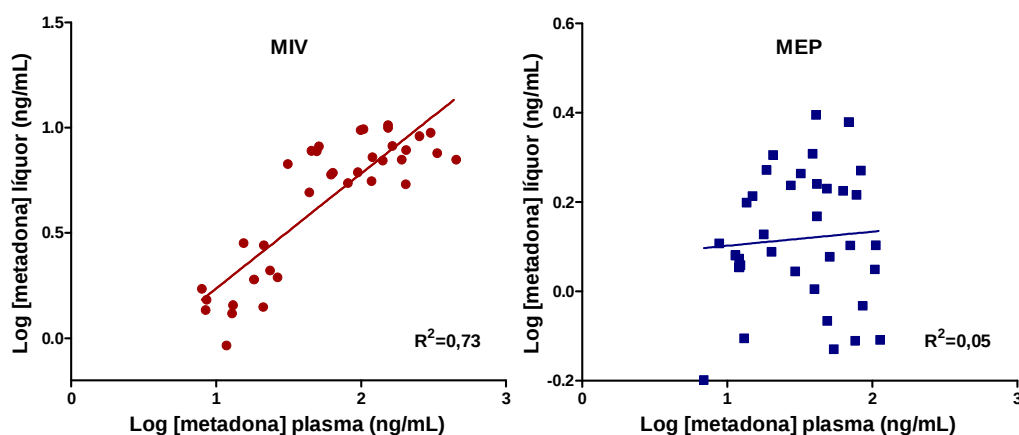


Figura 1.7 - Gráficos de dispersão das concentrações logarítmicas de metadona no plasma e no líquor (R^2 = coeficiente de determinação) mensuradas após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 min da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamento MEP) em seis cães anestesiados com isoflurano. As amostras de plasma foram colhidas da artéria dorsal podal e as amostras de líquor, do espaço subaracnóide da região atlânto-occipital

Os valores de $ASC_{0 \rightarrow t}$ e $ASC_{0 \rightarrow \infty}$ da metadona no plasma foram significativamente maiores no tratamento MIV que no tratamento MEP, refletindo na biodisponibilidade de 72,8% da metadona peridural. No plasma, a meia-vida de distribuição ($T_{1/2\alpha}$), a taxa de depuração (Cl) e o volume de distribuição em estado de pseudo-equilíbrio ($V_{\text{área}}$) da metadona foram similares entre os tratamentos. A meia-vida de eliminação ($T_{1/2\beta}$) da metadona no plasma após administração peridural foi significativamente mais elevada que após administração intravenosa (Tabela 1.8).

Tabela 1.8 - Parâmetros farmacocinéticos da metadona (0,5 mg/kg) no plasma após administração intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamento MEP) em seis cães anestesiados com isoflurano

	MIV	MEP	P
ASC_{0→t} (ng/ml.h)	263,0 ± 57,8 [244,0 (222,9-319,0)]	159,8 ± 37,8 [151,6 (126,4-199,1)]	0,001
ASC_{0→∞} (ng/ml.h)	288,3 ± 61,5 [268,8 (241,9-350,0)]	206,8 ± 45,1 [213,6 (160,7-238,8)]	0,008
α (min⁻¹)	0,0628 ± 0,0134 [0,0585 (0,0538-0,0703)]	0,0640 ± 0,1967 [0,0625 (0,0453-0,0835)]	0,853
T_{1/2α} (min)	11,4 ± 1,9 [11,9 (10,1-12,9)]	11,7 ± 3,6 [11,5 (8,3-15,3)]	0,739
β (min⁻¹)	0,0048 ± 0,0008 [0,0050 (0,0040-0,0053)]	0,0033 ± 0,0008 [0,0035 (0,0028-0,0040)]	0,007
T_{1/2β} (h)	2,43 ± 0,37 [2,31 (2,21-2,89)]	3,69 ± 1,13 [3,37 (2,89-4,33)]	0,027
Cl (mL/min/kg)	30,0 ± 5,9 [31 (23,9-34,6)]	29,6 ± 6,0 [30,0 (23,8-34,6)]	0,303
V_{área} (L/kg)	6,39 ± 1,96 [5,82 (4,78-8,31)]	9,62 ± 4,62 [7,90 (7,35-11,01)]	0,063
F (%)	-	72,8 ± 15,1 [68,6 (61,3-86,5)]	-

Valores apresentados como média ± desvio padrão [mediana (1º e 3º quartis)].
Nível de significância de 5% (teste t pareado ou teste de Wilcoxon).

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que o emprego da metadona pela via peridural modifica a farmacocinética observada com a via intravenosa, retardando a sua eliminação do plasma ($T_{1/2\beta}$ de 2,4 para 3,7 horas com as vias intravenosa e peridural, respectivamente) e resultando em baixas concentrações do opióide no líquido coletado da região atlânto-occipital. Estes resultados estão em consonância com a característica lipossolúvel deste opióide (Di Francesco & Bickel, 1985; Betschart et al., 1988), a qual pode favorecer seu acúmulo no tecido peridural e resultar em absorção lenta para a circulação sistêmica, aumentando a $T_{1/2\beta}$ (Toutain & Bousquet-Mélou, 2004a), bem como pode limitar a migração rostral do fármaco no canal medular, resultando em concentrações reduzidas no líquido da cisterna magna (Andersen et al., 1986; Gourlay et al., 1989; Bernards et al., 2003). O aumento da $T_{1/2\beta}$ após a administração da metadona pela via peridural não pode ser atribuído à redução na velocidade de metabolismo/excreção do opióide, pois a velocidade de eliminação da metadona no compartimento central (plasma) não sofreu influência da via de administração (CI de aproximadamente 30 mL/kg/min em ambos os tratamentos). Tendo em vista que a via peridural retarda a absorção da metadona para a circulação sistêmica ($T_{\max}$ de 18 e 55 minutos nos tratamentos MIV e MEP, respectivamente), é possível que a liberação lenta do opióide a partir do espaço peridural para a circulação tenha contribuído para a eliminação mais prolongada deste opióide no plasma no tratamento MEP.

Há descrições da farmacocinética da metadona intravenosa em cães conscientes (Kukanich et al., 2005a; Kukanich & Borum, 2008; Ingvast-Larsson et al., 2010). No entanto, para a comparação destes relatos prévios com os resultados do presente estudo, deve-se considerar que a anestesia com isoflurano pode ter influenciado alguns parâmetros farmacocinéticos. Considerando que, no cão, a metadona é principalmente metabolizada pelo fígado (Garrett et al., 1985), reduções do débito cardíaco e do fluxo sanguíneo hepático associadas a planos profundos de anestesia com isoflurano (Bernard et al., 1990; Bernard et al., 1992) podem reduzir os valores de CI em comparação aos valores observados em cães conscientes devido a menor exposição do opióide aos hepatócitos (Toutain & Bousquet-Mélou, 2004b; Peccinini, 2010). Além do efeito depressor cardiovascular do agente

inalatório, a metadona, quando administrada em doses elevadas (1 mg/kg) pela via intravenosa em cães anestesiados com isoflurano, pode causar redução acentuada do débito cardíaco (até 60% em relação aos valores basais) (Garofalo, 2010). Apesar da taxa de depuração da metadona poder ter sido reduzida pela co-administração do isoflurano, a similaridade entre os valores de CI da metadona intravenosa do presente estudo (30 mL/kg/min) com o valores de fluxo sanguíneo hepático normal reportado para a espécie canina (30 mL/kg/min) (Davies & Morris, 1993), sugere que a extração hepática deste opióide é elevada mesmo durante a anestesia com isoflurano.

Os valores de CI da metadona intravenosa ou peridural mensurados em cães sem raça definida sob anestesia com isoflurano (~30 mL/min/kg em ambos os tratamentos) não diferiram substancialmente dos valores de CI reportados em cães conscientes da raça Beagle ou cruzamentos de Beagle, onde a metadona foi administrada pela via intravenosa (25 a 28 mL/min/kg) (Kukanich et al., 2005a; Ingvast-Larsson et al., 2010). Por outro lado, tais valores foram inferiores aos valores de CI da metadona intravenosa reportados em cães da raça greyhound (56 mL/kg/min) (Kukanich & Borum, 2008). De forma geral, estes resultados contrastam com os valores de CI substancialmente menores reportados para a metadona intravenosa na espécie humana (1,08 a 3,10 mL/min/kg) (Gourlay et al., 1982; Dale et al., 2002; Eap et al., 2002) e na espécie felina (4,3 a 5,9 mL/min/kg) (Ferreira, 2010).

As meia-vidas de eliminação da metadona no plasma observadas no presente estudo ($T_{1/2\beta}$: 2,4 e 3,7 horas nos tratamentos MIV e MEP, respectivamente) se encontram dentro da variação média reportada em cães conscientes que receberam o opióide pela via intravenosa ($T_{1/2\beta}$: 1,5 a 3,9 horas) (Kukanich et al., 2005a; Kukanich & Borum, 2008; Ingvast-Larsson et al., 2010). Devido aos valores de CI mais elevados, a $T_{1/2\beta}$ da metadona nos cães do presente estudo foi substancialmente menor que os valores reportados em humanos ($T_{1/2\beta}$: 18 a 35 horas) e em felinos conscientes ou anestesiados com sevoflurano ($T_{1/2\beta}$: 14 e 24 horas, respectivamente). A eliminação mais rápida da metadona no plasma de cães em relação a espécie humana e felina pode ser explicada pelas diferenças na velocidade de eliminação deste fármaco no compartimento central (CI) (Gourlay et

al., 1982; Dale et al., 2002; Eap et al., 2002; Dale et al., 2004; Kukanich et al., 2005a; Kukanich & Borum, 2008; Ferreira, 2010; Ingvast-Larsson et al., 2010).

A mobilização da metadona peridural para tecidos pouco perfundidos (como a gordura peridural e espinhal) parece apenas retardar a redistribuição da metadona para a circulação, uma vez que a biodisponibilidade obtida com a via peridural foi elevada (73%) no presente estudo. Biodisponibilidade similar ($F = 79\%$) foi observada após administração da metadona pela via subcutânea (0,4 mg/kg) (Ingvast-Larsson et al., 2010). Por outro lado, a $T_{1/2\beta}$ foi substancialmente maior com a via subcutânea (10,7 horas) do que a observada com a administração da metadona pelas vias intravenosa (2,4 horas) e peridural (3,7 horas) no presente estudo. O aumento da $T_{1/2\beta}$ da metadona administrada pela via subcutânea foi relacionado ao fenômeno “flip-flop”, onde a eliminação do plasma é limitada pela taxa de absorção mais lenta do opióide para a circulação sistêmica (Toutain & Bousquet-Mélou, 2004a; Ingvast-larsson et al., 2010). O fenômeno “flip-flop” também pode explicar a maior meia-vida da metadona peridural em relação à meia-vida da metadona intravenosa no presente estudo.

O volume de distribuição é uma variável que reflete a quantidade total de um fármaco no organismo em relação à sua concentração plasmática e depende das propriedades físico-químicas (ex: lipossolubilidade), da taxa de ligação à proteínas plasmáticas e teciduais, do conteúdo de água plasmática e tecidual e do fluxo sanguíneo para os tecidos e órgãos (Toutain & Bousquet-Mélou, 2004c; Peccinini, 2010). No presente estudo, o volume de distribuição da metadona intravenosa em condições de pseudo-equilíbrio foi relativamente elevado ($V_{\text{área}} = 6,4 \text{ L/kg}$). Tal valor foi intermediário ao observado por Kukanich et al. (2005) ($V_{\text{área}} = 3,7 \text{ L/kg}$; $V_{\text{ss}} = 3,5 \text{ L/kg}$) e Ingvast-Larsson et al. (2010) ($V_{\text{ss}} = 9,2 \text{ L/kg}$) em cães conscientes tratados com metadona intravenosa. Ressalta-se que, para todos os fármacos, o $V_{\text{área}}$ (em estado de pseudo-equilíbrio) é mais elevado que o V_{ss} (em estado de equilíbrio), muito embora essa diferença geralmente seja pequena (Toutain & Bousquet-Mélou, 2004c). Além de ser mobilizada para tecido adiposo devido à sua elevada lipossolubilidade (coeficiente de partição octanol / água = 116) (Kaufman et al., 1975), por ser uma base fraca ($\text{pK}_a \sim 9,2$), a metadona pode ser aprisionada no interior de células cujo o pH é mais baixo que o do plasma (ex: tecido muscular)

(Kukanich & Borum, 2008). A extensa distribuição do fármaco para compartimentos / tecidos periféricos, embora justifique os valores elevados de $V_{\text{área}}$ observados no presente estudo, não esclarece totalmente a variabilidade encontrada em animais hígidos. No homem, a ampla variação no volume de distribuição da metadona intravenosa foi relacionada à diferenças nas condições clínicas dos pacientes que receberam este opióide (Garrido & Trocóniz, 1999). Usuários de opióides apresentaram volume de distribuição mais elevados ($V_{\text{ss}} = 4,2$ a $9,2$ L/kg) que pacientes com dor crônica ($V_{\text{ss}} = 1,7$ a $5,3$ L/kg) (Inturrisi et al., 1987; Wolf et al., 1993).

A administração peridural de metadona resultou em um volume de distribuição maior que sua administração intravenosa ($V_{\text{área}} = 9,6$ e $6,4$ L/kg, respectivamente), muito embora significância estatística não tenha sido alcançada para esta diferença ($P = 0,06$). O volume de distribuição calculado a partir da administração de um fármaco pela via extravascular reflete corretamente a relação entre a quantidade de fármaco administrada no organismo e a concentração plasmática resultante, somente quando tal fármaco ganha acesso instantâneo ao compartimento central (plasma) (Toutain & Bousquet-Mélou, 2004c). Quando isso não ocorre, ou seja, quando não há acesso instantâneo, o tempo de absorção interfere na proporção “concentração plasmática do fármaco *versus* quantidade desse fármaco no organismo”, superestimando o volume de distribuição e tornando sua interpretação incorreta (Toutain & Bousquet-Mélou, 2004c). Portanto, pode-se considerar que o $V_{\text{área}}$ obtido no tratamento MEP foi artificialmente elevado em relação ao tratamento MIV devido o acesso limitado da metadona peridural à circulação sistêmica, como demonstrado pelo valor de F (73%). Na realidade, o volume de distribuição encontrado no presente estudo refletiu a relação do $V_{\text{área}}$ obtido com a administração da metadona pela via intravenosa e a biodisponibilidade da metadona peridural ($V_{\text{área}} / F$) (Toutain & Bousquet-Mélou, 2004c).

Os resultados do presente estudo demonstraram que a metadona administrada pela via intravenosa rapidamente se difunde do compartimento circulatório para o líquido, uma vez que, no tratamento MIV, os tempos para atingir o pico de concentração de metadona no líquido e no plasma foram próximos (T_{max} de 10 e 18 minutos no plasma e líquido, respectivamente), bem como as alterações nas

concentrações plasmáticas foram acompanhadas de forma paralela por alterações nas concentrações líquóricas ($R^2 = 0,75$). Apesar da rápida difusão entre os compartimentos observada com a via intravenosa, verificou-se que as concentrações deste opióide no líquido foram substancialmente menores que no plasma ($C_{\max}$ de 8 ng/mL e 292 ng/mL no líquido e no plasma, respectivamente). De forma similar à metadona, a administração de *bolus* intravenoso de morfina (0,45 mg/kg) em macacos rhesus resultou em menor concentração do opióide no líquido em relação a sua concentração no plasma, como demonstrado pela relação entre as áreas sob a curva de concentração (AUC) da morfina no líquido e no plasma [AUC (líquor) / AUC (plasma)] de 40% (Greene et al., 1987). As menores concentrações de metadona e de morfina no FCE em relação às suas respectivas concentrações plasmáticas podem ser causadas pelo efluxo destes opióides a partir do líquido excedendo o seu influxo, ou ainda, podem ser atribuídas ao metabolismo destes opióides no SNC e/ou diferenças regionais nas concentrações destes fármacos (Greene et al., 1987).

Diferentemente da via intravenosa, a via peridural foi associada a um tempo prolongado para observação do pico da concentração do opióide no líquido ($T_{\max}$ de aproximadamente 55 minutos), não havendo correlação entre as concentrações de metadona no líquido e no plasma. Estes resultados sugerem que a metadona encontrada no líquido após sua administração peridural não é originada primariamente do compartimento circulatório. Neste caso, o espaço peridural pode representar um compartimento importante a partir do qual o opióide pode ser absorvido para o líquido. A elevação lenta da concentração da metadona no líquido da cisterna magna pode estar relacionada à sua migração rostral lenta a partir do sítio de administração (espaço peridural na altura de L₄). Com a administração peridural de morfina, o tempo para o pico da concentração do opióide no líquido da região cervical (cisterna magna em cães ou entre C₇ e T₁ em humanos) foi substancialmente mais prolongado que tempo para o pico da concentração do opióide no plasma, demonstrando que a migração rostral da morfina através do líquido ocorre de forma relativamente lenta (Gourlay et al., 1985; Valverde et al., 1992).

As baixas concentrações de metadona no líquido obtido no espaço subaracnóide da articulação atlânto-occipital sugerem que este opióide possui

capacidade limitada de se solubilizar no FCE e migrar rostralmente no canal medular para exercer seus efeitos analgésicos espinhais. Estes resultados estão de acordo com a característica lipossolúvel da metadona (Di Francesco & Bickel, 1985; Betschart et al., 1988) e com a postulação que a farmacocinética dos opióides no líquido após administração peridural parece ser governada por sua hidro / lipossolubilidade (Bernards et al., 2003; Bernards, 2004). De forma similar à metadona, outros opióides de elevada lipossolubilidade, como a meperidina e o fentanil, também parecem apresentar menor capacidade de solubilização no líquido que opióides pouco lipossolúveis (Andersen et al., 1986; Sjöström et al., 1987; Gourlay et al., 1989; Valverde et al., 1992, Bernards et al., 2003). No caso do fentanil em humanos, observa-se que a concentração do opióide no líquido da região cervical (entre C₇ e T₁) é significativamente menor que a concentração mensurada no líquido da região lombar (entre L₃-L₄) (Gourlay et al., 1989). Contrastando com os resultados observados no presente estudo, a morfina administrada no espaço peridural lombo-sacro de cães resulta concentrações proporcionalmente mais elevadas no líquido cisternal que no plasma (Valverde et al., 1992). Esta característica da morfina é aparentemente atribuída à sua baixa lipossolubilidade, a qual resulta em elevada capacidade de solubilização no líquido e possibilita que uma fração significativamente maior do opióide migre passivamente no sentido rostral com o fluxo em massa (*bulk flow*) do FCE (Gourlay et al., 1985).

As variáveis farmacocinéticas observadas após a administração da metadona pela via peridural devem ser interpretadas cuidadosamente por não representarem uma aproximação adequada da concentração do opióide no sítio de efeito / biofase (Bernards et al., 2003; Csajka & Verotta, 2006). Demonstrou-se no presente estudo que a metadona, ao ser administrada pela via peridural, tem sua meia-vida de eliminação aumentada em relação à via intravenosa, possivelmente, devido à absorção lenta do espaço peridural para a circulação, ao mesmo tempo em que resulta em biodisponibilidade elevada (73%). A absorção mais lenta para a circulação após a administração da metadona pela via peridural pode auxiliar na compreensão de algumas alterações sistêmicas induzidas por este opióide, como o porque da bradicardia induzida pela metadona intravenosa ser mais pronunciada que a proporcionada pela metadona peridural numa fase inicial (até 2 horas) (Leibetseder et al., 2005, *Capítulos 2 e 3*). As concentrações reduzidas da metadona

peridural no líquido da região atlanto-occipital também fornecem subsídios para o entendimento da ação analgésica restrita à dermatômeros específicos (Tung & Yaksh, 1982).

Capítulo 2:

“COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DA METADONA PERIDURAL OU INTRAVENOSA SOBRE A CONCENTRAÇÃO ALVEOLAR MÍNIMA DO ISOFLURANO EM CÃES”

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da metadona peridural sobre a concentração alveolar mínima do isoflurano (CAM_{ISO}) ao longo do eixo neuraxial, mediante a aplicação de estimulação nociceptiva nos membros torácico ou pélvico, bem como comparar os efeitos da metadona peridural e intravenosa sobre a CAM_{ISO} ao longo do tempo (2,5 e 5 horas após sua administração). Seis cães adultos ($16,5 \pm 2,5$ kg) foram anestesiados com isoflurano sob ventilação mecânica em 3 ocasiões distintas (intervalos mínimos de 7 dias). Em uma das anestесias, a CAM_{ISO} foi determinada por meio de estímulo nociceptivo elétrico (50 V, 50 Hz, 10 ms) aplicado no membro pélvico antes e após 2,5 e 5 horas da administração intravenosa da metadona (0,5 mg/kg em 0,25 mL/kg) (MIV). Nas outras duas anestесias, o estímulo nociceptivo foi aplicado em membro pélvico (MEP_P) ou torácico (MEP_T) para determinação da CAM_{ISO} antes e após 2,5 e 5 horas da metadona (0,5 mg/kg em 0,25 mL/kg), administrada via cateter peridural lombo-sacro introduzido 10 cm no canal medular. Os resultados foram submetidos à ANOVA bifatorial seguida pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados estão apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Os valores médios de CAM_{ISO} basal não diferiam entre tratamentos (1,57%). Houve redução significativa da CAM_{ISO} após 2,5 e 5 horas da administração da metadona peridural ou intravenosa. Às 2,5 horas, a magnitude da redução da CAM_{ISO} não diferiu entre tratamentos ($30 \pm 13\%$, $30 \pm 8\%$ e $33 \pm 9\%$ de redução na CAM_{ISO} basal nos tratamentos MIV, MEP_P e MEP_T respectivamente). O efeito redutor da CAM_{ISO} foi mais prolongado nos animais tratados com metadona peridural submetidos a estímulo nociceptivo no membro torácico ($30 \pm 9\%$ de redução da CAM_{ISO} basal no tratamento MEP_T às 5 horas *versus* $19 \pm 11\%$ e $16 \pm 14\%$ nos tratamentos MEP_P e MIV, respectivamente). Devido à redução da CAM_{ISO} de magnitude similar numa fase inicial (2,5 horas), a metadona peridural pode não oferece maior vantagem em relação à via intravenosa para cirurgias de curta duração (até 2,5 horas). A

metadona peridural resulta em potencialização do isoflurano mais prolongada que a via intravenosa em regiões específicas. Esta ação segmentar foi mais evidente no membro do torácico que no membro pélvico com a técnica de injeção peridural empregada.

Palavras-chave: CAM, canino, opióide.

Key-words: MAC, canine, opioid.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

A metadona e outros opióides administrados pela via peridural produzem analgesia segmentar (atuam em dermatômos específicos) (Tung & Yaksh, 1982; Payne & Inturrisi, 1985). A abrangência ou extensão deste efeito segmentar depende da capacidade do opióide em permanecer no fluido cérebroespinal (FCE) e, através do fluxo em massa (*bulk flow*), se dispersar e atuar em dermatômos adjacentes (Tung & Yaksh, 1982; Payne & Inturrisi, 1985; Payne et al., 1996). Devido a sua característica lipossolúvel (Tabela 1), a metadona administrada pela via espinal apresenta dispersão insignificante através do FCE (Payne & Inturrisi, 1985; Payne et al., 1996), produzindo analgesia em segmentos diretamente relacionados ao seu local de aplicação (ex: região lombar, torácica) (Tung & Yaksh, 1982). Embora o efeito analgésico da metadona peridural possa ter uma abrangência mais restrita, sua intensidade parece ser mais elevada que a produzida pela administração de doses similares pela via sistêmica (Tung & Yaksh, 1982). Com base nestas evidências, foi formulada a hipótese que metadona administrada no espaço peridural lombo-sacro potencializaria o isoflurano de forma mais intensa e/ou prolongada que a sua administração intravenosa quando a estimulação nociceptiva é aplicada no membro pélvico (ação segmentar).

De forma a testar a hipótese acima, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos da metadona peridural sobre a CAM_{ISO} ao longo do eixo neuraxial, mediante a aplicação do estímulo nociceptivo em regiões distintas (membro torácico ou pélvico). Também objetivou-se comparar os efeitos da metadona peridural e intravenosa sobre a CAM_{ISO} ao longo do tempo (2,5 e 5 horas após sua administração). Tendo em vista que redução da CAM_{ISO} proporcionada por fármacos administrados pela via intravenosa é resultante de sua ação sistêmica (espinal e supra-espinal), não estando exclusivamente relacionada a uma ação segmentar na medula espinal, as avaliações da CAM_{ISO} com o emprego da metadona intravenosa foram realizadas mediante estimulação nociceptiva apenas em membro pélvico.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu (Protocolo nº 189/2007-CEEA).

Animais – Foram utilizados os mesmos seis animais do estudo descrito no *Capítulo 1*, respeitando-se um intervalo mínimo de 30 dias entre estudos.

Protocolos Experimentais – Cada animal foi anestesiado com isoflurano²⁶ em 3 ocasiões distintas, com intervalos mínimos de 7 dias. Em uma das anestésias, os animais receberam a metadona²⁷ na dose de 0,5 mg/kg pela via intravenosa (tratamento MIV), enquanto nos outros dois procedimentos anestésicos, a mesma dose de metadona foi administrada pela via peridural (tratamentos MEP). O tratamento MEP foi realizado em duas ocasiões distintas para que fosse possível determinar, em momentos similares (tempos-alvo), os efeitos da metadona peridural sobre a CAM_{ISO} empregando o estímulo nociceptivo em regiões anatômicas distintas (membro pélvico / tratamento MEP_P ou membro torácico / tratamento MEP_T). A seleção dos tratamentos foi realizada de forma aleatória. Foi utilizada formulação de metadona racêmica livre de preservativos. Os volumes finais administrados pela via intravenosa e peridural foram ajustados para 0,25 mL/kg com solução de NaCl a 0,9%. Tanto pela via peridural quanto pela via intravenosa, a metadona foi administrada durante um período de 1 minuto. Imediatamente após a administração da metadona, o espaço-morto dos cateteres intravenoso e peridural foi preenchido com 1 mL de solução de NaCl a 0,9%, para garantir que o volume da solução contendo o fármaco avaliado fosse injetado em suas respectivas vias.

Preparo dos animais – Após jejum alimentar de 12 horas sem restrição hídrica, a anestesia foi induzida com isoflurano diluído em oxigênio por meio de máscara facial. O vaporizador calibrado²⁸ foi ajustado de forma a vaporizar uma concentração de 5% em um fluxo de O₂ de 5 L/min até que os animais apresentassem ausência de resposta ao pinçamento interdigital e reflexo palpebral, indicando condições adequadas para a intubação. Imediatamente após a intubação, a sonda

²⁶ Isoforine, Cristália, Itapira, SP, Brasil.

²⁷ Mytedon, Cristália, Itapira, SP, Brasil.

²⁸ Inter VPZ ISO – Intermed®, São Paulo, SP, Brasil – FAPESP Proc. 05/56586-7.

endotraqueal com cuff foi conectada a um circuito circular valvular²⁹, o fluxo de O₂ reduzido para 1 L/min e o vaporizador reajustado de forma a manter os animais em plano moderado de anestesia de acordo com julgamento clínico.

Com os animais em decúbito lateral, foi realizada a cateterização percutânea da veia cefálica e da artéria dorsal podal. O acesso venoso foi utilizado para a infusão de Ringer com lactato de sódio (3 mL/kg/h) por meio de bomba de infusão peristáltica³⁰ e para administração da metadona (tratamento MIV). O cateter arterial foi conectado a um transdutor de pressão para mensuração da pressão arterial sistólica, média e diastólica (PAS, PAM e PAD) através de monitor multiparamétrico³¹. O transdutor de pressão foi posicionado na altura do coração com o valor zero de referência (0 mmHg) ajustado periodicamente de acordo com a pressão ambiente. A via arterial também foi utilizada para colheita de amostras de sangue para hemogasometria³² e para a mensuração da concentração plasmática de metadona. A análise hemogasométrica de cada amostra foi realizada imediatamente após a colheita e seus valores foram corrigidos de acordo com a temperatura corpórea (T). A T foi aferida através de um sensor trans-esofágico⁶ e mantida entre 37,5 e 38,5 °C com o emprego de colchão termo-elétrico³³ e insuflador de ar aquecido³⁴. Para monitoração da frequência cardíaca (FC) e do ritmo cardíaco foi empregada a derivação II do eletrocardiograma⁶.

Para a amostragem contínua dos gases das vias aéreas (200 mL/min) e determinação das concentrações expiradas de isoflurano (ET_{ISO}) e CO₂ (ETCO₂), foi utilizado um analisador de gases infravermelho⁶ conectado à peça intermediária situada entre o circuito anestésico e a sonda endotraqueal. Antes e durante cada experimento, o analisador de gases foi calibrado com amostra de gás padrão³⁵, composta por 3% de agente anestésico (enflurano), 55% O₂, 33% N₂O e 5% CO₂. A calibração foi considerada adequada quando a variação no vol% do agente anestésico foi menor ou igual a 0,03% em relação ao valor de referência (3%).

²⁹ Inter Línea C – Intermed®, São Paulo, SP, Brasil – FAPESP Proc. 05/56586-7.

³⁰ Samtronic – 550 T2, São Paulo, SP, Brasil.

³¹ DATEX Engstrom A/S 3, Helsinki, Finland - FAPESP Proc. 98/00748-3.

³² pH/Blood Gas Analyzer Model 348 - Chiron Diagnostics, Halstead, England - FAPESP Proc. 98/00748-3.

³³ Estek® - Ortovet, São Paulo, SP, Brasil.

³⁴ Warmtouch® – Mallinkrodt, Pleasanton, CA, EUA - FAPESP Proc. 00/13695-7.

³⁵ Quick Cal™ Calibration Gás, Datex-Engstrom Division Instrumentarium Corp, Helsinki, Finland.

Durante o experimento foi realizada ventilação com pressão controlada⁴. A pressão inspiratória máxima e a frequência respiratória foram ajustadas de forma a prevenir hipercapnia ($\text{PaCO}_2 > 45 \text{ mmHg}$) durante todo o experimento. Para facilitar os ajustes no ventilador, os valores de ETCO_2 foram adotados como estimativa da PaCO_2 , mediante a determinação prévia de sua diferença ($\text{ETCO}_2 - \text{PaCO}_2$). Nos momentos em que os animais apresentavam esforço respiratório espontâneo entre os ciclos controlados, foi adotada a ventilação assistida mandatória intermitente (SIMV). Neste caso, a sensibilidade inspiratória do ventilador foi ajustada de forma a deflagrar ciclos respiratórios assistidos entre os ciclos controlados.

Cateterização do espaço peridural foi realizada tanto no tratamento MIV como no tratamento MEP. A técnica de cateterização peridural empregada foi similar a descrita no *Capítulo 1*. Após este procedimento, os animais foram posicionados em decúbito dorsal, dando início à determinação da CAM_{ISO} .

Determinação da CAM_{ISO} – A CAM_{ISO} basal ($\text{CAM}_{\text{basal}}$) foi determinada anteriormente à administração da metadona em todos os tratamentos, resultando em 3 determinações de $\text{CAM}_{\text{basal}}$ por animal. A metadona foi administrada pela via intravenosa ou peridural com os animais mantidos em plano moderado de anestesia através do ajuste da ET_{ISO} para valores 30% acima do valor da $\text{CAM}_{\text{basal}}$ ($1,3 \text{ CAM}_{\text{basal}}$). Imediatamente após a administração do opióide, a ET_{ISO} foi gradualmente reduzida de forma que, em 10 a 15 minutos, a redução alcançasse aproximadamente 40% dos valores da $\text{CAM}_{\text{basal}}$ ($0,6 \text{ CAM}_{\text{basal}}$). Os efeitos da metadona sobre os valores de CAM_{ISO} foram avaliados em 2 tempos-alvo, utilizando como referência o momento do término da aplicação do opióide. Dessa forma, objetivou-se finalizar as mensurações da CAM_{ISO} após 2,5 e 5 horas da administração da metadona, respeitando-se o intervalo de tolerância de 30 minutos (a mais ou a menos) em relação aos tempos-alvo ($\text{CAM}_{2,5}$ e $\text{CAM}_{5,0}$, respectivamente).

Durante as mensurações da CAM_{ISO} , cada concentração de isoflurano (ET_{ISO}) avaliada foi mantida estável por um período de 15 minutos antes da aplicação da estimulação nociceptiva, visando permitir o equilíbrio entre as concentrações de isoflurano no alvéolo e no SNC. Caso a resposta motora frente ao estímulo nociceptivo fosse inicialmente negativa, a ET_{ISO} era reduzida gradualmente em 0,2%

até a observação de resposta motora positiva. Em seguida, a ET_{ISO} era aumentada gradualmente em 0,1% até que houvesse novo bloqueio da resposta motora. Caso a resposta motora inicial fosse positiva, os ajustes na ET_{ISO} eram realizados de forma inversa. A CAM_{ISO} foi calculada como a média aritmética entre a menor concentração de isoflurano que inibiu a resposta motora ao estímulo nociceptivo (resposta negativa) e a maior concentração que permitiu que tal resposta fosse deflagrada (resposta positiva) (Quasha et al., 1980). Como a concentração no sítio de efeito após a administração de fármacos sob a forma de *bolus* tende a se reduzir ao longo do tempo (diminuição progressiva do seu efeito sobre a CAM), cada determinação da CAM_{ISO} foi considerada como finalizada no momento coincidente com a menor ET_{ISO} que resultou em inibição da resposta motora.

A estimulação nociceptiva supramáxima utilizada para a determinação da CAM_{ISO} consistiu em uma corrente elétrica de 50 V, 50 Hz e 10 ms³⁶ administrada de acordo com o modelo empregado por Valverde et al. (2003). De acordo com este modelo, 4 estímulos elétricos são liberados com intervalos de 5 segundos entre si, sendo os 2 primeiros estímulos simples e 2 últimos contínuos (com duração de 3 segundos cada). Os eletrodos para aplicação do estímulo elétrico foram conectados a duas agulhas hipodérmicas 30x8 inseridas no tecido subcutâneo dos membros torácico ou pélvico, a 5 cm de distância entre si. O local de inserção da agulhas foi submetido à tricotomia e antisepsia prévia. No tratamento MEP_T , as agulhas foram posicionadas na face lateral do terço médio da ulna e, nos tratamentos MEP_P e MIV, na face medial do terço médio da tíbia. A sequência de estimulação elétrica foi interrompida antes do seu término caso o animal apresentasse resposta motora positiva. Um indivíduo foi responsável pela classificação da resposta motora em positiva ou negativa. Foram considerados como respostas positivas movimentos óbvios de pedalagem dos membros e rotação ou levantamento significativo de cabeça. Movimentos de deglutição e mastigação, extensão sustentada de membros, aumento na frequência cardíaca e respiratória e aumento da pressão arterial não foram considerados como resposta positiva.

Como a pressão barométrica interfere nos valores de CAM e o estudo foi desenvolvido na cidade de Botucatu/SP, onde o laboratório se encontra 785 metros

³⁶ GRASS S48 Stimulator - Astromed Inc, W WarWick, RI, USA.

acima do nível do mar (pressão barométrica de 680 mmHg), os valores de CAM_{ISO} foram transformados em valores relativos à pressão barométrica ao nível do mar (760 mmHg) através da seguinte equação:

$$CAM_{\text{Nível do mar}} = CAM_{\text{Botucatu}} \times 680 / 760$$

Em todos os animais, após o término das determinações de CAM_{ISO}, foi administrado meloxicam³⁷ na dose única de 0,2 mg/kg pela via intravenosa.

Monitoração das variáveis cardiorrespiratórias – Durante todo o período experimental, as variáveis cardiorrespiratórias (FC, PAS, PAD, PAM, *f*, ETCO₂) e hemogasométricas (pH, PaCO₂, PaO₂ e HCO₃⁻) e os valores de T foram registrados 1 minuto antes de cada estimulação nociceptiva. Para cada variável, o valor correspondente à CAM_{ISO} foi calculado através da média aritmética dos valores registrados nas concentrações expiradas de isoflurano que deram origem ao valor de CAM_{ISO}.

Avaliação da recuperação anestésica – Após o término da anestesia inalatória, foram registrados os tempos de extubação (definido como o momento de retorno do reflexo de deglutição) e os tempos para adoção do decúbito esternal e adoção da posição quadrupedal. Durante a primeira hora após a extubação, também foram registrados possíveis efeitos adversos como agitação, vocalização, salivação, ataxia, vômito e defecação.

Mensuração da concentração plasmática de metadona – Ao término de cada determinação de CAM_{ISO}, 5 mL de sangue arterial foram colhidos em tubos contendo heparina lítica e imediatamente centrifugados³⁸ a 4°C por 10 minutos a 1000 g. O plasma obtido foi separado e estocado em freezer³⁹ a -70°C até sua análise.

Para a análise da concentração plasmática de metadona foi empregado o sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC)⁴⁰ equipado com detector de massas⁴¹, coluna C18 (3,5

³⁷ Bioflac, Cristália Itapira, SP, Brasil.

³⁸ Centrífuga Refrigerada Sigma 2-16 PK - FAPESP Proc. 08/50302-5.

³⁹ UPUL 580 Freezer Vertical (-40°C/-85°C) - Dairei Europe S/A - FAPESP Proc. 08/50302-5.

⁴⁰ Waters Alliance®, Massachusetts, USA.

⁴¹ Waters Micromass®, Massachusetts, USA.

μm , 4,6 mm x 75 mm)⁴² e injetor automático. A fase móvel utilizada foi constituída por ácido fórmico⁴³, diluído a uma concentração de 0,1%⁴⁴, e acetonitrila⁴⁵ (proporção de 1:1). O fluxo e o volume de injeção do sistema foram de 0,5 mL/min e 20 μL , respectivamente.

A detecção espectrométrica de massa foi realizada em um instrumento triplo quadripolo (MS/MS), utilizando o monitoramento de reações múltiplas (MRM). Íons foram gerados em modo de ionização positiva utilizando uma interface de eletrospray. Detalhes sobre a validação do método bioanalítico se encontram descritos no *Capítulo 1*. O limite inferior de quantificação (LIQ) e o limite de detecção do ensaio foram de 1 e 0,5 ng/mL, respectivamente. O coeficiente de variação intra-ensaio e interensaio foram no máximo 13% e 10%, respectivamente, nas concentrações de 2,5; 15 e 75 ng/mL.

A metadona foi extraída do material biológico através da adição de 200 μL de acetonitrila a 200 μL de amostra, agitando-se por 10 minutos e centrifugando-se a 18000 g por 15 minutos. Uma alíquota de 20 μL do sobrenadante foi injetada no sistema LC/MS/MS para análise.

Análise estatística – Os dados foram submetidos à análise de variância considerando 2 fatores (tratamento e momento) e a interação entre eles. Pelo fato de cada animal ter sido submetido aos 3 tratamentos e avaliados em mais de um momento, incorporou-se à análise a variabilidade inerente ao animal (medida repetida). Para comparações múltiplas foi utilizado o teste de Tukey. A análise estatística foi realizada através do Proc Mixed do SAS, versão 9.2, considerando o “animal” como efeito aleatório. Todos os testes foram realizados considerando o nível de significância de 5%.

⁴² Symmetry®, São Paulo, SP, Brasil.

⁴³ Synth, Diadema, SP, Brasil

⁴⁴ Sistema Milli Q, Massachusetts, USA.

⁴⁵ J.T. Baker, New Jersey, USA.

RESULTADOS

O período de preparo dos animais, desde a intubação até o início da determinação da CAM_{basal} , perdurou por 40 ± 8 minutos (média $\pm$ desvio padrão). Em todos os tratamentos, o intervalo de tempo entre a intubação e a determinação da CAM_{basal} foi similar ($2,3 \pm 0,4$ h; $2,2 \pm 0,4$ h e $2,3 \pm 0,3$ h nos tratamentos MIV, MEP_P e MEP_T , respectivamente). Após a administração da metadona intravenosa ou peridural, a determinação da CAM_{ISO} foi realizada dentro dos tempos-alvo pré-estabelecidos (2,5 e 5 horas após a aplicação da metadona), não havendo diferença entre tratamentos com relação aos tempos reais de determinação (Tabela 2.1).

Os valores de CAM_{ISO} antes da administração da metadona (CAM_{basal}) foram similares em todos os tratamentos (Tabela 2.1). Após 2,5 horas de sua administração, a metadona resultou em redução significativa e similar da CAM_{ISO} , independentemente da via de administração ou local de aplicação da estimulação nociceptiva. Neste momento, as percentagens de redução da CAM_{ISO} (média $\pm$ desvio padrão) em relação ao basal foram de $30 \pm 13\%$, $30 \pm 8\%$ e $33 \pm 9\%$ nos tratamentos MIV, MEP_P e MEP_T , respectivamente (Tabela 2.1 e Figura 2.1-A). Após 5 horas, a metadona também reduziu a CAM_{ISO} quando comparada à CAM_{basal} em todos os tratamentos, porém, a redução foi significativamente mais intensa no tratamento MEP_T que nos tratamentos MIV e MEP_P . Neste momento, as percentagens de redução da CAM_{ISO} (média $\pm$ desvio padrão) em relação à CAM_{basal} foram de $16 \pm 14\%$, $19 \pm 11\%$ e $30 \pm 9\%$ nos tratamentos MIV, MEP_P e MEP_T , respectivamente (Tabela 2.1 e Figura 2.1-A). Enquanto no tratamento MEP_T a redução da CAM_{ISO} se manteve ao longo do tempo ($CAM_{2,5} = CAM_{5,0}$), nos tratamentos MIV e MEP_P a intensidade do efeito foi significativamente menor às 5 horas que às 2,5 horas (Tabela 2.1 e Figura 2.1-A).

Nenhum animal apresentou concentrações detectáveis de metadona na amostra de plasma colhida antes da administração do opióide (momento de determinação da CAM_{basal}) (Tabela 2.1). Após a administração da metadona, as concentrações plasmáticas do opióide reduziram ao longo do tempo, sendo significativamente maiores às 2,5 horas que às 5 horas em todos os tratamentos (nos momentos de determinação da $CAM_{2,5}$ e $CAM_{5,0}$, respectivamente). Diferenças entre os tratamentos foram observadas somente às 2,5 horas pós-metadona, onde a

concentração plasmática do opióide foi significativamente mais elevada no tratamento MIV que no tratamento MEP_P (Tabela 2.1 e Figura 2.1-B).

Tabela 2.1 - Médias e desvios padrão das concentrações alveolares mínimas do isoflurano (CAM_{ISO}), dos tempos reais de determinação da CAM_{ISO} e das concentrações plasmáticas (Cp) de metadona obtidos antes (CAM_{basal}) e após 2,5 (CAM_{2,5}) e 5 horas (CAM_{5,0}) da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_P e MEP_T) em seis cães. Nos tratamentos MIV e MEP_P, o estímulo nociceptivo empregado para a determinação da CAM_{ISO} foi aplicado no membro pélvico e, no tratamento MEP_T, no membro torácico

	<i>Tratamentos</i>		
	MIV	MEP _P	MEP _T
CAM_{basal}(%)	1,57 ± 0,13 ^a	1,57 ± 0,10 ^a	1,57 ± 0,09 ^a
Cp metadona (ng/mL)	ND	ND	ND
Tempo real (h)	2,7 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,6 ± 0,2
CAM_{2,5} (%)	1,09 ± 0,16 ^b	1,10 ± 0,14 ^b	1,05 ± 0,16 ^b
Cp metadona (ng/mL)	19,2 ± 6,7 ^{A a}	13,9 ± 2,0 ^{B a}	15,0 ± 4,3 ^{AB a}
Tempo real (h)	5,0 ± 0,2	4,9 ± 0,1	4,9 ± 0,2
CAM_{5,0} (%)	1,31 ± 0,19 ^{A c}	1,27 ± 0,21 ^{A c}	1,10 ± 0,14 ^{B b}
Cp metadona (ng/mL)	8,5 ± 2,1 ^b	8,4 ± 1,3 ^b	10,0 ± 3,1 ^b

ND: concentrações não detectáveis (LD = 0,5 ng/mL). O limite inferior de quantificação (LIQ) do ensaio foi de 1 ng/mL. Para cada variável (CAM, tempo ou Cp): letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre tratamentos (MIV, MEP_P, MEP_T) (Tukey; $P < 0,05$); letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre momentos (basal; 2,5 e 5 horas) (Tukey; $P < 0,05$).

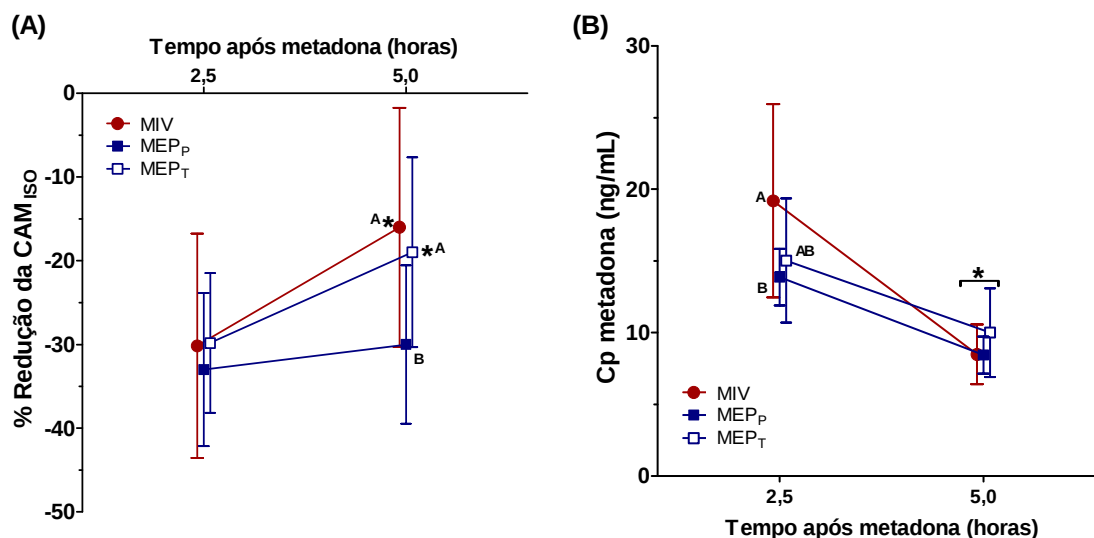


Figura 2.1 - (A) Percentagens de redução da concentração alveolar mínima do isoflurano (CAM_{ISO}) e **(B)** Concentrações plasmáticas (Cp) de metadona mensuradas após 2,5 e 5 horas da aplicação do opióide (0,5 mg/kg) pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_P e MEP_T) em seis cães. Nos tratamentos MIV e MEP_P, o estímulo nociceptivo empregado para a determinação da CAM_{ISO} foi aplicado no membro pélvico e, no tratamento MEP_T, no membro torácico. Os dados estão apresentados como médias e desvios padrão. * Diferença significativa em relação às 2,5 horas (Tukey; $P < 0,05$); médias acompanhadas de letras distintas diferem significativamente (Tukey; $P < 0,05$)

Não foram observadas diferenças significativas entre tratamentos com relação aos valores de FC, PAS, PAM e PAD em nenhum momento. Em todos os tratamentos, a metadona resultou em redução significativa e similar da FC após 2,5 e 5 horas de sua aplicação (Tabela e Figura 2.2). A média da redução da FC após 2,5 e 5 horas da metadona intravenosa ou peridural foi de 25 a 35% dos valores basais. Com exceção de um animal, que quando submetido ao tratamento MEP_T manteve a FC acima de 60 bpm durante toda a fase experimental, os demais animais apresentaram bradicardia (FC < 60 bpm) em algum momento após a administração da metadona. No tratamento MIV, a bradicardia foi observada no primeiro minuto da administração da metadona, enquanto nos tratamentos MEP_P e MEP_T, a mesma foi observada após 10 a 50 minutos da aplicação do opióide. Na primeira hora pós-metadona, o menor valor de frequência cardíaca registrado variou entre 28 e 48 bpm no tratamento MIV, 42 e 56 bpm no tratamento MEP_P e 44 e 66 bpm no tratamento MEP_T. Além da bradicardia, tanto a metadona peridural como a metadona intravenosa causou distúrbios de ritmo cardíaco, sendo os mais frequentes a arritmia sinusal, o bloqueio sino-atrial, o bloqueio átrio-ventricular de 2º grau e o escape ventricular (Tabela 2.3).

Tabela 2.2 - Médias e desvios padrão dos valores de frequência cardíaca (FC) e pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) registrados em seis cães anestesiados com concentrações equipotentes de isoflurano (1,0 CAM_{ISO}) antes e após 2,5 e 5 horas da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_P e MEP_T). Nos tratamentos MIV e MEP_P, o estímulo nociceptivo empregado para determinação da CAM_{ISO} foi aplicado em membro pélvico e, no tratamento MEP_T, em membro torácico

		<i>Tratamentos</i>		
		MIV	MEP _P	MEP _T
FC (bpm)	basal	94 ± 16	91 ± 13	94 ± 12
	2,5 h	59 ± 11*	61 ± 11*	62 ± 11*
	5 h	68 ± 6*	66 ± 8*	64 ± 9*
PAS (mmHg)	basal	102 ± 8	102 ± 10	112 ± 12
	2,5 h	131 ± 17*	127 ± 18*	126 ± 17
	5 h	119 ± 11	116 ± 14	122 ± 15
PAM (mmHg)	basal	64 ± 2	63 ± 6	69 ± 8
	2,5 h	69 ± 9	67 ± 8	68 ± 8
	5 h	64 ± 4	61 ± 4	64 ± 5
PAD (mmHg)	basal	51 ± 2	49 ± 5	54 ± 7
	2,5 h	50 ± 7	49 ± 7	49 ± 5
	5 h	47 ± 3	45 ± 3	46 ± 4*

* Diferença significativa em relação ao basal (Tukey; $P < 0,05$).

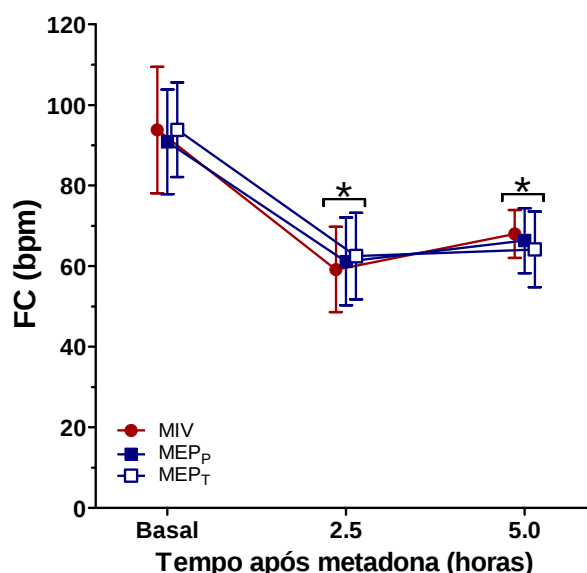


Figura 2.2 - Média e desvio padrão dos valores de frequência cardíaca (FC) registrados em seis cães anestesiados com concentrações equipotentes de isoflurano (1,0 CAM_{ISO}) antes (basal) e após 2,5 e 5 horas da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_P e MEP_T). Nos tratamentos MIV e MEP_P, o estímulo nociceptivo empregado para determinação da CAM_{ISO} foi aplicado em membro pélvico e, no tratamento MEP_T, em membro torácico. * Diferença significativa em relação ao basal (Tukey; $P < 0,05$)

Tabela 2.3 - Incidência de alterações em frequência e ritmo cardíacos em seis cães anestesiados com isoflurano e tratados com 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_P e MEP_T). Nos tratamentos MIV e MEP_P, o estímulo nociceptivo empregado para a determinação da CAM_{ISO} foi aplicado no membro pélvico e, no tratamento MEP_T, no membro torácico

	<i>Tratamento</i>		
	MIV	MEP _P	MEP _T
Bradicardia (FC < 60 bpm)	6/6	6/6	5/6
Arritmia sinusal	6/6	6/6	4/6
Bloqueio sino-atrial	3/6	2/6	0/6
Bloqueio átrio-ventricular de 2º grau	4/6	1/6	2/6
Escapes ventriculares isolados	3/6	1/6	1/6
Ritmo de escape ventricular	1/6	0/6	1/6

Não houve diferença entre os tratamentos com relação à PAS, PAM e PAD. Tanto no tratamento MIV quanto no tratamento MEP_P, a PAS foi significativamente mais elevada após 2,5 horas da aplicação da metadona que durante o momento basal. Por outro lado, a PAD foi significativamente menor que o basal após 5 horas da metadona peridural no tratamento MEP_T. Não houve diferenças significativas entre tratamentos nos valores de PAM antes e após a aplicação da metadona e, em todos eles, a PAM não se modificou significativamente ao longo do tempo (Tabela 2.2 e Figura 2.3). Hipotensão arterial (PAM < 60 mmHg durante ao menos 5 minutos) foi observada em 1 animal nos tratamentos MIV e MEP_T após a aplicação da metadona. No tratamento MEP_P, 3 animais apresentaram hipotensão antes da aplicação da metadona; nestes animais os valores de PAM permaneceram abaixo de 60 mmHg após a aplicação do opióide. Os valores mínimos de PAM foram de 57, 53 e 54 mmHg nos tratamentos MIV, MEP_P, MEP_T, respectivamente. Episódios de hipertensão (PAM > 100 mmHg) não foram observados.

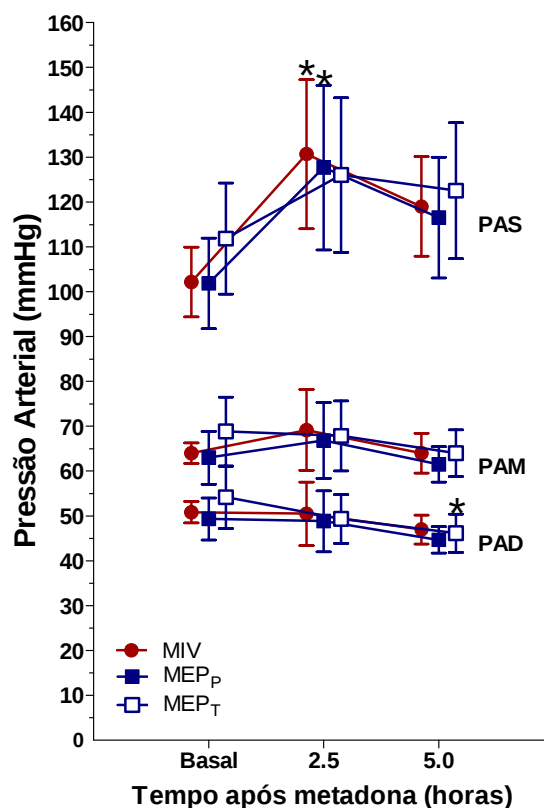


Figura 2.3 - Médias e desvios padrão dos valores de pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) registrados em seis cães anestesiados com concentrações equipotentes de isoflurano ($1,0 \text{ CAM}_{\text{ISO}}$) antes (basal) e após 2,5 e 5 horas da administração de $0,5 \text{ mg/kg}$ de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_P e MEP_T). Nos tratamentos MIV e MEP_P , o estímulo nociceptivo empregado para determinação da CAM_{ISO} foi aplicado em membro pélvico e, no tratamento MEP_T , em membro torácico. * Diferença significativa em relação ao basal (Tukey; $P < 0,05$)

Durante os momentos de determinação da CAM_{ISO} as variáveis hemogasométricas (pH, PaO_2 , PaCO_2 , HCO_3^- e BE) e a T se mantiveram estáveis ao longo do tempo, não havendo diferenças significativas em relação ao basal (dentro de cada tratamento) e entre tratamentos (Tabela 2.4).

A duração da anestesia foi similar nos 3 tratamentos avaliados. Também foram similares os intervalos de tempos para extubação e adoção do decúbito esternal e adoção da posição quadrupedal (Tabela 2.5). Na primeira hora após a extubação, o evento mais frequente em todos os tratamentos foi a defecação. A incidência de episódios de defecação nos tratamentos MIV, MEP_P e MEP_T foi 6/6, 4/6, 3/6 animais. Nenhum animal apresentou ataxia após a adoção do decúbito

quadrupedal, mas todos os animais tentaram se levantar num período onde ainda não estavam capacitados a sustentar o próprio corpo. Agitação, vocalização e episódios de vômito também não foram observados.

Tabela 2.4 - Médias e desvios padrão dos valores de potencial hidrogeniônico (pH), pressões parciais de dióxido de carbono (PaCO_2) e oxigênio (PaO_2) no sangue arterial, íons bicarbonato (HCO_3^-), déficit de bases (BE) e temperatura corpórea (T) registrados em seis cães anestesiados com concentrações equipotentes de isoflurano ($1,0 \text{ CAM}_{\text{ISO}}$) antes e após 2,5 e 5 horas da administração de $0,5 \text{ mg/kg}$ de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_P e MEP_T). Nos tratamentos MIV e MEP_P , o estímulo nociceptivo empregado para a determinação da CAM_{ISO} foi aplicado no membro pélvico e, no tratamento MEP_T , no membro torácico

		<i>Tratamentos</i>		
		MIV	MEP_P	MEP_T
pH	basal	$7,37 \pm 0,01$	$7,37 \pm 0,02$	$7,37 \pm 0,01$
	2,5 h	$7,38 \pm 0,02$	$7,38 \pm 0,02$	$7,38 \pm 0,01$
	5 h	$7,38 \pm 0,01$	$7,39 \pm 0,01$	$7,39 \pm 0,01$
PaCO_2 (mmHg)	basal	$35,0 \pm 2,3$	$34,1 \pm 1,2$	$35,7 \pm 0,9$
	2,5 h	$34,2 \pm 3,0$	$34,1 \pm 2,6$	$36,2 \pm 2,7$
	5 h	$36,4 \pm 2,6$	$34,4 \pm 1,9$	$36,7 \pm 2,4$
PaO_2 (mmHg)	basal	$514,4 \pm 14,9$	$512,0 \pm 21,1$	$506,8 \pm 18,0$
	2,5 h	$509,5 \pm 32,7$	$514,2 \pm 11,9$	$506,8 \pm 28,1$
	5 h	$503,1 \pm 29,6$	$512,0 \pm 26,4$	$504,0 \pm 16,9$
HCO_3^- (mmol/L)	basal	$20,8 \pm 1,1$	$20,5 \pm 0,9$	$21,3 \pm 0,3$
	2,5 h	$20,7 \pm 1,0$	$20,8 \pm 0,9$	$21,6 \pm 1,1$
	5 h	$22,1 \pm 1,0$	$21,6 \pm 0,9$	$22,3 \pm 0,4$
BE (mmol/L)	basal	$-4,6 \pm 1,4$	$-5,0 \pm 1,2$	$-4,0 \pm 0,4$
	2,5 h	$-4,7 \pm 1,3$	$-4,6 \pm 1,2$	$-3,6 \pm 1,1$
	5 h	$-3,0 \pm 1,2$	$-3,6 \pm 1,1$	$-2,7 \pm 0,5$
T ($^\circ\text{C}$)	basal	$38,1 \pm 0,1$	$38,1 \pm 0,1$	$38,1 \pm 0,1$
	2,5 h	$38,1 \pm 0,1$	$38,1 \pm 0,1$	$38,1 \pm 0,1$
	5 h	$38,1 \pm 0,0$	$38,1 \pm 0,0$	$38,1 \pm 0,1$

Tabela 2.5 - Médias e desvios padrão da duração do período anestésico e dos intervalos de tempos entre o término da anestesia e a extubação, adoção de decúbito esternal e adoção da posição quadrupedal em seis cães anestesiados com isoflurano e tratados com $0,5 \text{ mg/kg}$ de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_P e MEP_T). Nos tratamentos MIV e MEP_P , o estímulo nociceptivo empregado para a determinação da CAM_{ISO} foi aplicado no membro pélvico e, no tratamento MEP_T , no membro torácico

		<i>Tratamentos</i>		
		MIV	MEP_P	MEP_T
Período anestésico (h)		$7,6 \pm 0,5$	$7,4 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,3$
Extubação (min)		10 ± 2	10 ± 3	7 ± 2
Eternal (min)		12 ± 4	12 ± 4	9 ± 4
Quadrupedal (min)		16 ± 7	18 ± 10	16 ± 9

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que tanto a administração da metadona pela via intravenosa quanto pela via peridural potencializa a anestesia com isoflurano, com o efeito da via peridural persistindo por período mais prolongado em dermatômos específicos. A potencialização do isoflurano numa fase inicial (2,5 horas) foi de intensidade similar tanto para a via peridural como para a via intravenosa (aproximadamente 30% da CAM_{ISO}). Por outro lado, a potencialização do isoflurano se manteve por um período mais prolongado (5 horas) quando o estímulo nociceptivo foi aplicado no membro torácico (30% de redução da CAM_{ISO} às 5 horas), contrastando com a potencialização do isoflurano proporcionada pela via intravenosa (16% de redução da CAM_{ISO} às 5 horas) e pela via peridural com a estimulação nociceptiva aplicada no membro pélvico (19% de redução da CAM_{ISO} às 5 horas). Desta forma, a via peridural influenciou de forma significativa a duração e a abrangência segmentar da potencialização do isoflurano, sem influenciar a intensidade deste efeito.

Da mesma forma que no presente estudo, onde a via peridural resultou em maior redução da CAM_{ISO} que a via intravenosa em dermatômos específicos (membro torácico) apenas numa fase tardia (5 horas), em cães anestesiados com isoflurano para cirurgia de reconstrução do ligamento cruzado, Leibetseder et al. (2006) também verificaram que a metadona peridural (0,3mg/kg) proporcionou maior potencialização da anestesia que dose idêntica de metadona intravenosa somente em procedimentos cirúrgicos mais prolongados (> 2 horas). A análise coletiva destes resultados suporta a hipótese que a potencialização do isoflurano promovida pela metadona peridural se dá tanto por ação sistêmica quanto por ação segmentar direta na medula espinhal, sendo o primeiro mecanismo mais relevante numa fase inicial (2,5 horas) e o último mecanismo de maior importância numa fase mais tardia (5 horas).

A literatura relata valores médios de CAM_{ISO} variando entre 1,15% a 1,8% em cães (Steffey & Howland, 1977; Troncy et al., 1996; Hellyer et al., 2001; Valverde et al., 2003; Soares et al., 2004; Machado et al., 2006; Credie et al., 2010; Monteiro et al., 2010). Embora se considere que a CAM_{ISO} na espécie canina seja de

aproximadamente 1,2% (Steffey & Mama, 2007), os valores médios de CAM_{ISO} mensurados no presente estudo (1,57%) se situaram dentro da faixa de variação reportada na literatura. A não correção dos valores de CAM para valores relativos a 1 atm, diferenças na metodologia de determinação da CAM e fatores extrínsecos como o ritmo circadiano, temperatura corpórea e hipercapnia excessiva (PaCO₂ acima de 95 mmHg) influenciam significativamente os valores de CAM e podem explicar variações neste parâmetro entre diferentes estudos (Quasha et al., 1980; Valverde et al., 2003).

Ao se comparar os resultados do presente estudo com relatos prévios originados do mesmo laboratório (Credie et al., 2010; Monteiro et al., 2010) observa-se que os valores médios de CAM_{ISO} diferiram substancialmente entre si (1,57% *versus* 1,18% e 1,38%, respectivamente). Uma vez que a metodologia de determinação da CAM_{ISO} foi idêntica, esta discrepância pode ser atribuída a diferenças inerentes às populações de animais estudadas. Em nenhum desses estudos a idade dos animais pode ser determinada com precisão, mas os animais empregados no estudo atual aparentemente eram mais jovens, de porte inferior (peso médio de 16,5 kg) e com comportamento mais ativo que os empregados nos estudos de Credie et al. (2010) e Monteiro et al. (2010) (animais adultos com peso médio de 23 e 28 kg, respectivamente). Embora a influência desses fatores não seja estabelecida na espécie canina, no homem, a CAM se reduz com a idade. Indivíduos com idade inferior 1 a 6 meses apresentaram valores de CAM do halotano significativamente maiores (1,2%) que os com idade média de 35 anos (0,94%) (Stevens et al., 1975).

Apesar das diferenças nos valores basais de CAM_{ISO} em relação a outros estudos, estes resultados não influenciaram a avaliação dos efeitos da metadona, uma vez que as reduções percentuais da CAM_{ISO} induzidas pela metadona intravenosa do presente estudo (30% e 16% as 2,5 e 5 horas, respectivamente) foram próximas das observadas pela mesma dose de metadona intravenosa empregada no estudo de Credie et al. (2010) (35% e 15% às 2,5 e 5 horas, respectivamente). A similaridade da redução da CAM_{ISO} induzida pela metadona intravenosa, observada com a estimulação nociceptiva tanto do membro torácico (Credie et al., 2010) como do membro pélvico (estudo atual), confirma que a

potencialização do isoflurano produzida pela metadona intravenosa não ocorre em dermatômos específicos.

Houve uma relação diretamente proporcional entre magnitude da redução da CAM_{ISO} proporcionada pela metadona intravenosa e as concentrações plasmáticas do opióide. O efeito potencializador da CAM_{ISO} promovido pela metadona administrada em *bolus* intravenoso é caracterizado como sendo dependente da dose e do tempo (Credie et al., 2010). No estudo de Credie et al. (2010), a dose de 1 mg/kg de metadona intravenosa resultou em efeito redutor da CAM_{ISO} de 48 e 30% após 2,5 e 5 horas, sendo, portanto, mais intenso e prolongado que o promovido pela dose de 0,5 mg/kg. Isso sugere que, à medida que a concentração do fármaco se reduz no plasma e conseqüentemente na biofase, o efeito redutor da CAM também se reduz.

Com a metadona peridural, de forma semelhante à metadona intravenosa, a magnitude da potencialização do isoflurano (diminuição da CAM_{ISO}) também se reduziu à medida que houve decréscimo na concentração plasmática do opióide. No entanto, diferentemente da via intravenosa, a concentração plasmática da metadona após a sua administração peridural pode não representar uma aproximação adequada da sua concentração na biofase, uma vez que o fármaco peridural pode ter acesso direto aos receptores opióides localizados no corno dorsal da medula espinhal sem a necessidade de antes atingir a circulação sistêmica (Tung & Yaksh, 1982; Payne & Inturrisi, 1985; Payne et al., 1996). Por outro lado, caso o opióide peridural seja absorvido para a circulação sistêmica, parte de seus efeitos também podem ocorrer devido a sua ação supra-espinhal no SNC (Bernards, 2004).

Aparentemente, a redução CAM_{ISO} produzida pela metadona peridural ocorre predominantemente devido a sua atuação no SNC após a absorção vascular e redistribuição sistêmica, uma vez que tanto a via intravenosa como a peridural resultaram em reduções similares da CAM numa fase inicial (2,5 horas). A ação segmentar na medula espinhal parece ser mais importante numa fase tardia, uma vez a potencialização do isoflurano produzida pela metadona peridural se manteve por período prolongado quando a estimulação nociceptiva foi administrada no membro torácico. É provável que os segmentos da medula espinhal responsáveis pela inervação do membro torácico tenham sido expostos à maior quantidade de

metadona. Em gatos que receberam opióides pela via peridural lombar (morfina, meperidina e metadona), a analgesia foi mais prolongada em segmentos somáticos expostos à maior quantidade de fármaco (Tung & Yaksh, 1982).

Valverde et al. (1989) demonstraram que a administração da morfina (0,1 mg/kg) pela via peridural em cães proporciona redução da CAM do halotano tanto em membro torácico ($34 \pm 9\%$) quanto em membro pélvico ($43 \pm 6\%$). Este efeito segmentar mais abrangente foi sugerido como sendo resultado do acesso da morfina ao FCE após absorção do espaço peridural e subsequente dispersão rostral (Andersen et al., 1986, Valverde et al., 1989). Por outro lado, a característica lipossolúvel da metadona (Kaufman et al., 1975; Di Francesco & Bickel, 1985; Plummer et al., 1990) favorece uma ação analgésica segmentar mais restrita e dificulta sua migração para sítios de ação mais distantes ao local da injeção peridural (Tung & Yaksh, 1982), uma vez que o fármaco pouco se acumula no FEC (Payne & Inturrisi, 1985; Payne et al., 1996, *Capítulo 1*). A maior duração do efeito redutor da CAM_{ISO} promovido pela metadona peridural em membro torácico foi inesperada, pois o espaço peridural lombo-sacro resulta em maior proximidade do fármaco com a região da medula espinhal que inerva os membros pélvicos. A ação mais cranial da metadona pode ter sido favorecida pelo uso cateter peridural, o qual foi inserido 10 cm no espaço peridural com a curvatura da agulha de Tuohy direcionada em sentido cranial.

No presente estudo, as concentrações plasmáticas após a metadona peridural tenderam a ser menores que as obtidas após a metadona intravenosa numa fase inicial (2,5 horas) e se igualaram numa fase tardia (5 horas). De acordo com o estudo farmacocinético descrito no *Capítulo 1*, as concentrações plasmáticas obtidas após administração peridural de metadona foram significativamente menores que as obtidas com o uso da via intravenosa numa fase inicial (até 30 minutos). Após 2,5 horas da metadona no estudo farmacocinético, os valores médios de concentração plasmática também tenderam ser menores com a via peridural (16 ng/mL) em relação à via intravenosa (21 mg/mL), embora nenhuma significância estatística tenha sido detectada neste momento. A obtenção de concentrações plasmáticas menores após a metadona peridural em relação à metadona intravenosa numa fase inicial se deve ao fato de que opióides mais lipossolúveis,

como a metadona, tenderem inicialmente a ficarem retidos no tecido adiposo peridural / espinhal, característica que retarda sua absorção para a circulação sistêmica (Andersen et al., 1986). Este fato é reforçado pelas baixas concentrações de metadona no líquido colhido da região atlânto-occipital, já que este seqüestro para o tecido adiposo espinhal diminui a fração de fármaco disponível para acessar os compartimentos vascular e subaracnóideo (FCE) (*Capítulo 1*).

Tanto a metadona intravenosa quanto peridural resultaram em arritmias de origem vagal e redução da FC de magnitude similar após 2,5 e 5 horas de sua administração. Contudo, a redução da FC foi mais precoce e intensa quando a metadona foi administrada pela via intravenosa que peridural no presente estudo. Estas observações estão em concordância com estudo prévio, onde o efeito cronotrópico negativo da metadona intravenosa foi mais intenso que o observado com a metadona peridural numa fase inicial (cirurgias com duração < 2 horas), sendo que numa fase tardia (> 2 horas) estas diferenças entre as vias de administração desapareceram (Leibetseder et al., 2006). O caráter lipofílico da metadona permite que a mesma seja absorvida do espaço peridural para a circulação sistêmica e atinja sítios supra-espinhais responsáveis pelo controle autonômico, causando aumento do tônus vagal e bradicardia (Stanley et al., 1980; Bernards et al., 2003). Em cães conscientes, a metadona intravenosa (0,5 e 1 mg/kg) resultou em redução dose-dependente da FC e do débito cardíaco (Maiente et al., 2009). No presente estudo, o efeito cronotrópico negativo intenso promovido pela metadona peridural ou intravenosa não foi acompanhado por alterações significativas na PAM. Apesar da metadona reduzir significativamente a FC e o débito cardíaco de cães conscientes e anestesiados com isoflurano, não se observa hipotensão (redução da PAM), pois ocorre elevação compensatória da resistência vascular sistêmica (Maiente et al., 2009; Garofalo, 2010).

Assim como os efeitos cardiovasculares, a incidência de efeitos adversos registrados após a interrupção da anestesia inalatória foi similar nos animais tratados com metadona intravenosa ou peridural. O evento clínico mais frequente na fase de recuperação da anestesia foi a defecação, a qual foi observada nos minutos subseqüentes à adoção do decúbito quadrupedal. Estudos prévios também observaram a ocorrência de defecação logo após a administração de metadona pela via intravenosa (Kukanich & Borum, 2008; Maiente et al., 2009; Garofalo, 2010).

Em resumo, a administração peridural de metadona resulta em potencialização do isoflurano mais prolongada que a proporcionada pela administração intravenosa em dermatômos específicos. Esta ação segmentar na medula espinhal, compatível com sua característica lipossolúvel, foi mais evidente no membro do torácico que no membro pélvico, sugerindo que a técnica de administração peridural empregada favoreceu a atuação do opióide em segmentos espinhais mais craniais. De forma geral, a administração da metadona pela via peridural resulta em efeitos cardiovasculares e características de recuperação anestésica similares às observadas após sua administração pela via intravenosa. Tais semelhanças, acrescidas ao fato da via peridural não ter resultado em maior potencialização do isoflurano que a via intravenosa numa fase inicial (2,5 horas), sugere que administração peridural deste opióide pode não oferecer vantagens óbvias em relação à via intravenosa no período intra-operatório de cirurgias de curta duração (até 2,5 horas). Por outro lado, em cirurgias mais prolongadas (aproximadamente de 5 horas de duração), o uso da metadona peridural pode oferecer benefícios em relação à via intravenosa no que se refere à potencialização da anestesia em procedimentos cirúrgicos onde a estimulação nociceptiva se dará em dermatômos específicos. Estudos adicionais são necessários para verificar se a aplicação peridural lombo-sacra da metadona sem a utilização do cateter peridural reproduzem os mesmos resultados ou favorecem dermatômos mais caudais.

Capítulo 3:

“COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DA METADONA PERIDURAL OU INTRAVENOSA SOBRE O REQUERIMENTO DE ISOFLURANO E SOBRE A DOR PÓS-OPERATÓRIA EM CADELAS SUBMETIDAS À MASTECTOMIA”

RESUMO

Objetivou-se comparar os efeitos da metadona peridural e intravenosa sobre o requerimento de isoflurano necessário à manutenção da anestesia e sobre a dor pós-operatória de cadelas submetidas à mastectomia radical unilateral. Vinte cadelas apresentando tumores mamários (diâmetro < 10 cm) foram anestesiadas com propofol e isoflurano. Em todos os animais, um cateter peridural foi introduzido no espaço intervertebral lombo-sacro até a altura aproximada da 4^a vértebra lombar. A metadona (0,5 mg/kg, volume de 0,25 mL/kg) foi aleatoriamente administrada pela via intravenosa (grupo MIV, n=10) ou pela via peridural (grupo MEP, n=10). Volume igual de solução fisiológica foi administrado na via oposta à da metadona, para que o indivíduo responsável pelos ajustes na concentração expirada de isoflurano (ET_{ISO}) necessários à manutenção do plano anestésico cirúrgico e pela avaliação da dor pós-operatória não fosse ciente do tratamento estudado. Antes da anestesia (basal) e durante 24 horas após a metadona, a dor pós-operatória foi avaliada através da escala de Glasgow modificada (EGM, escala de 0 a 10) e através da mensuração do limiar nociceptivo mecânico (LNM) em 3 segmentos da cadeia mamária operada (inguinal, abdominal e torácico). Havendo escores de dor elevados ($EGM \geq 3,5$), administrou-se 0,25 mg/kg de metadona (volume de 0,25 mL/kg) pela mesma via utilizada inicialmente. Reavaliação da dor foi feita 45 minutos após o resgate. Os dados foram submetidos à ANOVA para variáveis assimétricas ($P < 0,05$). O número de animais resgatados foi analisado através de modelo logístico e o número total de resgates através do modelo de Poisson ($P < 0,05$). Durante aproximadamente 90 minutos após a administração intravenosa ou peridural de metadona, não houve diferenças significativas entre grupos nos valores de ET_{ISO} necessários à manutenção da anestesia. No período pós-operatório, houve necessidade de resgate analgésico em 7 animais após 3-4 horas da metadona intravenosa e em 3

animais após 8-12 horas da metadona peridural ($P > 0,05$). Um número significativamente maior de resgates foi necessário no grupo MIV em relação ao grupo MEP (16 e 3 resgates, respectivamente). No grupo MEP, os valores da EGM foram significativamente menores que no grupo MIV às 4 horas. Em ambos os grupos, houve elevação significativa do LNM em relação ao basal das 2 às 12 horas no segmento mamário inguinal operado. A elevação significativa do LNM em relação ao basal foi mais prolongada no grupo MEP (2 às 12 horas) que no grupo MIV (4 às 6 horas) no segmento abdominal operado. No segmento torácico operado, aumento significativo do LNM foi observado somente no grupo MEP (2 às 5 horas). Em todos os segmentos operados, o grupo MEP resultou em valores de LMN significativamente maiores que o grupo MIV às 2 e 3 horas. A metadona peridural não resulta em maior redução do requerimento de isoflurano para a manutenção da anestesia em relação à via intravenosa durante a mastectomia em cadelas. Porém, nestes casos, a via peridural é vantajosa por resultar em ação analgésica mais prolongada (8-12 horas) que a via intravenosa (2-3 horas).

Palavras-chave: Analgesia, antinocicepção, opióide.

Key-words: Analgesia, antinociception, opioid.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

A extensão do efeito analgésico segmentar promovido por opióides administrados pela via peridural, além de depender das características físico-químicas do fármaco (lipo / hidrossolubilidade), depende da dose, volume e local de administração. A administração peridural de morfina (dose total de 1 mg) ou meperidina (dose total de 10 mg) entre a 6^a e 7^a vértebras lombares de felinos resultou em efeito analgésico mais prolongado na região lombar que na região torácica, o que, provavelmente, ocorreu devido à exposição da medula espinhal da região lombar a maiores concentrações do opióide (Tung & Yaksh, 1982). Em cães submetidos à cirurgia de joelho para reparação de ruptura do ligamento cruzado, a administração peridural de metadona (0,3 mg/kg) resultou em maior potencialização do isoflurano que a administração da mesma dose pela via intravenosa quando o tempo anestésico-cirúrgico excedeu 2 horas, mas a duração do efeito analgésico no período pós-operatório foi similar (Leibetseder et al., 2006).

No entanto, a eficácia analgésica da metadona peridural, bem como a duração deste efeito, pode estar relacionada à dose administrada (Tung & Yaksh, 1982). De forma ideal, a escolha da dose clínica adequada deveria se basear em estudos de dose-resposta, avaliando tanto o efeito terapêutico desejado (analgesia / potencialização dos anestésicos gerais), quanto os possíveis efeitos adversos. Em contraste com a literatura que vêm preconizando doses menores de metadona em cães (0,25 a 0,3 mg/kg) (Hall et al., 2001; Leibetseder et al., 2006), estudos realizados na FMVZ-UNESP sugerem que doses mais elevadas (0,5 mg/kg) podem ser empregadas de forma segura pela via intravenosa com o objetivo de potencializar os anestésicos gerais inalatórios (Maiante et al., 2009; Credie et al., 2010; *Capítulo 2*).

Tendo em vista a necessidade de se estabelecer a dose clínica eficaz da metadona peridural em cães, o presente estudo objetivou comparar os efeitos da metadona peridural e intravenosa (0,5 mg/kg) sobre a dor pós-operatória em cadelas submetidas à mastectomia radical unilateral. A hipótese formulada foi que a metadona peridural, em dose mais elevada que a preconizada pela literatura (0,5 mg/kg), resultaria em analgesia mais eficaz e prolongada que a proporcionada pela mesma dose administrada pela via intravenosa. Como alguns animais podem não

transformar sua experiência dolorosa em alterações comportamentais típicas, em associação à avaliação subjetiva da dor através da Escala de Glasgow modificada (EGM) (Murrell et al., 2008), mensurou-se o limiar nociceptivo mecânico (LNM) através do von Frey eletrônico (Kukanich et al., 2005bc). Este equipamento é a evolução dos múltiplos filamentos de von Frey e foi utilizado para a avaliação do efeito antinociceptivo da morfina em cães (Kukanich et al., 2005b).

Objetivou-se também comparar os efeitos da metadona peridural e intravenosa sobre o requerimento de isoflurano para a manutenção da anestesia durante o período intra-operatório de cadelas submetidas à mastectomia radical unilateral. Em estudo prévio (*Capítulo 1*), a magnitude da redução da CAM_{ISO} promovida pela metadona peridural (0,5 mg/kg), tanto em dermatômos mais craniais (membro torácico) como caudais (membro pélvico), foi similar à obtida com a mesma dose administrada pela via intravenosa numa fase inicial (2,5 horas após a administração). Tendo em vista que a mastectomia radical unilateral é um procedimento cirúrgico de duração curta (aproximadamente 1 a 2 horas), formulou-se a hipótese que a metadona peridural ou intravenosa exerceria influência similar sobre o requerimento de isoflurano necessário à manutenção da anestesia em cadelas submetidas a este procedimento cirúrgico.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu (Protocolo nº 189/2007-CEEA).

Seleção dos animais – Foram selecionadas para o estudo 20 cadelas com escore corporal de 3 ou 4 (Edney & Smith, 1986; Apêndice III.I), dóceis, apresentando tumor (es) mamário (s) de diâmetro máximo de 10 cm, não aderido(s) à musculatura, não ulcerado(s) e sem evidência de processo inflamatório ou dor à palpação. Outros critérios para inclusão no estudo foram os resultados de hemograma, função renal (uréia e creatinina) e função hepática (ALT, FA, GGT e albumina) dentro dos limites de normalidade, ausência de sinais macroscópicos de nódulos metastáticos em pulmões no exame radiográfico e ausência de alterações clinicamente significativas nos exames de avaliação cardíaca (eletrocardiograma e radiografia torácica). Todos os proprietários foram informados sobre os riscos inerentes ao procedimento anestésico-cirúrgico e autorizaram, por escrito, a inclusão de seu animal no estudo. Nenhum dos animais selecionados recebeu agentes anti-inflamatórios ou analgésicos nos 15 dias antecedentes ao procedimento cirúrgico.

Condicionamento dos animais – Os animais foram admitidos no hospital veterinário pelo menos 15 horas antes do início do seu preparo para a cirurgia. Neste período, foi realizada a pesagem dos animais, assim como a remoção dos pelos das áreas necessárias para a realização do estudo. Os animais ficaram acomodados em um ambiente tranquilo de aproximadamente 8 m², com água à vontade e mantiveram contato com o profissional responsável pela avaliação da dor pós-operatória. Ainda neste período, foi oferecida a última alimentação, com ração fornecida pelo proprietário ou alimentos altamente palatáveis (como biscrok® ou ração úmida), antes do período de jejum pré-anestésico.

Preparo pré-operatório – Os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas, sem restrição hídrica. Para que não houvesse interferência de efeitos residuais de fármacos sedativos sobre a avaliação da dor pós-operatória imediata (primeiras horas da avaliação pós-operatória), os animais não foram pré-medicados. Após a cateterização percutânea da veia cefálica, tal cateter foi preenchido com solução de NaCl a 0,9% contendo heparina (5 U/mL) e vedado com dispositivo

específico⁴⁶. A anestesia foi induzida com propofol⁴⁷, cuja dose foi titulada até que o animal permitisse a intubação endotraqueal (6 a 8 mg/kg, IV). Imediatamente após a intubação, a sonda endotraqueal com cuff foi conectada a um circuito circular valvular⁴⁸ para a administração de isoflurano⁴⁹ diluído em 100% de oxigênio. O fluxo de oxigênio foi mantido em 100 mL/kg/min nos primeiros 5 minutos e reduzido para 30-50 mL/kg/min no restante do tempo. O vaporizador calibrado⁵⁰ foi ajustado de forma a manter plano moderado de anestesia, de acordo com julgamento clínico.

Através do cateter venoso previamente citado, Ringer com lactado de sódio foi administrado (10 mL/kg/h) por meio de bomba de infusão peristáltica⁵¹. Outro cateter foi introduzido de forma percutânea na artéria dorsal podal e conectado a um transdutor de pressão para mensuração da pressão arterial sistólica, média e diastólica (PAS, PAM e PAD) através de monitor multiparamétrico⁵². O transdutor de pressão foi posicionado na altura do coração com o valor zero de referência (0 mmHg) ajustado periodicamente de acordo com a pressão ambiente. A via arterial também foi utilizada para colheita de amostras de sangue para hemogasometria⁵³ e para a mensuração da concentração plasmática de metadona. Os valores hemogasométricos foram corrigidos de acordo com a temperatura corpórea (T), a qual foi aferida através de um sensor trans-esofágico²⁷. A T foi mantida entre 37,0 e 38,5 °C através de colchão termo-elétrico⁵⁴ e insuflador de ar aquecido⁵⁵.

Para a amostragem contínua dos gases das vias aéreas (200 mL/min) e determinação das concentrações expiradas de isoflurano (ET_{ISO}) e CO₂ (ETCO₂) foi utilizado um analisador de gases infravermelho²⁶, conectado à peça intermediária situada entre o circuito anestésico e a sonda endotraqueal. Antes do início de cada experimento, o analisador de gases foi calibrado com amostra de gás padrão⁵⁶, composta por 2% de agente anestésico (desflurano), 55% O₂, 33% N₂O e 5% CO₂. A

⁴⁶ Adaptador PRN BD, Juiz de Fora, MG, Brasil.

⁴⁷ Propofol, Cristália, Itapira, SP, Brasil.

⁴⁸ Aparelho de Anestesia Samurai III - Takaoka, São Paulo, SP, Brasil.

⁴⁹ Isoforine, Cristália, Itapira, SP, Brasil.

⁵⁰ Vaporizador K Takaoka Sigma Delta, São Paulo, SP, Brasil - Fapesp Proc. 08/58894-9.

⁵¹ Samtronic - 550 T2, São Paulo, SP, Brasil.

⁵² Cardiocap™/5 - Datex-Ohmeda, Helsinki, Finland - FAPESP Proc. 00/02583-3.

⁵³ pH/Blood Gas Analyzer Model 348 - Chiron Diagnostics, Halstead, England - FAPESP Proc. 98/00748-3.

⁵⁴ Estek® - Ortovet, São Paulo, SP, Brasil.

⁵⁵ Warmtouch® - Mallinkrodt, Pleasanton, CA, EUA - Fapesp Proc. 08/58894-9.

⁵⁶ Quick Cal™ Calibration Gás - Datex-Engstrom Division Instrumentarium Corp, Helsinki, Finland.

calibração foi considerada adequada quando a variação no vol% do agente anestésico foi menor ou igual a 0,03% em relação ao valor de referência (2%).

Durante a anestesia, todos os animais foram submetidos à ventilação com volume controlado⁵⁷. A pressão inspiratória máxima e a frequência respiratória foram ajustadas de forma a prevenir hipercapnia ($\text{PaCO}_2 > 45 \text{ mmHg}$). Para facilitar os ajustes no ventilador, os valores de ETCO_2 foram adotados como estimativa da PaCO_2 , mediante a determinação prévia de sua diferença ($\text{ETCO}_2 - \text{PaCO}_2$). A frequência cardíaca foi monitorada através da derivação II do eletrocardiograma²⁷.

Um cateter peridural 19 ou 20G⁵⁸ foi introduzido no espaço peridural através de punção lombo-sacra com agulha de Tuohy 17 ou 18G¹³, respectivamente. A mesma técnica de cateterização peridural descrita no *Capítulo 1* foi empregada no presente estudo. Para evitar o deslocamento parcial ou total do cateter peridural durante as primeiras 24 horas de avaliação pós-operatória, pontos simples separados foram aplicados para fixar o cateter à pele por meio de borboleta adesiva. Subsequentemente, o cateter peridural foi protegido e fixado à pele com um adesivo com propriedade antimicrobiana⁵⁹ (Figura 2.1).

A extensão do cateter a ser mantida no interior do espaço peridural foi estimada através da mensuração da distância (cm) entre o espaço lombo-sacro e o ponto médio da 4^a vértebra lombar (L_4) em exame radiográfico realizado no período pré-operatório. Durante a cateterização, inicialmente, uma extensão maior do cateter que a extensão estimada para se atingir L_4 foi introduzida no espaço peridural. Após a remoção da agulha de Tuohy, o cateter foi reposicionado (Ex: $X + Y \text{ cm}$) de acordo com a extensão estimada do cateter ($X \text{ cm}$) e a profundidade que a agulha de Tuohy precisou ser introduzida para atingir o espaço peridural ($Y \text{ cm}$).

Todos os animais receberam ceftriaxona na dose única de 30 mg/kg pela via intravenosa antes do início da cirurgia.

⁵⁷ Ventilador 677 - K. Takaoka, São Paulo, SP, Brasil.

⁵⁸ Arrow International Inc, Reading, PA, USA.

⁵⁹ Ioban™ - 3M, Minnesota, USA.



Figura 3.1 - Fixação e proteção do cateter peridural com adesivo antimicrobiano. A seta indica a “borboleta” feita com adesivo ao redor do cateter peridural para sua fixação à pele com ponto simples separado

Delineamento experimental – Em um delineamento experimental aleatorizado duplo-cego, os animais foram divididos em 2 grupos de 10 animais cada. A metadona⁶⁰ na dose de 0,5 mg/kg foi administrada pela via intravenosa no grupo MIV e peridural no grupo MEP. No momento da aplicação da metadona, solução de NaCl a 0,9% foi injetada pela via oposta à da metadona (peridural no grupo MIV e intravenosa no grupo MEP). Em ambos os grupos, a metadona foi administrada por um único indivíduo não ciente do grupo estudado entre 30 e 60 minutos da indução da anestesia geral (considerado como o momento da intubação endotraqueal).

Os volumes injetados pelas vias peridural e intravenosa foram ajustados para 0,25 mL/kg com o emprego de solução de NaCl a 0,9%. O tempo de injeção para ambas as vias foi de 1 minuto. Após a aplicação dos fármacos, o espaço morto dos cateteres peridural e intravenoso foi lavado com 0,05 mL/kg de solução de NaCl a 0,9%.

Procedimento cirúrgico – A mastectomia radical unilateral, iniciada após 30 a 45 minutos da aplicação da metadona, foi realizada por um único profissional. O tempo cirúrgico foi padronizado em 1 hora, com tolerância de até 15 minutos (45 minutos a 1 hora e 15 minutos) e o procedimento foi dividido em 2 etapas: 1) Etapa de “divulsão”, a qual consistiu na incisão de pele e divulsão dos segmentos mamários (torácico, abdominal e inguinal); cada segmento foi divulsionado em intervalos de 5

⁶⁰ Mytedon, Cristália, Itapira, SP, Brasil.

minutos; 2) Etapa de “sutura”, a qual consistiu na aproximação do tecido subcutâneo e na sutura de pele. A anestesia foi interrompida após 1,5 horas da administração da metadona.

Avaliação intra-operatória – Durante o período intra-operatório, a ET_{ISO} foi ajustada de forma a manter plano anestésico-cirúrgico com base em sinais clínicos (imobilidade associada à ausência de reflexo palpebral, tônus de mandíbula reduzido e ausência de esforços respiratórios espontâneos durante a ventilação mecânica) e manutenção da PAM dentro de limites clinicamente aceitáveis (entre 60 e 100 mmHg). Antes do início da cirurgia, pinçamento interdigital foi realizado de forma manual e aumentos graduais em 0,2% na ET_{ISO} foram realizados caso houvesse incremento em mais de 20% na PAM. A cirurgia somente foi iniciada quando a variação na PAM frente ao pinçamento interdigital foi menor que 20%. No decorrer da cirurgia, os ajustes na ET_{ISO} foram feitos respeitando-se o seguinte algoritmo: se diante do estímulo cirúrgico a PAM se mantivesse estável (oscilações menores que 20% na PAM), a ET_{ISO} era reduzida em 0,1%; caso houvesse acréscimo em mais de 20% na PAM, a ET_{ISO} era aumentada em 0,2% (Figura 2.2). Cada ET_{ISO} foi mantida estável por um período de 5 minutos antes de novos ajustes. Os ajustes no plano anestésico foram realizados por único profissional não ciente do grupo ao qual o animal pertencia.

Episódios de bradicardia ($FC < 60$ bpm) somente foram tratados com atropina (0,02 mg/kg, IV) se estivessem associados à hipotensão arterial ($PAM < 60$ mmHg). Hipotensão associada à FC normal foi inicialmente tratada com *bolus* de Ringer com lactado de sódio (20 mL/kg durante 15 min). Não havendo resposta positiva (retorno da PAM aos valores mínimos desejados) após o emprego de 2 *bolus* consecutivos de fluido, a dopamina foi administrada por infusão intravenosa contínua (5 a 10 μ g/kg/min) até a estabilização da PAM dentro dos limites desejados.

Os valores de ET_{ISO} , $ETCO_2$, FC, PAS, PAD, PAM e T foram registrados a cada 5 minutos durante a manutenção da anestesia, enquanto os valores hemogasométricos foram obtidos em intervalos de 30 minutos.

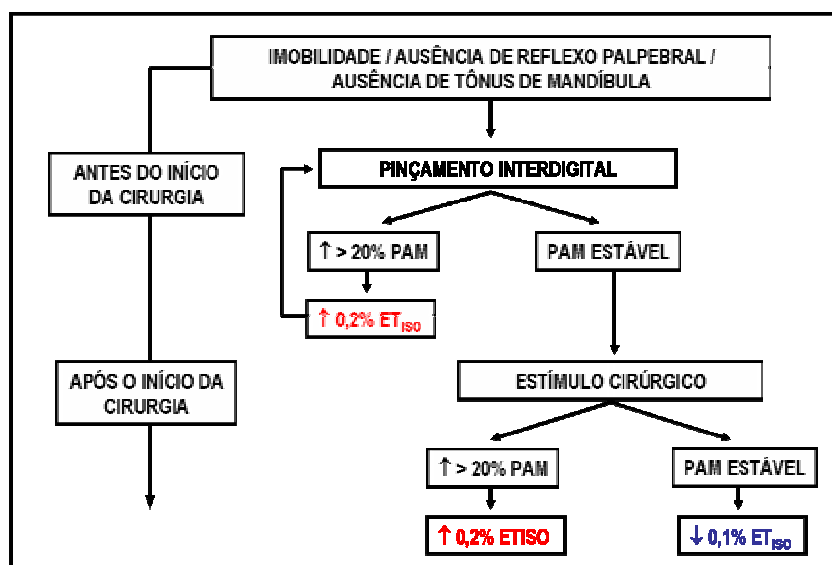


Figura 3.2 - Algoritmo utilizado para os ajustes na ET_{150} durante a manutenção do plano anestésico das cadelas submetidas à mastectomia

Recuperação anestésica – Os intervalos de tempo entre o término da anestesia inalatória e a extubação (momento de retorno do reflexo de deglutição), a adoção do decúbito lateral e a adoção da posição quadrupedal foram registrados. Durante as 24 horas de pós-operatório, também foram registrados os possíveis efeitos adversos como agitação, vocalização, salivação, ataxia, vômito e defecação.

Avaliação da sedação e dor pós-operatória – As características comportamentais de cada animal foram acompanhadas desde a admissão do animal no dia antecedente ao estudo. Escores de sedação e dor foram obtidos antes da indução anestésica e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração da metadona (Figura 3.5).

A sedação foi avaliada através da escala analógica visual (EAV), a qual consiste em uma linha de 10 cm, onde a marcação da extrema esquerda (0) indica animal completamente desperto/alerta e a da extrema direita (10), animal inconsciente. A dor foi avaliada através da escala de dor da Universidade de Glasgow, validada por Morton et al. (2005) e modificada, posteriormente, por Murrell et al. (2008) (EGM; Tabela 3.1). Segundo esta escala, a qual engloba somente parâmetros comportamentais (interativos ou não), a soma total de pontos varia de 0 a 10, onde 0 representa “ausência total de dor” e 10 “dor máxima possível”. Para a pontuação dos escores de sedação e dor, as características comportamentais não

interativas foram avaliadas anteriormente à interação entre o avaliador e o animal. Primeiramente, o animal foi observado através de uma janela situada na porta da sala onde ficou acomodado. Em seguida, a porta da sala foi aberta e foi observada a reação do animal na presença do avaliador. Na última etapa de avaliação, o animal foi, de forma sequencial, chamado pelo nome, encorajado a se levantar e caminhar pelo recinto e manipulado pelo avaliador.

Caso a intensidade da dor fosse considerada inaceitável ($E_{GM} \geq 3,5$), analgesia suplementar (resgate analgésico) foi realizada com metadona (0,25 mg/kg, diluída com solução de NaCl a 0,9% para um volume de 0,25 mL/kg), administrada pela mesma via empregada antes do procedimento cirúrgico. Após aproximadamente 45 minutos de cada resgate analgésico, escores de sedação e dor foram novamente obtidos e, nos casos em que o escore de dor ainda se manteve acima de 3,5 pontos, novo resgate foi administrado. Este procedimento foi executado até que o escore se reduzisse a valores inferiores a 3,5. Considerando que a avaliação pós-operatória despendia, em média, 15 minutos, os resgates analgésicos, quando necessários, foram realizados aproximadamente 1 hora após o resgate anterior.

A avaliação da dor com a EGM não foi realizada caso os animais apresentassem EAV maior ou igual a 5 cm, pois a EGM não discrimina adequadamente os comportamentos relacionados à dor daqueles oriundos da sedação farmacológica. Também não foi pontuado o parâmetro “mobilidade” da EGM se os animais se encontrassem alertas (EAV próxima à zero), porém incapazes de se locomover devido à ataxia de origem farmacológica (fraqueza acentuada em membros pélvicos). Neste caso, a pontuação foi realizada normalmente para os demais parâmetros e ao parâmetro “mobilidade” se atribuiu o número igual ao pontuado no momento basal.

O mesmo indivíduo responsável pela avaliação do plano anestésico e ajuste dos valores de ET_{ISO} também foi responsável pela avaliação da dor pós-operatória. Para que este indivíduo não tivesse ciência do grupo estudado, durante as aplicações dos resgates analgésicos, o mesmo volume (0,25 mL/kg) de solução de NaCl a 0,9% foi administrado na via oposta a da metadona (intravenosa no grupo MEP e peridural no grupo MIV).

Tabela 3.1 - Escala de dor da Universidade de Glasgow modificada por Murrell et al. (2008)

	PARÂMETROS	CRITÉRIOS	PESO	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
Do lado de fora da sala (através da janela situada na porta), observe o animal e caracterize:	Postura	Rígido	1.20									
		Corcunda	1.13									
		Normal	0.00									
	Vocalização	Chora	0.83									
		Geme	0.92									
		Grita	1.75									
		Não vocalize	0.00									
	Atenção à ferida cirúrgica	Mordendo	1.40									
		Lambendo/olhando/esfregando	0.94									
		Ignora	0.00									
Entre na sala e chame-o pelo nome. Encoraje-o a se levantar e caminhar até você. Avalie a mobilidade:	Mobilidade	Recusa-se a se mover	1.56									
		Rígido/duro/ inflexível	1.17									
		Lento/relutante para levantar e sentar	0.87									
		Claudicando	1.46									
		Normal	0									
		Chora	1.37									
Manipule a ferida cirúrgica, comprimindo-a ao longo de sua extensão e avalie a reação do animal:	Resposta ao toque	Foge/tira o corpo antes ou ao toque	0.81									
		Tenta morder antes ou ao toque	1.38									
		Rosna/guarda a ferida antes ou ao toque	1.12									
		Não reage	0									
		Agressivo/Deprimido	1.22									
		Desinteressado	1.56									
Finalmente, dê sua impressão sobre o comportamento e o conforto do animal:	Comportamento	Nervoso/ ansioso/ medroso	1.13									
		Quieto/Indiferente	0.87									
		Contente/saltitante	0.08									
		Desconfortável	1.17									
		Conforto	Confortável									
	Total (Máximo de 10 pontos)											

Mensuração do limiar nociceptivo mecânico – Imediatamente após a obtenção dos escores de dor e sedação, foi mensurado o limiar nociceptivo mecânico (LNM) com o emprego do “von Frey eletrônico”. Este equipamento consiste em um módulo central, uma célula eletrônica de carga capaz de exercer pressão máxima de 800 g e ponteira com extremidade rígida para o contato com o animal (Figura 3.3). O limiar nociceptivo mecânico foi mensurado em 3 regiões distintas (adjacente à mama inguinal, entre as mamas abdominais e entre as mamas torácicas) em ambas as cadeias mamárias (operada e não operada). Na cadeia mamária operada, a extremidade rígida do von Frey foi pressionada contra a pele a uma distância de 0,5 cm lateral à linha de sutura, enquanto que, na cadeia mamária não operada, ela foi aplicada sobre uma linha imaginária ligando todas as papilas mamárias (Figura 3.4-C). Imediatamente após o término da cirurgia, a ferida cirúrgica foi protegida com fita

adesiva dotada de microporos⁶¹ (Figura 3.4-C). Para que esta fita não interferisse na avaliação do limiar nociceptivo, os pontos de estimulação foram mantidos expostos por meio de aberturas em sua superfície. Para a mensuração do limiar nociceptivo, os animais foram posicionados em decúbito lateral e esta somente foi iniciada quando os mesmos se mostravam tranquilos e confortáveis com o posicionamento e sem a necessidade de contenção física (Figura 3.4-C). A aplicação do estímulo para a mensuração do LNM foi realizado por único profissional não ciente do grupo ao qual o animal pertencia e a ordem das cadeias e segmentos mamários avaliados foi aleatória. Este estímulo foi executado exercendo pressão gradativa da probe sobre o tecido. A pressão infringida pela probe foi descontinuada se o animal reagisse ao estímulo (olhando para a ferida, retirando o corpo, tentando levantar, tentando morder ou vocalizando) ou se a pressão máxima fosse atingida (equivalente a leitura de 800 g). Na maioria dos casos, 2 mensurações foram realizadas em cada segmento mamário. Uma mensuração adicional foi realizada quando grande discrepância entre os dois primeiros valores (diferença maior que 30%) foram notadas. Nos casos de reação dolorosa exacerbada à pressão exercida pelo von Frey, uma nova estimulação foi abolida com o objetivo de minimizar o estresse do animal. Antes da primeira mensuração de LNM realizada no período pré-operatório, foi conferida a calibração do von Frey eletrônico (Figura 3.4-A). A cada mensuração, o equipamento foi zerado com o conjunto probe-extremidade rígida voltado para baixo, mimetizando a posição que esta estrutura permaneceria durante a mensuração do LNM (Figura 3.4-B, D).

⁶¹ Cremer SA, Blumenau, SC, Brasil.

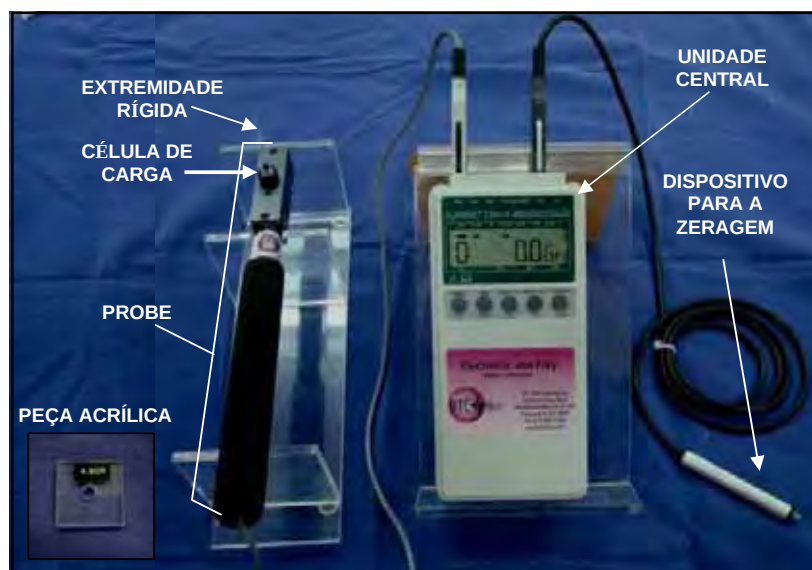


Figura 3.3 - Descrição dos componentes do von Frey eletrônico

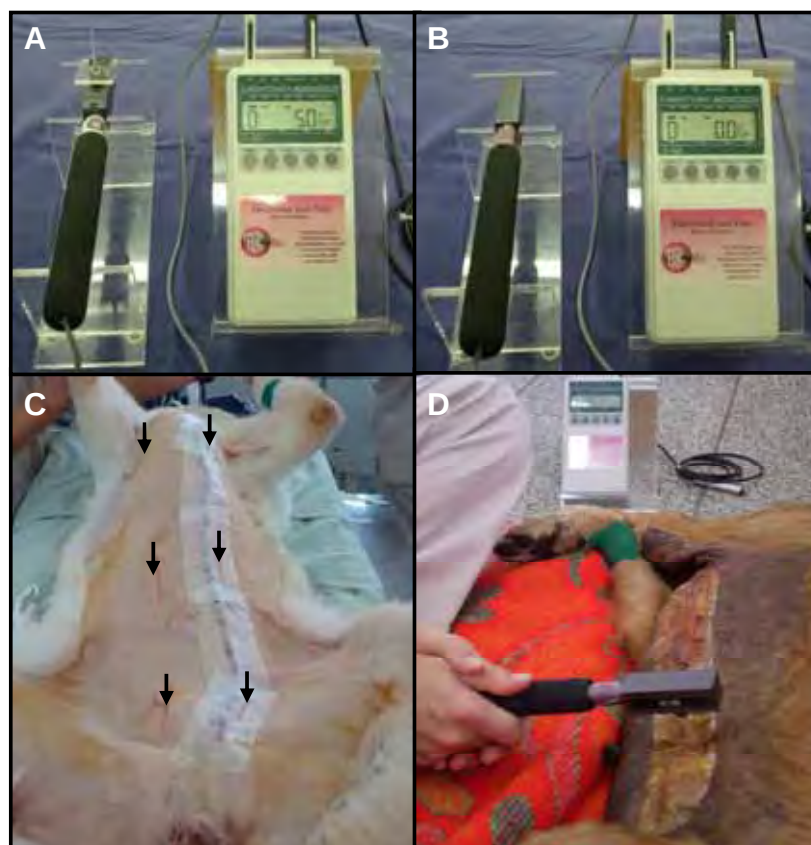


Figura 3.4 - Von Frey eletrônico: (A) Confirmação da calibragem do equipamento com a colocação da peça acrílica com peso conhecido ($4,9 \pm 0,1$ g) através extremidade rígida acoplada à célula de carga. (B) Zeragem do equipamento com o conjunto probe-extremidade rígida voltados para baixo; (C) Preparação da ferida cirúrgica com fita adesiva com microporos e demarcação dos pontos de estimulação (indicados pelas setas); (D) Posicionamento da probe durante a mensuração do limiar nociceptivo mecânico

Mensuração da concentração plasmática de metadona – Amostras de sangue arterial para a mensuração da concentração plasmática de metadona foram colhidas imediatamente antes (basal) e após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 12 horas da administração da metadona (Figura 3.5). Amostras adicionais foram colhidas dos animais que necessitaram de resgate analgésico em momentos não coincidentes com os previamente mencionados. Nos momentos em que foi requisitado resgate analgésico, as amostras foram obtidas antes de sua administração. Todas as amostras foram colhidas em tubos contendo heparina lítica e imediatamente centrifugadas a 4°C. O plasma foi separado e armazenado em freezer a -70°C para análise posterior.

Para a análise da concentração plasmática de metadona foi empregado o sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC)⁶² equipado com detector de massas⁶³, coluna C18 (3,5 µm, 4,6 mm x 75 mm)⁶⁴ e injetor automático. A fase móvel utilizada foi constituída por ácido fórmico⁶⁵, diluído a uma concentração de 0,1%, e acetonitrila⁶⁶ (proporção de 1:1). O fluxo e o volume de injeção do sistema foram de 0,5 mL/min e 20 µL, respectivamente.

A detecção espectrométrica de massa foi realizada em um instrumento triplo quadripolo (MS/MS), utilizando o monitoramento de reações múltiplas (MRM). Íons foram gerados em modo de ionização positiva utilizando uma interface de eletrospray. Detalhes sobre a validação do método bioanalítico se encontram descritos no *Capítulo 1*. O limite inferior de quantificação (LIQ) e o limite de detecção (LD) do ensaio foram de 1 e 0,5 ng/mL, respectivamente. Os coeficientes de variação intra-ensaio e interensaio foram no máximo 13% e 10%, respectivamente, nas concentrações de 2,5; 15 e 75 ng/mL.

A metadona foi extraída do material biológico através da adição de 200 µL de acetonitrila a 200 µL de amostra, agitando-se por 10 minutos e centrifugando-se a

⁶² Waters Alliance®, Massachusetts, USA.

⁶³ Waters Micromass®, Massachusetts, USA.

⁶⁴ Symmetry®, São Paulo, SP, Brasil.

⁶⁵ Synth, Diadema, SP, Brasil.

⁶⁶ J.T. Baker, New Jersey, USA.

18000 g por 15 minutos. Uma alíquota de 20 µL do sobrenadante foi injetada no sistema LC/MS/MS para análise.

Avaliação da exposição sistêmica à metadona e determinação da Concentração Efetiva Mínima (MEC) de metadona no plasma – Para avaliar a exposição sistêmica a qual os animais foram submetidos após receberem a metadona pela via intravenosa (grupo MIV) ou peridural (grupo MEP), a área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo desde a primeira hora pós-metadona até o último momento de colheita (12 h) ($ASC_{1h \rightarrow 12h}$) foi calculada através do método dos trapezóides para cada animal de ambos os grupos.

Nos animais que receberam resgate analgésico, calculou-se a concentração mínima efetiva (CME) da metadona. Estudos em pacientes humanos calculam a CME com base na concentração do opióide mensurada no momento em que o paciente requisitou analgesia suplementar (resgate analgésico) e consideram que o alívio da dor de um paciente pode ser "garantido" desde que a concentração plasmática do opióide seja mantida acima do valor de CME (Gourlay et al., 1982; Gourlay et al., 1984; Gourlay et al., 1986; Gourlay et al., 1988). De forma similar, a CME da metadona nas cadelas do presente estudo foi considerada a concentração plasmática de metadona mensurada no momento imediatamente anterior à suplementação analgésica devido a escores de dor elevados ($EGM \geq 3,5$).

Confirmação radiográfica do posicionamento do cateter peridural – Após a avaliação realizada no momento "8 horas", novo exame radiográfico foi realizado para a confirmação do posicionamento do cateter no espaço peridural (Figura 3.5). Como no presente estudo utilizou-se um cateter peridural radiopaco, não foi necessária a aplicação de contraste radiográfico para sua visualização. Além da extensão atingida pelo cateter em relação aos corpos vertebrais, eventos relacionados ao posicionamento inadequado (dobras, nós, progressão do cateter para a direção caudal, introdução do cateter fora do espaço peridural) ou à má fixação (deslocamento total) do cateter peridural também foram registrados.

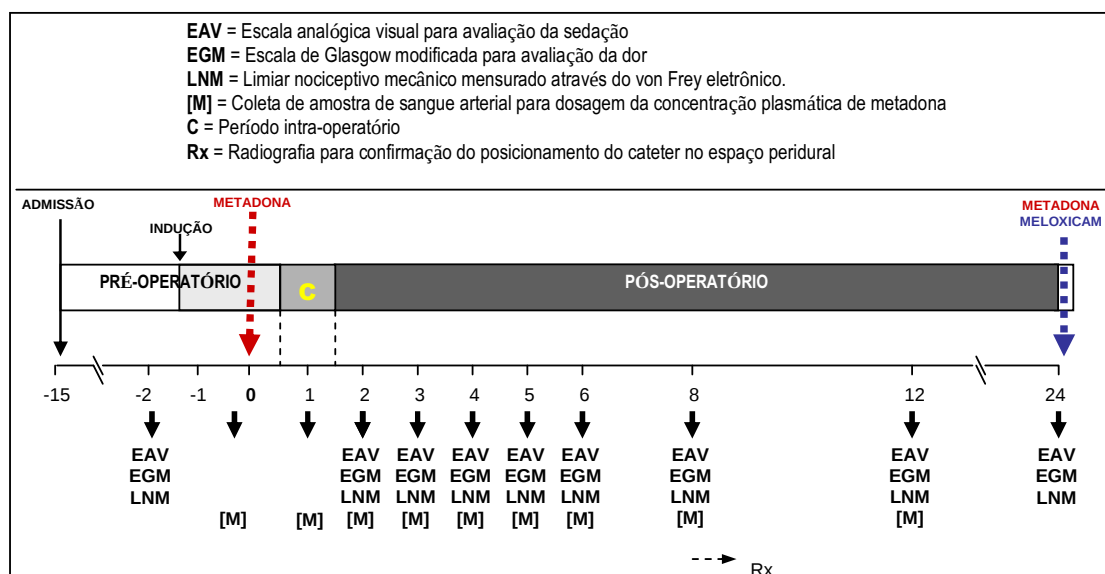


Figura 3.5 - Representação esquemática da coleta de dados durante a execução do estudo

Liberação dos animais após o término do estudo – Depois do último momento de avaliação (24 horas após a metadona), os animais receberam metadona (0,25 mg/kg) pela mesma via utilizada antes da realização da cirurgia e meloxicam (0,2 mg/kg) pela via intravenosa. Foram prescritos aos animais: enrofloxacin (7,5 mg/kg, SID, VO) por 10 dias, meloxicam (0,1 mg/kg, SID, VO) por 4 dias e cloridrato de tramadol (4 mg/kg, TID, VO) por 5 dias. Todos os animais retornaram ao hospital veterinário 10 a 15 dias após o procedimento cirúrgico para a retirada dos pontos. Neste momento, também foi realizada a inspeção visual da região de punção lombosacra, na busca de sinais de inflamação ou infecção (edema, vermelhidão ou secreção). Após aproximadamente 2 meses da cirurgia, os proprietários foram contactados via telefone e questionados sobre a atual condição do animal, seu grau de satisfação em relação à cirurgia e a ocorrência de efeito adversos, como sinais neurológicos, que pudessem estar relacionados à cateterização peridural.

Análise Estatística – Para as comparações entre os grupos (MIV e MEP) dos dados demográficos (como peso, idade, diâmetro do maior tumor), dos dados do período intra-operatório (dose de indução de propofol, a ET_{ISO} , FC, PAS, PAD e PAM) e dos parâmetros relacionados a tempo (duração da cirurgia, duração da anestesia, intervalo de tempo para extubação e adoção de decúbito esternal e quadrupedal) foi utilizado o teste t para amostras independentes. Para as comparações dos dados

intra-operatórios (ET_{ISO} , FC, PAS, PAD e PAM) registrados em cada etapa cirúrgica (etapas de “divulsão” e “sutura”) em um mesmo grupo (MIV ou MEP) foi realizado o teste t pareado.

Os escores de dor (EGM) e sedação (EAV) e os limiares nociceptivos mecânicos (LNM) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para variáveis assimétricas considerando 2 fatores (grupo e momento) e a interação entre eles. Pelo fato de os animais de cada grupo terem sido avaliados em 9 momentos (0, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas), incorporou-se à análise a variabilidade inerente ao animal (medida repetida). Para comparações entre grupos (MIV e MEP) empregou-se o teste de Tukey, enquanto que para comparações entre momentos dentro de um mesmo grupo empregou-se o teste de Dunnett, assumindo como valor de referência o momento basal. Análise similar foi aplicada às concentrações plasmáticas de metadona, entretanto, como o valor basal foi desconsiderado (valor abaixo do LIQ), somente teste de Tukey foi realizado. A análise estatística foi realizada através do Proc Mixed do SAS, versão 9.2, considerando o “animal” como efeito aleatório.

As áreas sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo ($ASC_{1h \rightarrow 12h}$) dos grupos MIV e MEP foram comparadas através de teste t para amostras independentes, enquanto que as concentrações efetivas mínimas (CME), através do teste de Mann Whitney.

Para a comparação entre grupos (MIV e MEP) quanto ao número de animais resgatados no período pós-operatório, utilizou-se um modelo logístico. Para a comparação do número total de resgates realizados em cada grupo durante as 24 horas de avaliação foi ajustado um modelo de regressão Poisson. Em ambos os modelos, o valor de P foi obtido através do teste da razão de verossimilhança. Para estudar o intervalo de tempo entre a aplicação pré-operatória de metadona e o primeiro resgate analgésico no período pós-operatório foi realizada a análise de sobrevivência, obtendo-se a curva de Kaplan-Meier. A comparação entre as curvas foi feita através do teste “Logrank”.

A incidência de cada efeito adverso observado em ambos os grupo foi comparada através do teste exato de Fisher.

Todos os testes foram realizados considerando o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Foi realizada mastectomia radical unilateral em 23 cadelas, sendo que 20 animais atenderam aos critérios de inclusão. Três cadelas foram excluídas devido a comportamento agressivo (1 animal), inflamação e aumento exacerbado da mama acometida no intervalo entre a seleção e a cirurgia (1 animal) e hemorragia difusa no período pós-operatório imediato (1 animal).

Dados demográficos – Os dados demográficos da população empregada encontram-se detalhados na Tabela 3.2. Não foram observadas diferenças significativas entre grupos com relação ao peso, a idade e ao diâmetro médio do maior tumor. Foram utilizados 7 animais sem raça definida e 3 de raças puras no grupo MIV e 4 animais sem raça definida e 6 de raças puras no grupo MEP. Sete e 3 cadelas do grupo MIV e MEP, respectivamente, eram castradas. Nenhuma das cadelas empregadas se encontrava prenhe durante a realização do estudo de acordo com os proprietários. Este fato foi confirmado através do acompanhamento dos animais por um período mínimo 2 meses no pós-operatório. Espondilose deformante em região lombar e/ou lombo-sacra, sem associação a sinais clínicos de dor ou desconforto, foi detectada no exame radiográfico de 3 e 2 animais dos grupos MIV e MEP, respectivamente (Figura 3.6 e 3.7).

Tabela 3.2 - Dados demográficos de 20 cadelas submetidas à mastectomia radical unilateral e distribuídas aleatoriamente nos grupos MIV (metadona intravenosa) e MEP (metadona peridural)

	GRUPOS	
	MIV	MEP
Peso (kg)*	22,7 ± 7,9	22,3 ± 11,2
Idade (anos)*	10,3 ± 2,8	9,7 ± 1,3
Raça	7 SRD 1 AKITA 1 LABRADOR 1 PASTOR ALEMÃO	4 SRD 2 BOXER 1 AKITA 1 LABRADOR 1 DOGUE ALEMÃO 1 DOBERMAN
Castrada – não (N) / sim (S)	3N / 7S	7N / 3S
Diâmetro do maior tumor mamário (cm)*	3,7 ± 1,4	3,7 ± 2,2
Alterações concomitantes detectadas no exame clínico / laboratorial	Espondilose deformante (3 animais)	Espondilose deformante (2 animais)

* Valores apresentados como média ± desvio padrão.

Requerimento de anestésicos para indução e manutenção da anestesia – A dose de propofol necessária para a indução da anestesia (intubação endotraqueal) foi semelhante entre os grupos ($6,2 \pm 1,1$ e $6,3 \pm 1,4$ mg/kg nos grupos MIV e MEP, respectivamente). A média da ET_{ISO} necessária para a manutenção do plano anestésico também foi similar entre os animais tratados com metadona intravenosa ou peridural, independentemente das etapas cirúrgicas (ET_{ISO} da etapa de “divulsão” = ET_{ISO} da etapa de “sutura”) (Tabela 3.3).

Parâmetros cardiovasculares – Durante todo o período intra-operatório, a metadona intravenosa resultou em valores de FC significativamente menores que a metadona peridural, muito embora este efeito tenha se reduzido ao longo do tempo (Tabela 3.3). As médias $\pm$ desvios padrão dos valores mínimos de FC nos grupos MIV e MEP foram de 41 ± 7 e 64 ± 11 bpm, respectivamente. Episódios de bradicardia foram observados em todos os animais do grupo MIV (10/10) e em 4 animais do grupo MEP (4/10). Em apenas 1 caso (grupo MIV), a bradicardia foi tratada com atropina porque esteve associada à hipotensão. Arritmia sinusal, bloqueio sino-atrial e bloqueio átrio-ventricular de 2º grau foram os distúrbios de ritmo mais frequentes no grupo MIV (10, 6 e 6 animais, respectivamente) e no grupo MEP (4, 1 e 3 animais, respectivamente). Dois animais do grupo MIV apresentaram escapes ventriculares isolados.

Não foram observadas diferenças na PAS entre os grupos MEP e MIV e nem ao longo do tempo (PAS da etapa de “divulsão” = PAS da etapa de “sutura”), mas os valores de PAD e PAM foram significativamente maiores no grupo MEP em ambas as etapas cirúrgicas (Tabela 3.3). Dois e 1 animais dos grupos MIV e MEP, respectivamente, apresentaram hipotensão (definida como $PAM < 60$ mmHg por mais que 5 minutos). Somente 1 desses animais, o qual pertencia ao grupo MIV, apresentou hipotensão refratária à 2 *bolus* consecutivos de Ringer com lactato de sódio (total de 40 mL/kg), necessitando que a infusão de dopamina fosse instituída para elevar a PAM. Em 1 animal do grupo MIV e em 2 animais do grupo MEP, houve elevação da PAM a valores acima do desejado ($PAM > 100$ mmHg) durante a divulsão do tecido mamário. A diminuição da PAM em níveis adequados foi realizada com interrupção temporária da cirurgia e elevação da ET_{ISO} .

Tabela 3.3 - Valores médios e desvios padrão das concentrações expiradas de isoflurano (ET_{ISO}), frequência cardíaca (FC), pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) durante a incisão e divulsão do tecido mamário (etapa de “divulsão”) e durante aproximação do tecido subcutâneo e sutura de pele (etapa de “sutura”) em 20 cadelas submetidas à mastectomia radical unilateral e que receberam a administração preemptiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10)

	Etapas	GRUPOS	
		MIV	MEP
ET_{ISO} (%)	Divulsão	1,6 ± 0,3	1,6 ± 0,3
	Sutura	1,5 ± 0,3	1,4 ± 0,3
FC (bpm)	Divulsão	52 ± 11	70 ± 16 [†]
	Sutura	59 ± 17*	70 ± 13 [†]
PAS (mmHg)	Divulsão	123 ± 21	120 ± 14
	Sutura	121 ± 15	119 ± 13
PAM (mmHg)	Divulsão	68 ± 9	75 ± 12 [†]
	Sutura	69 ± 10	72 ± 9 [†]
PAD (mmHg)	Divulsão	53 ± 8	60 ± 10 [†]
	Sutura	54 ± 8	59 ± 7 [†]

* Diferença significativa entre etapas cirúrgicas de um mesmo grupo (Teste t pareado; $P < 0,05$).

† Diferença significativa entre grupos (Teste t para amostras independentes; $P < 0,05$).

Os dados hemogasométricos e de temperatura corpórea não foram submetidos à análise estatística, mas se mantiveram dentro de limites estreitos durante todo o período intra- operatório em ambos os grupos (Apêndice III. VI).

Tempos cirúrgicos e de recuperação anestésica – Os tempos relativos aos eventos que ocorreram no período intra-operatório, bem como os tempos relativos à recuperação anestésica não diferiram entre os grupos, a exceção do tempo para adoção da posição quadrupedal, que foi significativamente mais prolongado no grupo MEP (Tabela 3.4).

Tabela 3.4 - Valores médios e desvios padrão dos intervalos de tempo entre a aplicação da metadona e o início da cirurgia, duração da cirurgia, duração da anestesia, intervalo de tempo entre o término da anestesia e a extubação, adoção de decúbito esternal e adoção da posição quadrupedal em 20 cadelas submetidas à mastectomia e que receberam a administração preemptiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10)

	GRUPOS	
	MIV	MEP
Intervalo entre a aplicação da metadona e o início da cirurgia (min)	37 ± 3	39 ± 3
Duração da cirurgia (min)	50 ± 4	51 ± 6
Duração da anestesia (min)	161 ± 12	164 ± 15
Intervalo entre o término da anestesia e a extubação (min)	13 ± 2	11 ± 7
Intervalo entre o término da anestesia e adoção do decúbito esternal (min)	23 ± 11	26 ± 14
Intervalo entre o término da anestesia e a adoção da posição quadrupedal (min)	42 ± 21	86 ± 59 [†]

[†] Diferença significativa entre grupos (Teste t para amostras independentes; $P < 0,05$).

Complicações associadas à colocação do cateter peridural – A extensão do cateter estimada no exame radiográfico para que sua extremidade distal atingisse a 4^a vértebra lombar foi de 11,7± 1,7 cm no grupo MIV e 11,4 ± 2,7 no grupo MEP. Ocorreu deslocamento completo do cateter peridural antes da confirmação radiográfica de seu posicionamento em 1 animal do grupo MIV e 1 animal do grupo MEP. Dos 18 casos em que foi possível a confirmação radiográfica, em somente 1 animal (grupo MIV) o cateter foi posicionado fora do espaço peridural (animal 2). A exceção de 1 animal (punção entre L₆-L₇ no animal 5 do grupo MEP), o cateter foi introduzido no espaço peridural mediante punção lombo-sacra (L₇-S₁). Dos 8 animais do grupo MIV onde o cateter foi posicionado no espaço peridural, este se estendeu até L₄ em 6 animais, enquanto nos outros 2 animais o cateter avançou até L₅ ou L₆. No grupo MEP, dos 9 animais em que foi possível a confirmação radiográfica, em 8 deles o cateter se estendeu até L₄. No animal do grupo MEP onde a punção peridural foi entre L₆ e L₇, o cateter se estendeu até L₃. Em nenhum dos exames radiográficos foram observadas dobras no cateter peridural (Figuras 3.6 e 3.7).

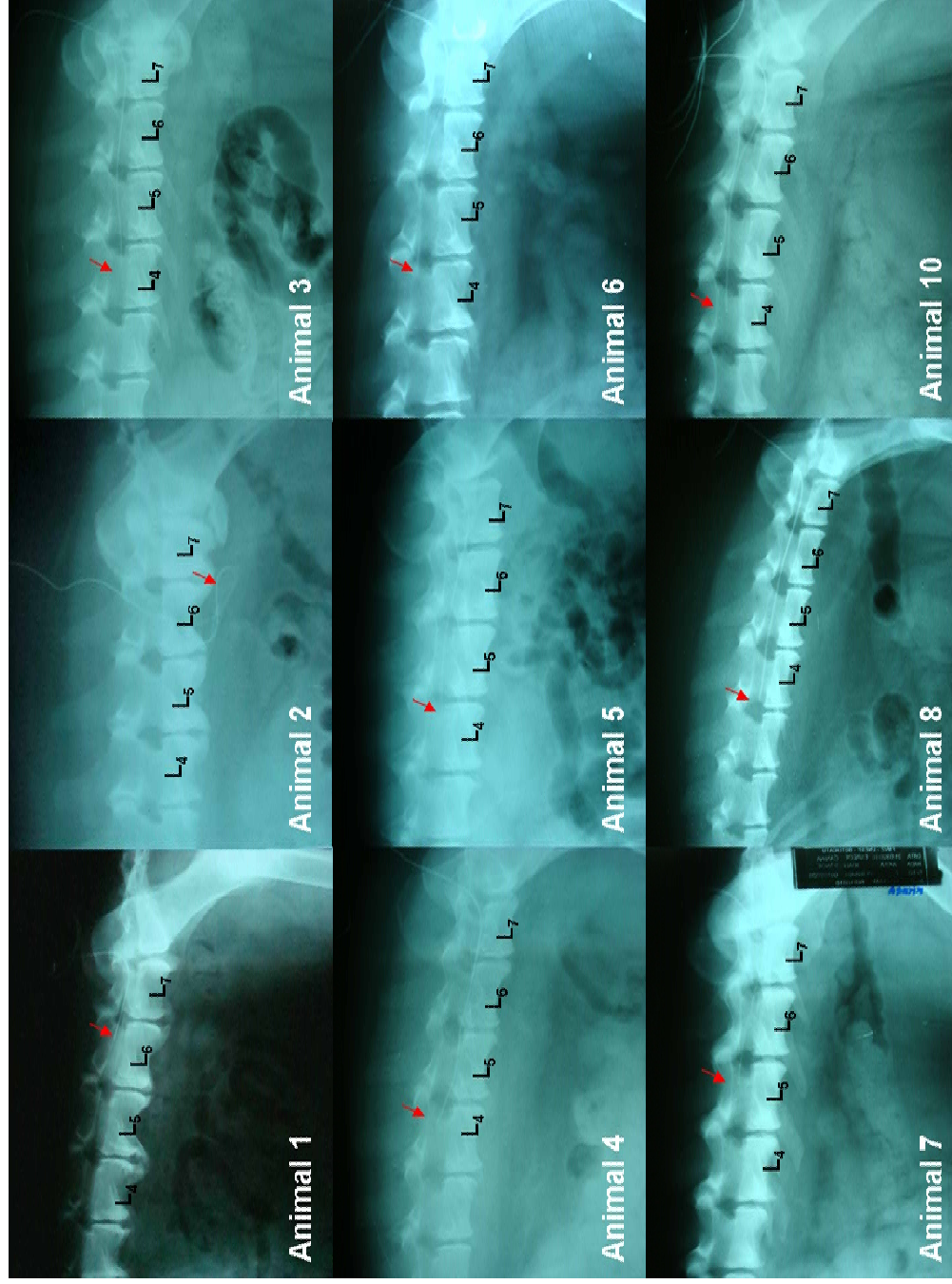


Figura 3.6 - Imagens radiográficas utilizadas para a confirmação do posicionamento do cateter peridural de 9 dos 10 animais do grupo MIV. No animal 2, o cateter foi inserido de forma inadequada. A imagem radiográfica do animal 9 não está apresentada acima porque houve deslocamento total do cateter antes da realização do exame

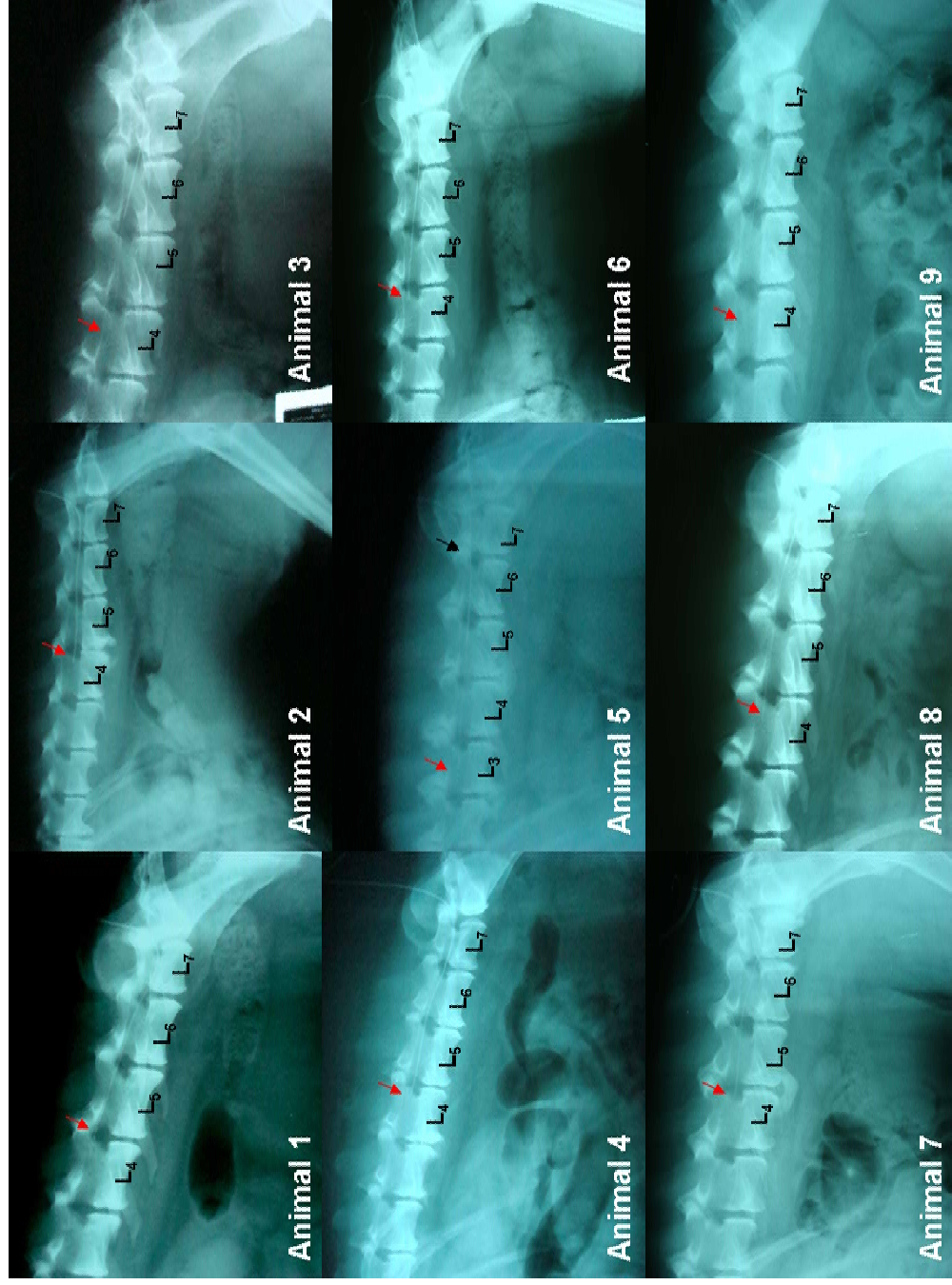


Figura 3.7 - Imagens radiográficas utilizadas para a confirmação do posicionamento do cateter peridural de 9 dos 10 animais do grupo MEP. A imagem radiográfica do animal 10 não está apresentada acima porque houve deslocamento total do cateter antes da realização do exame.

Avaliação da sedação pós-operatória – Quando o primeiro escore de sedação foi avaliado (2 horas após a administração da metadona), a administração de isoflurano havia sido interrompida e a sonda endotraqueal já havia sido removida em todos os animais de ambos os grupos. O escore de sedação foi significativamente mais elevado que o basal às 2 horas no grupo MIV e às 2 e 3 horas no grupo MEP. Entretanto, diferenças significativas entre os grupos quanto ao grau de sedação não foram observadas (Tabela 3.5 e Figura 3.8).

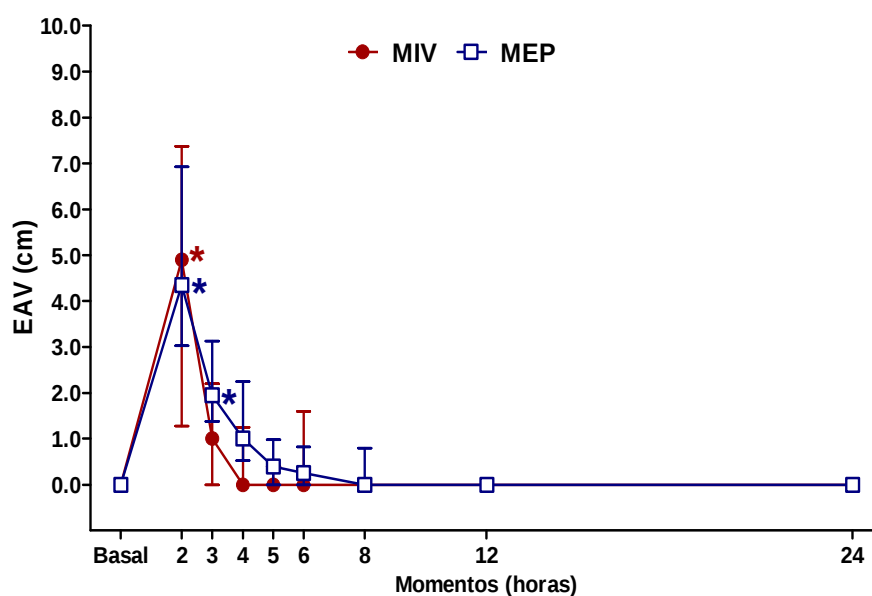


Figura 3.8 - Escores de sedação mensurados através da escala analógica visual (EAV; mediana; 1º e 3º quartis) em 20 cadelas submetidas à mastectomia antes (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração preemptiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV) ou peridural (grupo MEP). * Diferença significativa em relação ao basal (Dunnett, $P < 0,05$).

Avaliação dos escores de dor pós-operatória – No tratamento MEP, o escore de dor não foi mensurado em 4, 2 e 1 animais após 2, 3 e 4 horas da metadona peridural, respectivamente, por estes apresentarem $EAV \geq 5$. No tratamento MIV, pelo o mesmo motivo, o escore de dor não foi pontuado em 5 animais após 2 horas da metadona intravenosa. O escore de dor no grupo MIV foi significativamente maior que o basal das 2 às 12 horas. No grupo MEP, o escore de dor foi maior que o basal às 5 horas e das 8 às 24 horas. Diferença entre grupos com relação aos escores de dor somente foi observada às 4 horas, onde o escore do grupo MIV foi significativamente maior que do grupo MEP (Tabela 3.5 e Figura 3.9).

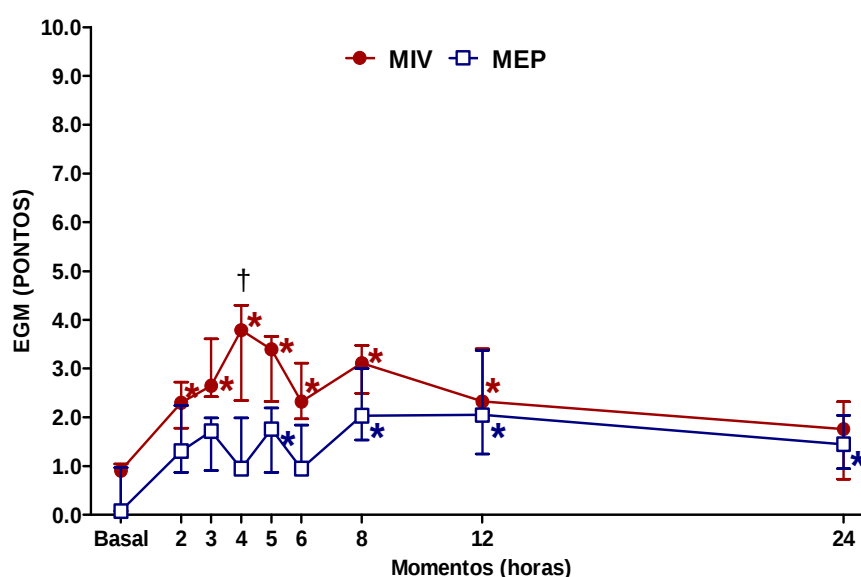


Figura 3.9 - Escores de dor mensurados através da escala de Glasgow modificada (EGM) (mediana; 1º e 3º quartis) em cadelas submetidas à mastectomia antes (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração preemptiva de metadona pela via intravenosa [grupo MIV; n=10 animais, a exceção às 2 h (n = 5)] ou peridural [grupo MEP; n = 10 animais, a exceção às 2 h (n = 6), 3 h (n = 8) e 4 h (n = 9)]. * Diferença significativa em relação ao basal (Dunnett, $P < 0,05$). † Diferença significativa entre grupos (Tukey, $P < 0,05$)

Tabela 3.5 - Médias (DP) e medianas (1º e 3º quartis) dos escores de sedação mensurados através da escala analógica visual (EAV; 0 a 10) e dos escores de dor mensurados através da escala de Glasgow modificada (EGM, 0 a 10) em 20 cadelas submetidas à mastectomia antes (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração preempitiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV) ou peridural (grupo MEP)

MOMENTOS										
	BASAL	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas	8 horas	12 horas	24 horas	
EAV	MIV	0,0 (0,0)	4,5 (3,2)	1,2 (1,2)	0,5 (0,7)	0,4 (0,9)	0,8 (1,1)	0,2 (0,5)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
		0,0 (0,0-0,0)	4,9 (1,7-7,2)	1,0 (0,0-2,2)	0,0 (0,0-1,2)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-1,6)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
			*							
	MEP	0,0 (0,0)	5,0 (2,4)	2,6 (2,0)	1,7 (2,2)	0,5 (0,6)	0,4 (0,4)	0,3 (0,4)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)
	0,0 (0,0-0,0)	4,4 (3,2-6,9)	2,0 (1,4-2,4)	1,0 (0,7-1,8)	0,4 (0,0-0,9)	0,3 (0,0-0,8)	0,0 (0,0-0,6)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
		*	*							
EGM	MIV	0,70 (0,59)	2,26 (0,50)	2,97 (0,88)	3,48 (1,39)	3,08 (1,01)	2,35 (0,68)	3,03 (1,04)	2,68 (1,03)	1,62 (1,00)
		0,91 (0,08-1,00)	2,30 (2,00-2,64)	2,65 (2,56-3,46)	3,79 (2,69-4,29)	3,40 (2,48-3,45)	2,33 (2,09-2,96)	3,11 (2,63-3,12)	2,33 (2,32-2,97)	1,76 (1,08-2,31)
			*	*	*	*	*	*	*	*
	MEP	0,43 (0,61)	1,54 (0,81)	1,57 (0,61)	1,31 (0,77)	1,68 (0,78)	1,34 (0,57)	2,28 (1,10)	2,29 (1,13)	1,54 (0,88)
	0,08 (0,08-0,73)	1,31 (0,87-1,97)	1,72 (0,98-1,82)	0,95 (0,87-1,74)	1,76 (0,89-2,13)	0,95 (0,91-1,77)	2,04 (1,75-2,86)	2,05 (1,38-2,94)	1,45 (0,95-1,76)	*
				+	*		*	*	*	*

* Diferença significativa em relação ao Basal (Dunnett, $P < 0,05$).

† Diferença significativa entre grupos (Tukey, $P < 0,05$).

Utilização de analgesia suplementar (resgate analgésico) – Houve necessidade de resgate analgésico em 7 animais do grupo MIV e em 3 animais do grupo MEP; esta diferença entre grupos quanto ao número de animais resgatados no período pós-operatório não atingiu significância ($P = 0,07$). Contudo, o número total de resgates analgésicos foi significativamente maior no grupo MIV (16 resgates) que no grupo MEP (3 resgates) ($P = 0,002$) (Tabela 3.6). Dois, 3, 2 animais do grupo MIV necessitaram de 1, 2 e 4 resgates, respectivamente. No grupo MEP, os 3 animais resgatados necessitaram de apenas 1 resgate. O primeiro resgate nos animais do grupo MIV foi realizado num período mais precoce (3 a 4 horas) que nos animais do grupo MEP (8 a 12 horas) (Tabela 3.6). A probabilidade de não receber resgate ao longo das 24 horas de avaliação pós-operatória foi maior no grupo MEP que no MIV (Figura 3.10).

Como descrito anteriormente, dos 3 animais que apresentaram deslocamento ou posicionamento inadequado do cateter peridural, 1 deles pertencia ao grupo MEP. Neste animal, o cateter peridural se deslocou após 6 horas da aplicação da metadona pré-operatória e, até então, nenhum resgate analgésico havia sido administrado. Em um período subsequente (12 horas) este animal necessitou de suplementação analgésica, a qual foi realizada pela via intravenosa. Devido à interferência do resgate analgésico realizado pela via intravenosa ao invés da via peridural neste animal, os escores de dor, sedação e limiar nociceptivo mecânico obtidos no momento “24 horas” foram removidos da análise estatística. Os animais do grupo MIV foram mantidos no estudo, pois o deslocamento/posicionamento inadequado do cateter peridural não interferiu nos resultados, uma vez que os animais receberam a metadona pela via intravenosa.

Tabela 3.6 - Momentos de aplicação dos resgates analgésicos [tempo após a aplicação da metadona preemptiva pela via intravenosa (MIV) ou peridural (MEP)] e concentração plasmática de metadona no momento dos resgates (concentração mínima efetiva – CME) observados em 20 cadelas submetidas à mastectomia

Animais*	Momentos dos Resgates (CME da metadona)	
	MIV	MEP
1	-	-
2	-	8 horas (5,7 ng/mL)
3	3 horas (29,0 ng/mL)	-
4	3 horas (18,8 ng/mL)	-
	8 horas (9,6 ng/mL)	
	9 horas (38,1 ng/mL)	
	10 horas (68,4 ng/mL)	
5	4 horas (15,8 ng/mL)	-
6	4 horas (20,6 ng/mL)	12 horas (2,6 ng/mL)
	5 horas (45,3 ng/mL)	
7	4 horas (10,8 ng/mL)	-
	12 horas (3,6 ng/mL)	
8	4 horas (10,2 ng/mL)	-
	5 horas (34,0 ng/mL)	
	12 horas (6,1 ng/mL)	
	13 horas (40,7 ng/mL)	
9	-	-
10	4 horas (10,1 ng/mL)	12 horas (2,6 ng/mL)
	8 horas (8,8 ng/mL)	
Nº de animais resgatados	7	3
Nº total de resgates	16	3[†]

* Dez animais diferentes em cada grupo.

† Diferença significativa entre grupos (teste da razão da verossimilhança; $P < 0,05$).

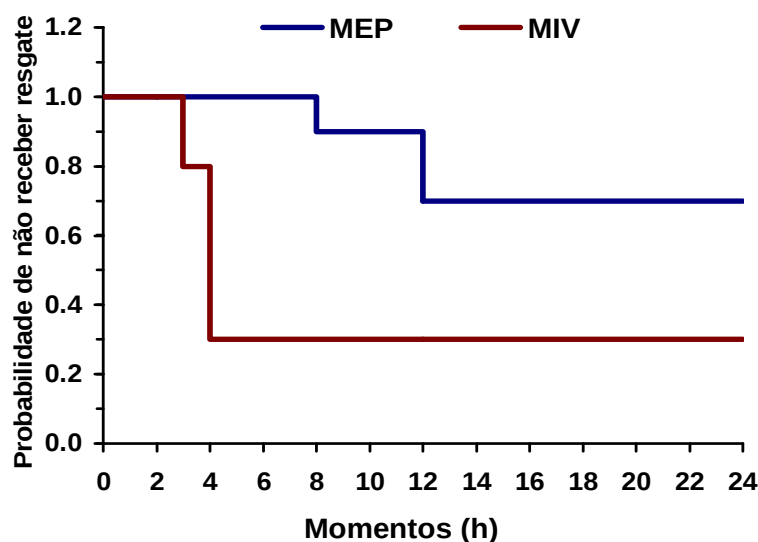


Figura 3.10 - Probabilidade dos animais submetidos à mastectomia não receberem resgate analgésico durante o período pós-operatório após a administração preemptiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV) ou peridural (grupo MEP) (teste de “Logrank”; $P = 0,029$)

Limiares nociceptivos mecânicos na cadeia mamária não operada - Na cadeia mamária não operada, os limiares nociceptivos foram significativamente maiores que o limiar basal das 2 às 12 horas após a administração da metadona em ambos os grupos e em todos os segmentos mamários avaliados, à exceção do limiar do segmento torácico no grupo MIV, o qual se estendeu até as 24 horas. Diferença entre grupos nos limiares da cadeia mamária não operada somente foi observada às 2 horas no segmento inguinal, com o valor médio do grupo MEP significativamente maior que do grupo MIV (Tabela 3.7 e Figura 3.11).

Limiares nociceptivos mecânicos na cadeia mamária operada - No grupo MIV, o limiar nociceptivo da cadeia mamária operada foi significativamente maior que o limiar basal das 2 às 12 horas no segmento inguinal e das 3 às 6 horas no segmento abdominal, sem nenhum efeito no segmento torácico. No grupo MEP, o limiar nociceptivo da cadeia mamária operada foi significativamente maior que o limiar basal das 2 às 12 horas nos segmentos inguinal e abdominal e das 2 às 5 horas no segmento torácico. Diferenças entre grupos nos limiares nociceptivos da cadeia mamária operada foram observadas às 2 e 3 horas em todos os segmentos, com os valores do grupo MEP significativamente maiores que do grupo MIV (Tabela 3.8 e Figura 3.12).

Dos 7 animais resgatados no grupo MIV, aqueles que receberam apenas 1 resgate analgésico (animais 3 e 5) apresentaram elevação do limiar nociceptivo em todos os segmentos da cadeia mamária operada após a metadona intravenosa (diferença entre o limiar antes e após o resgate). No animal 3, a elevação absoluta do LNM (diferença entre os limiares mensurados imediatamente antes e 45 minutos após o resgate) foi de 378 g, 107 g e 339 g nos segmentos torácico, abdominal e inguinal, respectivamente. No animal 5, a elevação absoluta do LNM foi mais evidente no segmento torácico (469 g) que nos segmentos abdominal (101 g) e inguinal (0 g), uma vez que os limiares dos dois últimos segmentos já se encontravam próximos da intensidade máxima de estimulação antes do resgate (800 g). Nos animais do grupo MIV que receberam mais de 1 resgate analgésico, de modo geral, os limiares nociceptivos não apresentaram um padrão de resposta consistente após a metadona intravenosa, ora se elevando ora se reduzindo (Apêndice III.XIV).

Dos 3 animais resgatados do grupo MEP, onde apenas 1 resgate foi necessário, dois deles apresentaram elevação do limiar nociceptivo da cadeia mamária operada a valores iguais à intensidade máxima (800 g) em todos os segmentos mamários após a metadona peridural. Não foi aferido o limiar nociceptivo pós-resgate no terceiro animal resgatado (animal 10), porque o cateter peridural havia se deslocado e a analgesia suplementar com metadona foi realizada pela via intravenosa imediatamente após a coleta de dados das 12 horas (Apêndice III.XIV).

Tabela 3.7 - Médias (DP) e medianas (1º e 3º quartis) dos limiares nociceptivos mecânicos mensurados através do von Frey eletrônico nos segmentos torácico, abdominal e inguinal da cadeia mamária não operada de 20 cadelas submetidas à mastectomia antes (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração preemptiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV) ou peridural (grupo MEP)

MOMENTOS										
	BASAL	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas	8 horas	12 horas	24 horas	
TORÁCICO										
	MIV	267,5 (146,6)	666,1 (187,8)	663,1 (210,0)	680,4 (173,1)	667,5 (216,4)	652,6 (205,2)	653,2 (217,0)	615,7 (187,0)	474,6 (211,1)
		228,0 (160,5-349,2)	783,3 (547,1-800,0)	729,9 (518,7-800,0)	800,0 (582,0-800,0)	800,0 (624,8-800,0)	726,4 (613,9-800,0)	781,7 (551,4-800,0)	620,1 (514,3-800,0)	454,4 (301,7-629,8)
			*	*	*	*	*	*	*	*
MEP										
		281,6 (117,6)	780,7 (60,9)	732,7 (133,5)	732,7 (133,5)	736,0 (139,5)	735,7 (126,5)	666,5 (232,4)	667,9 (247,8)	445,4 (235,0)
		261,9 (223,6-319,1)	800,0 (800,0-800,0)	800,0 (800,0-800,0)	800,0 (766,4-800,0)	800,0 (800,0-800,0)	800,0 (765,1-800,0)	800,0 (608,5-800,0)	800,0 (702,0-800,0)	471,4 (307,5-484,2)
			*	*	*	*	*	*	*	*
ABDOMINAL										
	MIV	221,9 (99,5)	515,9 (257,9)	616,8 (208,3)	574,8 (262,1)	608,0 (223,8)	590,8 (291,3)	536,3 (303,4)	449,2 (253,7)	315,1 (221,1)
		203,2 (136,0-306,2)	426,2 (318,4-800,0)	684,3 (572,2-779,8)	670,8 (401,1-800,0)	643,1 (475,4-800,0)	758,5 (501,5-800,0)	680,5 (252,1-800,0)	334,5 (275,8-674,3)	237,7 (135,4-435,6)
			*	*	*	*	*	*	*	*
MEP										
		297,0 (167,0)	797,7 (7,2)	778,4 (63,1)	747,2 (132,5)	726,7 (163,9)	693,7 (206,8)	636,6 (251,7)	553,7 (259,9)	346,8 (226,2)
		244,8 (201,3-320,7)	800,0 (800,0-800,0)	800,0 (800,0-800,0)	800,0 (800,0-800,0)	800,0 (734,3-800,0)	800,0 (692,8-800,0)	786,4 (517,6-800,0)	667,7 (324,3-783,9)	355,0 (162,9-422,4)
			*	*	*	*	*	*	*	*
INGUINAL										
	MIV	235,6 (151,9)	430,2 (247,1)	539,2 (228,4)	554,4 (233,3)	545,7 (235,3)	622,5 (252,5)	594,6 (247,9)	572,8 (229,9)	342,7 (243,0)
		154,1 (145,9-268,4)	341,7 (262,4-636,6)	469,7 (410,1-777,5)	618,1 (369,3-767,2)	582,5 (489,5-724,4)	769,9 (523,1-800,0)	693,9 (452,4-800,0)	638,5 (461,8-775,6)	230,6 (197,8-386,7)
			*	*	*	*	*	*	*	*
MEP										
		279,7 (178,7)	800,0 (0,0)	757,7 (94,8)	783,1 (53,6)	733,1 (133,9)	702,3 (160,3)	663,9 (243,7)	588,3 (230,8)	382,2 (224,4)
		232,5 (159,2-321,2)	800,0 (800,0-800,0)	800,0 (774,7-800,0)	800,0 (800,0-800,0)	781,4 (740,3-800,0)	777,3 (704,8-800,0)	800 (682,7-800,0)	687,3 (405,8-783,6)	344,0 (272,6-530,5)
			+	*	*	*	*	*	*	*

* Diferença significativa em relação ao Basal (Dunnett, *P* < 0,05).

† Diferença significativa entre grupos (Tukey, *P* < 0,05).

Tabela 3.8 - Médias (DP) e medianas (1º e 3º quartis) dos limiares nociceptivos mecânicos mensurados através do von Frey eletrônico nos segmentos torácico, abdominal e inguinal da cadeia mamária operada de 20 cadelas submetidas à mastectomia antes (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração pré-operatória de metadona pela via intravenosa (grupo MIV) ou peridural (grupo MEP)

		MOMENTOS								
BASAL		2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas	8 horas	12 horas	24 horas	
TORÁCICO	MIV	294,5 (135,6)	409,6 (209,7)	316,4 (217,3)	394,2 (206,1)	439,0 (194,8)	408,4 (212,2)	395,6 (223,8)	376,7 (278,9)	243,3 (183,0)
	MEP	262,8 (194,1-434,2)	393,7 (274,3-538,1)	291,7 (156,9-405,2)	386,0 (248,1-540,5)	352,0 (332,0-573,8)	393,6 (244,4-522,0)	371,5 (281,8-512,6)	307,8 (230,8-560,0)	234,5 (100,0-333,2)
ABDOMINAL	MIV	191,8 (91,3)	394,5 (221,4)	329,0 (209,7)	420,1 (259,7)	402,1 (288,5)	530,1 (292,0)	397,5 (287,6)	383,2 (308,4)	220,4 (158,8)
	MEP	172,6 (125,7-234,7)	370,4 (223,2-546,5)	281,8 (205,7-359,4)	407,1 (208,9-655,8)	420,2 (120,6-627,5)	635,2 (299,9-790,6)	291,4 (196,1-659,1)	245,8 (147,8-718,7)	197,5 (90,7-331,5)
INGUINAL	MIV	211,4 (129,9)	455,5 (211,4)	440,5 (230,7)	558,5 (258,6)	499,5 (274,2)	608,2 (250,6)	511,2 (309,0)	489,3 (267,1)	324,0 (247,3)
	MEP	167,2 (116,2-280,6)	472,4 (266,6-583,3)	403,2 (262,1-550,0)	621,6 (445,3-786,2)	573,4 (211-721,4)	775,4 (426,7-800,0)	558,0 (248,1-800,0)	436,5 (342,7-767,4)	237,6 (188,0-382,7)
	MIV	273,7 (165,9)	800,0 (0,0)	784,2 (50,1)	800,0 (0,0)	730,8 (140,4)	734,2 (107,9)	645,3 (225,2)	628,6 (190,7)	444,1 (202,4)
	MEP	234,8 (151,6-283,9)	800,0 (800,0-800,0)	800,0 (800,0-800,0)	800,0 (800,0-800,0)	800,0 (777,2-800,0)	800,0 (663,9-800,0)	800 (474,0-800,0)	673,9 (514,8-800,0)	501,9 (280,8-597,6)

* Diferença significativa em relação ao Basal (Dunnett, $P < 0,05$).
† Diferença significativa entre grupos (Tukey, $P < 0,05$).

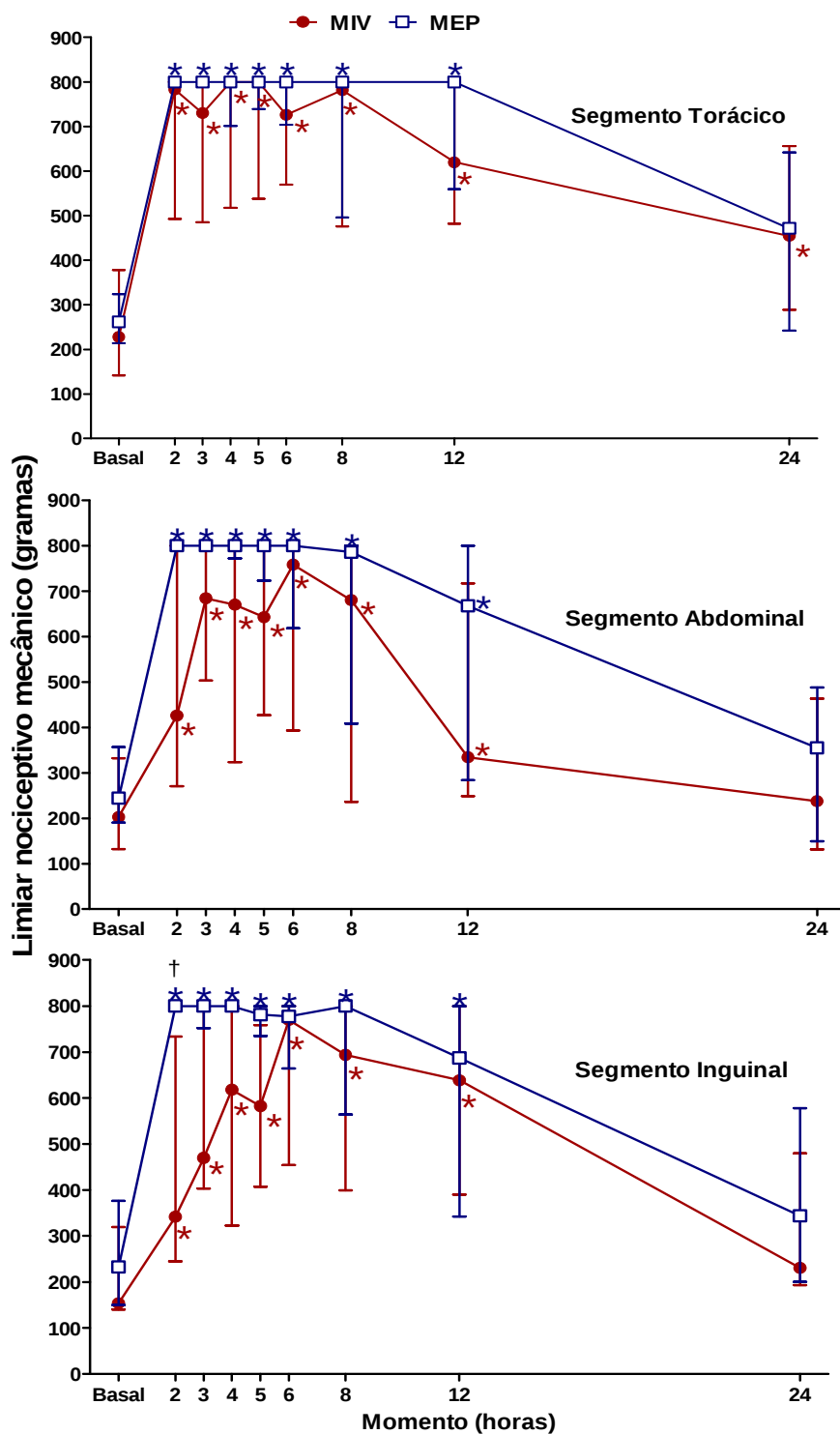


Figura 3.11 - Mediana (1º e 3º quartis) dos limiares nociceptivos mecânicos mensurados em três segmentos da cadeia mamária não operada (torácico, abdominal e inguinal) de 20 cadelas submetidas à mastectomia radical unilateral antes (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração preemptiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV) ou peridural (grupo MEP). * Diferença significativa em relação ao basal (Dunnett, $P < 0,05$). † Diferença significativa entre grupos (Tukey, $P < 0,05$)

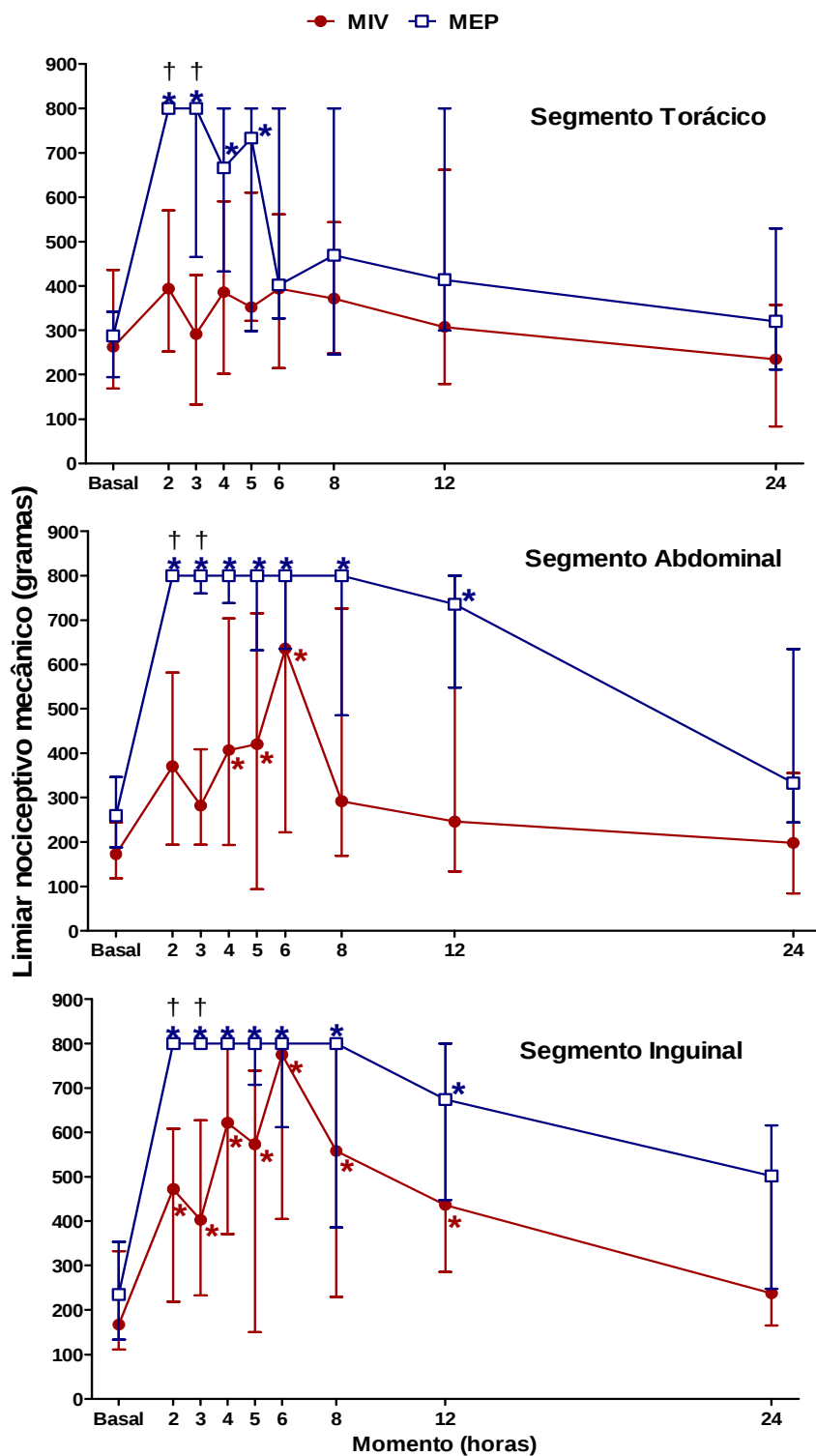


Figura 3.12 - Mediana (1º e 3º quartis) dos limiares nociceptivos mecânicos mensurados em três segmentos da cadeia mamária operada (torácico, abdominal e inguinal) de 20 cadelas submetidas à mastectomia radical unilateral antes (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração preemptiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV) ou peridural (grupo MEP). * Diferença significativa em relação ao basal (Dunnett, $P < 0,05$). † Diferença significativa entre grupos (Tukey, $P < 0,05$)

Concentrações plasmáticas de metadona – Os valores médios de concentrações plasmáticas de metadona tenderam a ser mais elevados no grupo MIV que no grupo MEP ao longo das 12 horas de avaliação (momentos pré-determinados), com diferença estatisticamente significativa detectada 1 hora após a administração do opióide (Figura 3.13). A área sob a curva da concentração plasmática de metadona *versus* tempo ($ASC_{1h \rightarrow 12h}$), por sua vez, foi significativamente maior no grupo MIV (média $\pm$ DP = 222 ± 94 ng/mL.h) que no grupo MEP (124 ± 36 ng/mL.h) ($P = 0,006$).

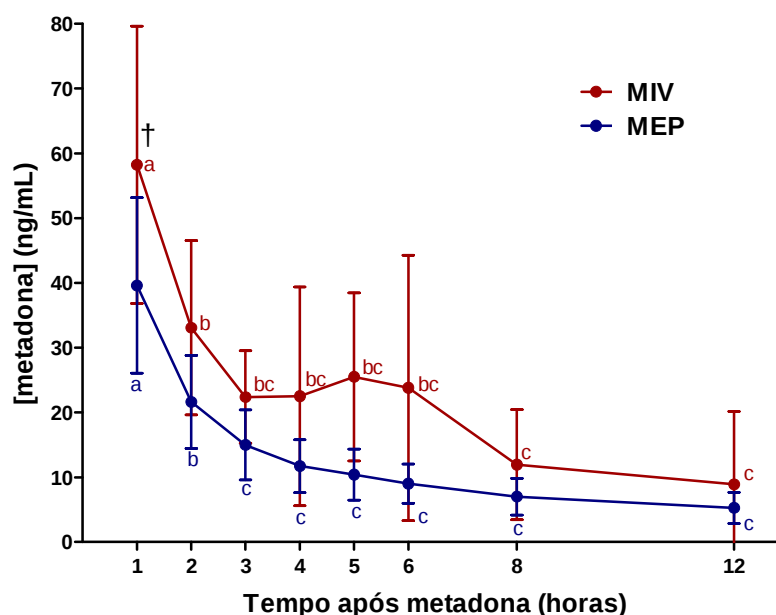


Figura 3.13 - Concentrações plasmáticas de metadona (médias e desvios padrão) mensuradas após a administração preemptiva de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (grupo MIV, $n = 10$) ou peridural (grupo MEP, $n = 10$) em cadelas submetidas à mastectomia. Devido à dor clinicamente inaceitável, resgates analgésicos de metadona (0,25 mg/kg) foram administrados pela mesma via da dose preemptiva a partir de 3-4 horas em 7 animais do grupo MIV (total de 16 resgates) e a partir de 8-12 horas em 3 animais do grupo MEP (total de 3 resgates). A metadona preemptiva foi administrada durante a anestesia com isoflurano, antes do início da cirurgia. As concentrações plasmáticas mensuradas após 1 hora da sua administração foram obtidas durante a anestesia geral, sendo que as mensurações subsequentes (a partir de 2 horas) foram obtidas após a recuperação dos animais da anestesia geral em ambos os grupos.

Letras distintas: diferença significativa entre momentos de cada grupo (Tukey, $P < 0,05$).

† Diferença significativa entre grupos (Tukey, $P < 0,05$)

Concentrações mínimas efetivas de metadona (CME) – Os valores individuais de CME, obtidos de acordo com os momentos dos resgates analgésicos, estão apresentados na Tabela 3.6. Dos 7 animais do grupo MIV que receberam analgesia

suplementar devido a escores de dor $\geq 3,5$ entre 3 e 4 horas do período pós-operatório, a CME da metadona no plasma, mensurada imediatamente antes da administração do 1º resgate analgésico foi de 15,8 (10,8 – 20,6) ng/mL [mediana (1º e 3º quartis)] (Figura 3.14). O valor de CME do grupo MIV, considerando as concentrações plasmáticas de metadona mensuradas antes de todos os resgates analgésicos, inclusive as mensuradas antes dos resgates adicionais (realizadas em momentos extras), foi de 17,3 (9,7 - 37,1) ng/mL (Figura 3.14). Os valores de CME do grupo MIV, independentemente da sua forma de cálculo (1º resgate ou todos os resgates analgésicos), foram significativamente maiores que os valores de CME do grupo MEP, obtidos após 8-12 horas da administração peridural da metadona [3,6 (2,6 – 5,7) ng/mL] (Figura 3.14).

Nos 5 animais do grupo MIV que necessitaram de mais de um resgate analgésico, a média $\pm$ desvio padrão dos coeficientes de variação (CV) dos valores de CME obtidos num mesmo animal foi de $57 \pm 28\%$.

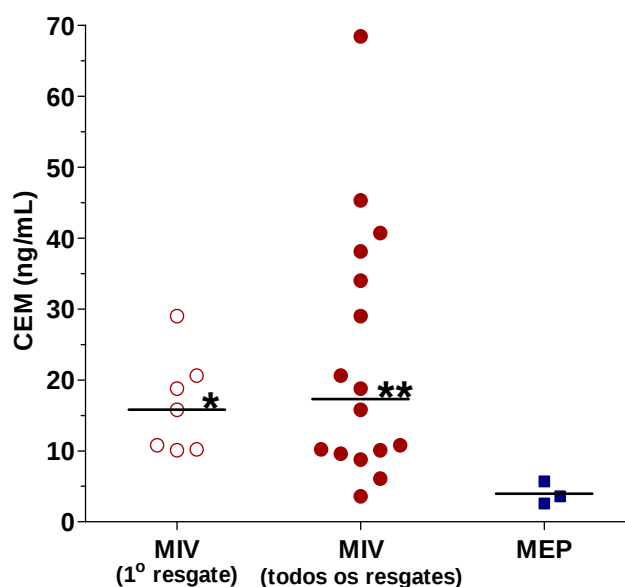


Figura 3.14 - Gráficos de dispersão da concentração mínima efetiva (CME, ng/mL) da metadona no plasma mensurada imediatamente antes da administração do resgate analgésico com metadona (0,25 mg/kg pela mesma via utilizada anteriormente) em cadelas submetidas à mastectomia pré-tratadas com 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (grupo MIV) ou peridural (grupo MEP).
Círculos abertos: Valores de CME mensurados imediatamente antes do 1º resgate analgésico no grupo MIV (n = 7, total de 7 resgates).
Círculos fechados: Valores de CME mensurados imediatamente antes de todos os resgates analgésicos no grupo MIV (n = 7 animais, total de 16 resgates).
Quadrados: Valores de CME mensurados imediatamente antes do único resgate analgésico no grupo MEP (n = 3, total de 3 resgates). * / ** Diferença significativa entre os grupos MIV e MEP (Mann Whitney, * $P = 0,017$; ** $P = 0,014$)

Efeitos adversos no pós-operatório - Os principais efeitos adversos observados durante o período pós-operatório, bem como sua incidência, estão apresentados na Tabela 3.9.

Um número significativamente maior de animais do grupo MEP (9 animais) apresentou ataxia em membros pélvicos no período pós-operatório que do grupo MIV (2 animais). A ataxia no grupo MEP perdurou por até 5 horas da administração da metadona peridural em 5 casos e por 2 e 3 horas nos 4 animais restantes. No grupo MIV, 1 animal apresentou ataxia somente 2 horas após a administração da metadona (primeiro momento de avaliação pós-operatória) e o outro por até 3 horas.

Todos os animais do grupo MIV apresentaram salivação moderada a intensa após o término da anestesia; em 5 deles, a salivação perdurou por até 5 horas da administração da metadona. No grupo MEP, a salivação foi observada em 4 animais; em dois deles perdurou por até 4 horas e nos outros dois somente na primeira hora do pós-operatório.

Durante o período de 24 horas de avaliação pós-operatória, a maioria dos animais de ambos os grupos defecou em algum momento (9 e 7 animais do grupo MIV e MEP, respectivamente). A defecação foi um evento mais precoce no grupo MIV (minutos após a extubação/antes da avaliação das 2 horas pós-metadona) que no grupo MEP (exceto 1 animal, os demais defecaram após 3 horas da metadona). Episódios de defecação acompanhada por aparente desconforto (após a defecação, o animal se mantinha em posição de defecação, apresentando esforços improdutivos) foram observados em 6 animais do grupo MIV e em 1 animal do grupo MEP.

Agitação e vocalização foram observadas em 6 animais do grupo MIV imediatamente após a extubação. No grupo MEP, embora nenhum animal tenha se mostrado agitado, dois deles vocalizaram após a extubação. Vômito durante as 24 horas de avaliação foi um evento pouco freqüente em ambos os grupos.

Tabela 3.9 - Incidência de efeitos adversos observados no período pós-operatório de 20 cadelas submetidas à mastectomia e tratadas com metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10)

	GRUPOS		<i>P</i>
	MIV	MEP	
Ataxia	2/10	9/10	0,006
Salivação	10/10	4/10	0,01
Defecação associada a desconforto	6/9	1/7	0,06
Agitação e/ou vocalização pós-extubação	6/10	2/10	0,17
Vômito	2/10	0/10	0,47

Valores de *P* pelo teste exato de Fisher.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que a dose de 0,5 mg/kg de metadona peridural resulta em analgesia pós-operatória mais efetiva e prolongada que a proporcionada pela mesma dose de metadona intravenosa em cadelas submetidas à mastectomia. Na maioria dos cães tratados com metadona intravenosa, a analgesia foi de duração moderada (até 3-4 horas em 70% dos animais), estando este tempo de acordo com a literatura (Thurmon et al., 1996a; Hall et al., 2001). Em contraste, a administração preemptiva da metadona pela via peridural aboliu a necessidade de resgate analgésico durante as 24 horas subseqüentes na maioria dos animais (70% das cadelas). Nas cadelas que necessitaram de suplementação analgésica no período pós-operatório (30% dos animais), a analgesia promovida pela metadona peridural preemptiva perdurou por no mínimo 8 horas. Apesar de não se observarem vantagens óbvias com o uso da metadona pela via peridural em relação à via intravenosa no que se refere à potencialização do isoflurano, a analgesia prolongada proporcionada pela via peridural, associada à ausência de efeitos adversos de grande importância clínica, tornam a administração peridural deste opióide uma alternativa vantajosa em relação a seu emprego intravenoso.

No presente estudo, optou-se pelo emprego de doses idênticas de metadona (0,5 mg/kg) tanto pela via peridural como intravenosa. Embora a administração de opióides pela via peridural possa resultar em redução da dose empregada pela via sistêmica devido à potencialização da ação analgésica, o emprego de doses relativamente baixas pela via espinhal parece ser possível somente com opióides pouco lipossolúveis como a morfina (Valverde, 2008). A efetividade da analgesia produzida pela morfina peridural em dose menores (0,1 mg/kg) que a dose sistêmica (0,3 a 1,0 mg/kg em cães) (Day et al., 1995; Kukanich et al., 2005c), pode estar relacionada a sua maior biodisponibilidade junto aos receptores opióides localizados no corno dorsal da medula espinhal, a qual é favorecida pela sua persistência/acúmulo no líquido e baixa tendência a se desviar para a gordura peridural e/ou circulação sistêmica (Sjöström et al., 1987; Bernards et al., 2003; George, 2006; Valverde, 2008). Por outro lado, quando opióides de elevada lipossolubilidade são administrados pela via intratecal ou peridural, o seu pequeno acúmulo no líquido associado ao maior desvio para a gordura peridural e circulação

sistêmica podem favorecer a diminuição da biodisponibilidade junto ao corno dorsal da medula espinhal (Ummenhofer et al., 2000; Bernards, 2004; Valverde, 2008; *Capítulo 1*). Portanto, para que haja maior biodisponibilidade espinhal (proximidade aos receptores-alvo) e maior efeito analgésico, opióides lipossolúveis como a metadona necessitam ser administrados pela via intratecal ou peridural em doses próximas as doses empregadas pela via sistêmica (Ex: via intravenosa).

Embora a administração preemptiva da metadona pela via peridural tenha resultado em efeito analgésico mais eficaz e prolongado que pela via intravenosa, os valores médios de ET_{ISO} necessários para manutenção do plano anestésico-cirúrgico foram semelhantes independentemente da via de administração. Em cães submetidos a cirurgias para reparação de ruptura de ligamento cruzado, a metadona peridural (0,3 mg/kg) promoveu maior redução no requerimento de isoflurano que a que a mesma dose de metadona intravenosa somente nos procedimentos cirúrgicos de duração mais prolongada (> 2 horas) (Leibetseder et al., 2006). Nos procedimentos de menor duração (< 2 horas), os efeitos da metadona intravenosa e peridural, assim como no presente estudo, foram similares (Leibetseder et al., 2006). Resultados semelhantes também foram obtidos no estudo prévio (*Capítulo 2*), onde a redução da CAM_{ISO} promovida pela metadona intravenosa e peridural foi similar numa fase inicial (30% de redução às 2,5 horas). Como as cirurgias foram concluídas aproximadamente 1,5 horas após a aplicação da metadona no presente estudo, a ausência de diferenças entre os grupos ratifica a postulação de que não há vantagem em se empregar a metadona pela via peridural para promover maior redução do requerimento de anestésico inalatório em procedimentos de curta duração (Leibetseder et al., 2006; *Capítulo 2*).

O efeito cronotrópico negativo induzido pela metadona foi observado durante o período intra-operatório de ambos os grupos, muito embora a FC tenha se mantido mais elevada após a metadona peridural. A manutenção da FC em níveis mais elevados no grupo MEP pode ter contribuído para os valores de PAM mais elevados que os observados no grupo MIV. Estes resultados corroboram com os observados por Leibetseder et al. (2006), onde a metadona peridural (0,3 mg/kg) resultou em valores de FC mais elevados que a mesma dose de metadona intravenosa em cães submetidos à cirurgia ortopédica em membro pélvico de duração inferior à 2 horas.

Por outro lado, o efeito cronotrópico da metadona peridural ou intravenosa foi similar após um período superior a 2 horas de sua administração (Leibetseder et al., 2006; *Capítulo 2*). Esta influência temporal na FC, no entanto, é explicada pela menor exposição sistêmica à metadona (concentrações plasmáticas de metadona inferiores) após sua administração pela via peridural numa fase inicial (primeiros 30 minutos) (*Capítulo 1*). Este fato pode estar principalmente relacionado ao caráter lipossolúvel da metadona (Kaufman et al., 1975; Di Francesco & Bickel, 1985; Plummer et al., 1990), que favorece seu acúmulo no tecido gorduroso do espaço peridural e de estruturas adjacentes (medula e raízes nervosas), retardando sua absorção do espaço peridural para a circulação sistêmica (Bernards, 2004; Valverde, 2008; *Capítulo 1*; *Capítulo 2*). No presente estudo, as mensurações de FC foram realizadas até 1,5 horas da administração da metadona (término da anestesia); período onde o efeito cronotrópico negativo da metadona peridural é menos pronunciado que o da metadona intravenosa (Leibetseder et al., 2006).

Todas as cirurgias foram iniciadas entre 30 e 45 minutos após a administração da metadona. Embora existam poucas informações quanto aos aspectos temporais da analgesia deste opióide em cães, no homem, o pico máximo do efeito analgésico da metadona intravenosa ou peridural parece ocorrer em no máximo 30 minutos (Welch & Hrynaskiewicz, 1981; Villalonga et al., 1989; Mugabure et al., 2005; Shaiova et al., 2008). De fato, no presente estudo, o efeito analgésico dos resgates realizados no período pós-operatório com metadona intravenosa ou peridural foi perceptível após 15 a 30 minutos de sua aplicação. Desta forma, acredita-se que o início da cirurgia coincidiu com o pico de efeito da metadona em ambos os grupos. Este aspecto é fundamental dentro do conceito da “analgesia preemptiva”. Em um estudo em cães submetidos à cirurgia ortopédica, a ineficácia da administração preemptiva de morfina peridural foi possivelmente atribuída ao início muito precoce da estimulação nociceptiva (Kona-Boun et al., 2006).

Para a comparação do efeito analgésico promovido pela metadona peridural ou intravenosa em cadelas submetidas à mastectomia, bem como para a avaliação da necessidade de suplementação analgésica durante o período pós-operatório, utilizou-se a versão modificada (Murrel et al., 2008) da escala desenvolvida na

Universidade de Glasgow por Morton et al. (2005). Embora outras escalas apresentem categorias comportamentais similares, como as escalas das Universidades do Colorado e Melbourne (Hellyer & Gaynor, 1998; Firth & Haldane, 1999), a escala de Glasgow tem como diferencial a não inclusão da FC e *f* em sua composição, uma vez que tais variáveis não demonstraram forte correlação com a dor em animais hospitalizados (Conzemius et al., 1997; Holton et al., 1998). Além disso, durante o desenvolvimento da escala de Glasgow, princípios psicométricos foram utilizados para determinar a importância relativa de cada característica comportamental e ajustar seu peso no escore de dor final (Morton et al., 2005). A escala de Glasgow também é a única escala para uso em cães que, após ser traduzida do idioma original (inglês) para outro idioma (holandês), se mostrou sensível na diferenciação de diversos níveis de dor (Murrell et al., 2008). A validação de uma escala em outros idiomas é um requisito importante para seu uso universal, pois as barreiras linguísticas podem interferir na sua interpretação e prejudicar a reprodutibilidade dos resultados obtidos no idioma original (Murrell et al., 2008; Van Seventer et al., 2010).

No presente estudo, os escores de dor basais reduzidos e similares em ambos os grupos [medianas de 0,91 (grupo MIV) e 0,08 (grupo MEP)] certificam a homogeneidade das amostras populacionais no que se refere às condições pré-operatórias. À exceção de 2 animais (escore 1,78), sendo 1 de cada grupo, os demais animais avaliados apresentaram escores basais muito próximos ou inferiores à 1. Estes escores basais, obtidos em cadelas com tumor(es) mamário(s), foram semelhantes aos mensurados em animais hígidos não submetidos à cirurgia (escore mediano de 0,9) no estudo de Morton et al. (2005). De acordo com Murrell et al. (2008), escores inferiores à 1 corresponderam a ausência de dor pela escala descritiva simples em cães submetidos à cirurgia ortopédica ou de tecidos moles.

Escore de dor maiores ou iguais a 3,5 (35% da pontuação total) determinaram a necessidade de suplementação analgésica no presente estudo. Através do número total de resgates analgésicos (16 no grupo MIV *versus* 3 no grupo MEP) e do intervalo para sua administração (3-4 horas no grupo MIV *versus* 8-12 horas no grupo MEP), verificou-se que esse limiar adotado ($\geq 3,5$) foi adequado para diferenciar a eficácia e duração da analgesia promovidas pela metadona

intravenosa ou peridural. Em estudos empregando diferentes escalas para a avaliação da dor pós-operatória (Kona-Boun et al., 2006; Leibetseder et al., 2006; Marucio et al., 2008; Brondani et al., 2009), resgates analgésicos foram realizados quando pontuações maiores que 30 a 35% do valor máximo da escala foram atingidas. Com a escala de Glasgow modificada, Murrell et al (2008) observaram que estados de dor subjetivamente classificados como discretos e moderados foram associados a escores medianos de, aproximadamente, 3 e 5, respectivamente. A pontuação de 3,5, portanto, pode representar a transição da dor leve para dor moderada, o que justifica, por sua vez, a suplementação analgésica.

Como alguns animais podem não exteriorizar a sua experiência dolorosa por meio de alterações comportamentais (Short, 1998), em associação à avaliação da dor através da escala de Glasgow, mensurou-se o limiar nociceptivo mecânico (LNM) com o von Frey eletrônico. Durante a mensuração do LNM, observou-se que as respostas aversivas apresentadas pelos animais em resposta à estimulação mecânica visavam a proteção da área afetada (no caso, a cadeia mamária). A resposta aversiva mais comum no momento basal (antes da cirurgia) foi o ato de levantar a cabeça (como tentativa olhar a área estimulada) e flexão de membro pélvico (como se quisesse afastar/retirar o estímulo agressor). Assim como no momento basal do presente estudo, Kukanich et al. (2005) também observaram respostas que caracterizaram dor fisiológica (movimentos ativos de retirada do membro estimulado e, raramente, vocalização) em cães submetidos a estímulos com o von Frey eletrônico em diferentes regiões não lesionadas. Por outro lado, após a cirurgia, a estimulação mecânica de áreas lesionadas (cadeia mamária operada) ou não (cadeia mamária não operada) foi acompanhada por respostas mais complexas, como adoção brusca de decúbito quadrupedal (resposta de fuga) ou por respostas similares às observadas no momento basal, porém mais intensas e acompanhadas por vocalização. Esta intensificação da resposta frente à estimulação sugere a ocorrência hiperalgesia (dor patológica) (Short, 1998; Gaynor, 2002). A imobilidade associada ao fechamento das pálpebras não foi considerada resposta positiva ao estímulo. Entretanto, em alguns animais, este tipo de comportamento foi observado imediatamente antes de uma resposta intensa ou complexa. De acordo com os valores de LNM individuais (Apêndice III.VI e III.VII) nota-se que a metadona peridural preemptiva promoveu efeito anti-hiperalgésico mais eficaz que a metadona

intravenosa. No grupo MEP, ausência de resposta ao estímulo mecânico máximo (LNM igual a 800 gramas) foi consistentemente observada durante as primeiras 8 horas pós-metadona na maioria dos animais (momento em que nenhum resgate analgésico foi administrado).

Por outro lado, na análise dos resultados das amostras populacionais, a superioridade da analgesia produzida pela metadona peridural em relação à metadona intravenosa foi evidente por um período relativamente curto, tanto nos escores de dor pontuados na escala de Glasgow (somente às 4 horas) como nos LNM mensurados com o von Frey na cadeia mamária operada (às 2 e 3 horas). A administração de analgesia suplementar a partir de 3 e 4 horas em 7/10 cães do grupo MIV, provavelmente, contribuiu para que as diferenças entre os grupos fossem minimizadas em ambos os parâmetros.

No presente estudo, a avaliação da dor por meio da EGM não foi realizada em 5 animais dos grupos MIV após 2 horas e em 4, 2 e 1 animais do grupo MEP após 2, 3 e 4 horas, respectivamente, da administração preemptiva do opióide. Os escores de dor destes animais foram excluídos da análise estatística devido a interferência de estados de sedação clinicamente importantes (EAV maior ou igual a 5 cm, numa escala de 0 a 10 cm) sobre a pontuação total. No entanto, o número reduzido de pontuações da EGM, principalmente às 2 horas, pode ter diminuído o poder estatístico do teste empregado para detectar diferenças entre os grupos. Estados de sedação/hipnose, os quais não são necessariamente associados à analgesia, podem interferir na quantificação da dor quando métodos de avaliação baseados em alterações comportamentais são empregados (Short 1998; Kukanich et al., 2005c). A metadona pode induzir tanto sedação como analgesia em cães (Leibetseder et al., 2006; Monteiro et al., 2008; Maiante et al., 2009) e, neste caso, pode ser difícil identificar se o conforto (baixos escores de dor) de um animal no período pós-operatório imediato é atribuído à sua ação analgésica ou à sua ação depressora central (sedação). Além da metadona, o efeito residual dos fármacos utilizados para produzir anestesia geral (propofol e isoflurano) no presente estudo pode ter contribuído para a sedação observada durante os dois primeiros momentos de avaliação pós-operatória (2 e 3 horas).

No período pós-operatório inicial (2-3 horas após a metadona preemptiva) a intensidade da dor pós-operatória avaliada pela EGM não diferiu entre grupos, provavelmente, devido à interferência da sedação / menor número de pontuações nesta fase. Por outro lado, a intensidade da dor pós-operatória avaliada pelo von Frey eletrônico foi capaz de detectar diferenças entre grupos neste mesmo período, com a via peridural resultando em analgesia superior em relação a via intravenosa (maior elevação do LNM as 2 e 3 horas) em todos os segmentos da cadeia mamária operada. Estes resultados estão em concordância com estudo prévio, onde a mensuração do LNM com o von Frey eletrônico foi eficaz em discriminar o efeito antinociceptivo e sedativo da morfina (Kukanich et al., 2005c).

Com base nos valores de LNM na cadeia mamária operada, observou-se que a ação analgésica da metadona peridural atingiu tanto dermatômeros mais craniais (segmento torácico) quanto caudais (segmento abdominal e inguinal). No entanto, a menor duração da analgesia (elevação do LNM em relação aos valores basais) no segmento torácico da cadeia mamária operada sugere que os segmentos somáticos mais caudais foram expostos a maiores concentrações do opióide, reforçando a hipótese do efeito analgésico espinhal segmentar da metadona peridural (Tung & Yaksh, 1982). A abrangência segmentar da analgesia promovida pela metadona peridural pode ser influenciada pelo local de aplicação, dose e volume injetado no espaço peridural. Em felinos domésticos, a administração peridural de doses relativamente elevadas de metadona (dose total de 1 ou 2 mg) pela via peridural entre a 6ª e 7ª vértebras lombares resultou em elevação do limiar nociceptivo térmico tanto na região torácica como na região lombar, sem, no entanto, produzir analgesia na região da cabeça (Tung & Yaksh, 1982). No presente estudo, a analgesia promovida pela metadona peridural - empregada em dose mais elevada que a preconizada pela literatura (0,5 mg/kg ao invés de 0,3 mg/kg) (Leibetseder et al., 2006), diluída em 0,25 mL/kg com salina e aplicada nas proximidades da 4ª vértebra lombar (posição da extremidade distal do cateter peridural) – foi eficaz em abranger toda a região compreendida entre as mamas inguinais e torácicas.

Contrastando com a ação analgésica difusa da metadona peridural, a analgesia promovida pela metadona intravenosa na cadeia mamária operada foi restrita aos segmentos abdominal e inguinal (não houve elevação do LNM em

relação ao limiar basal no segmento torácico). A falta de ação analgésica da metadona intravenosa na cadeia mamária torácica operada pode estar relacionada a fatores cirúrgicos, pois o LNM se elevou na cadeia torácica não operada após a metadona intravenosa. A maior tensão da linha de sutura da região torácica após a remoção da cadeia mamária pode ter resultado em maior intensidade de dor que nas regiões abdominal e inguinal, resultando em uma ineficácia analgésica relativa da metadona intravenosa neste segmento.

A concentração mínima efetiva (CME) corresponde à maior concentração plasmática do opióide associada à analgesia insatisfatória. Desta forma, considera-se que o alívio da dor poderia ser obtido com concentrações plasmáticas superiores à CME (Gourlay et al., 1982, Gourlay et al., 1994). No presente estudo, a CME da metadona intravenosa [medianas: 15,8 ng/mL (CME no 1º resgate) e 17,3 ng/mL (CME em todos os resgates)] foi significativamente maior que a CME observada com a metadona peridural (mediana: 3,6 ng/mL), sugerindo que a última via de administração resulta em maior potência analgésica. No entanto, a interpretação dos resultados de CME obtidos com a metadona peridural pode ser limitada pelo fato da concentração plasmática não representar necessariamente uma aproximação adequada da concentração opióide na biofase (*“compartimento hipotético que faz referência ao espaço que contém os receptores ou que está interposto entre os receptores e o fluido extracelular”*) (Csajka & Verotta, 2006). Opióides de característica lipossolúvel, como a metadona, quando administrados pela via peridural, podem se acumular na substância branca da medula espinhal e em raízes nervosas. Embora este compartimento não possa ser considerado a biofase, pois não é nele que estão presentes os receptores-alvo, este pode funcionar como um sítio de liberação lenta de opióide (depósito), permitindo que o mesmo tenha acesso gradual aos receptores localizados na substância cinzenta do corno dorsal, sem que seja necessário o estabelecimento de um equilíbrio prévio com a circulação sistêmica (Bernards, 2004).

As concentrações plasmáticas de metadona associadas à analgesia insatisfatória nas cadelas do presente estudo foram aparentemente menores que os valores de CME da metadona reportados em humanos (20-80 ng/mL) (Gourlay et al., 1982; Gourlay et al., 1984; Gourlay et al., 1986). Nas cadelas tratadas com

metadona intravenosa, as concentrações plasmáticas do opióide decaíram abaixo dos valores de CME a partir de 3-4 horas. Em seres humanos, o decréscimo da concentração plasmática a valores inferiores à CME ocorre a partir de 18 horas da administração de dose única do opióide (Gourlay et al., 1982). O intervalo mais estreito entre a administração da metadona intravenosa e a observação da CME em cães pode ser explicado pela meia-vida de eliminação da metadona mais curta na espécie canina (1,5 a 3,9 horas) que no homem (18 a 35 horas) (Gourlay et al., 1982; Dale et al., 2002; Eap et al., 2002; Dale et al., 2004; Kukanich et al., 2005a; Kukanich & Borum, 2008; Ingvast-Larson et al., 2010).

Nos animais do grupo MIV que receberam mais de um resgate analgésico ao longo do período pós-operatório, observou-se grande variabilidade individual nos valores de CME ($CV = 57 \pm 28\%$). Esta variabilidade na CME da metadona é substancialmente maior que a variabilidade intra-individual reportada em humanos para o mesmo opióide ($CV = 20\%$) (Gourlay et al., 1984; Gourlay et al., 1986). Isto sugere que pode não ser possível estabelecer um nível plasmático de metadona condizente com o controle efetivo da dor em cães.

É interessante notar que, quando houve a administração de resgates analgésicos seqüenciais em intervalos aproximados de 45 minutos, os valores de CME subsequentemente mensurados em um único indivíduo sempre foram maiores que os valores obtidos no momento anterior (em média 260% maiores). A elevação substancial dos valores de CME com reaplicações sucessivas de metadona intravenosa sugere que o intervalo de tempo entre administração do resgate analgésico e a reavaliação subsequente da dor pode não ter sido suficiente para o estabelecimento do equilíbrio entre a concentração plasmática da metadona e sua concentração na biofase. No estudo prévio (*Capítulo 1*), a fase de distribuição da metadona intravenosa em cães perdurou por até 1 hora.

Outra possível explicação para a variabilidade da CME individual no grupo MIV seria a variação na intensidade da dor (e consequentemente na demanda por analgésico) ao longo do tempo. Diante da dor de maior intensidade, doses / concentrações plasmáticas mais elevadas de analgésicos podem ser necessárias para o controle efetivo da dor nas primeiras horas do período pós-operatório. Porém, à medida que a intensidade da dor se reduz com a progressão do tempo, tal objetivo

pode ser alcançado com doses / concentrações plasmáticas menores do analgésico. Este fenômeno pode ter ocorrido em 1 animal, o qual apresentou valor de CME notadamente menor às 12 horas (3,6 ng/mL) do que no momento do primeiro resgate analgésico realizado às 4 horas (10,8 ng/mL).

A incidência de complicações clinicamente importantes relacionadas à cateterização peridural foi nula, apesar da pequena amostra populacional. Houve apenas deslocamento total do cateter em 1 animal de cada grupo, impedindo a confirmação radiográfica do seu posicionamento. No grupo MEP, o animal utilizou os dentes para retirar o cateter em um breve momento em que não estava sendo monitorado. No animal do grupo MIV, o fato dele apresentar grande mobilidade na pele da região lombo-sacra pode ter favorecido o deslocamento do cateter. Nos animais onde foi possível a confirmação radiográfica, a falha na introdução do cateter parece ter ocorrido em somente 1 animal do grupo MIV. Neste animal, o peso acima do ideal dificultou a orientação anatômica e a punção foi, acidentalmente, paravertebral. No entanto, a punção paravertebral não influenciou os resultados, uma vez que este animal foi coincidentemente alocado para receber a metadona pela via intravenosa.

No presente estudo, observou-se que 60% e 20% dos animais tratados com metadona intravenosa e peridural, respectivamente, apresentaram agitação e vocalização após a remoção da sonda endotraqueal. Embora a metadona se caracterize por produzir efeito sedativo em cães (Monteiro et al., 2008, Maiante et al., 2009), este opióide também pode induzir reações excitatórias e vocalização, cuja incidência pode ser variável dependendo da população animal (Garofalo, 2010).

A via intravenosa foi associada à incidência significativamente maior de salivação (grupo MIV: 100% *versus* grupo MEP: 40%). A salivação pode ser atribuída à ação parassimpatomimética de opióides como a metadona. A incidência de salivação reportada no presente estudo foi maior que a reportada para a metadona em cães não submetidos a procedimentos cirúrgicos (Maiante et al., 2009). Nos animais tratados com metadona pela via intravenosa, também houve uma maior tendência a se observar desconforto durante o ato de defecação (grupo MIV: 60% *versus* grupo MEP: 10%, $P = 0,06$). Os opióides agonistas μ podem estimular a contração da musculatura lisa intestinal resultando, inicialmente, em

defecação (Kurz & Sessler, 2003). No entanto, a motilidade propulsiva é inibida, uma vez que a contração da musculatura lisa do intestino grosso, estimulada pela ação dos opióides, ocorre de forma incoordenada (Kurz & Sessler, 2003). É possível que a estimulação de receptores μ pela metadona possa ter induzido contração/espasmo da musculatura lisa da ampola retal, resultando assim em defecação com desconforto. Embora este efeito adverso tenha sido mais evidente com a metadona intravenosa que com a metadona peridural, diferença estatisticamente significativa não foi observada, provavelmente, devido ao baixo poder estatístico associado ao pequeno número de animais estudados ($n = 10$ por grupo).

O principal efeito adverso relacionado à via peridural foi a ataxia dos membros pélvicos no período pós-operatório imediato (90% dos animais). Provavelmente devido à maior incoordenação motora, os animais tratados com metadona peridural apresentaram tempo significativamente maior para a adoção da posição quadrupedal que os animais tratados com metadona intravenosa. Contrastando com a metadona, a administração peridural da morfina não foi associada à interferência com a função motora (Troncy et al., 2002; Kona-Boun et al., 2006). No estudo prévio (*Capítulo 2*), a metadona (0,5 mg/kg) peridural em cães anestesiados com isoflurano não resultou em ataxia e nem em maior tempo para a adoção de posição quadrupedal que a mesma dose de metadona intravenosa. No entanto, neste estudo (*Capítulo 2*), a anestesia com isoflurano foi descontinuada após cerca de 5 horas da administração do opióide, enquanto que, no estudo atual, a administração do isoflurano foi interrompida após aproximadamente 1,5 horas da aplicação do fármaco. A análise coletiva destes resultados suporta a hipótese que a ataxia de membros pélvicos induzida pela metadona peridural seja decrescente com a progressão do tempo.

Em resumo, os resultados do presente estudo demonstram a maior eficácia e duração da analgesia produzida pela metadona peridural em relação à metadona intravenosa. Embora a via peridural não proporcione maior redução do requerimento de anestésico para a manutenção da anestesia que a via intravenosa em procedimentos de curta duração (até 2 horas), alguns efeitos sistêmicos (ex: bradicardia) parecem ser minimizados com o uso da via peridural. A analgesia pós-operatória prolongada, associada à ausência de efeitos adversos de maior

relevância clínica, justifica o uso da metadona peridural em animais submetidos a cirurgias de tecidos moles (ex: mastectomia).

CONCLUSÕES

Os resultados dos estudos apresentados permitem concluir que:

- A administração da metadona pela via peridural, quando comparada à via intravenosa, reduz a exposição sistêmica ao opióide (redução da área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo), prolonga a sua meia vida de eliminação do plasma e resulta em baixas concentrações do opióide no líquido da cisterna magna. Estas características auxiliam na compreensão dos efeitos fisiológicos observados com estas diferentes vias de administração da metadona em cães.

- Embora o efeito potencializador da anestesia com isoflurano promovido pela metadona peridural seja similar a metadona intravenosa numa fase inicial (2,5 horas), a via peridural resulta em potencialização do isoflurano mais prolongada (até 5 horas) que a via intravenosa em dermatômos específicos, suportando a hipótese de ação segmentar da metadona numa fase tardia.

- O efeito potencializador da anestesia com isoflurano mais prolongado e com característica segmentar obtido com a administração da metadona pela via peridural, associado à menor exposição sistêmica (menor área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo), suporta a postulação de que a via peridural favorece o acesso deste opióide a sítios-alvo espinhais.

- A administração da metadona pela via peridural, provavelmente por favorecer o acesso do opióide a sítios-alvo espinhais, possibilita a obtenção de efeito analgésico mais eficaz e prolongado (8-12 horas) que o promovido pela mesma dose de metadona intravenosa (3-4 horas) em cadelas submetidas à mastectomia.

- Ainda que a via peridural não proporcione vantagens óbvias sobre a via intravenosa quanto à potencialização do isoflurano numa fase inicial (até 1,5 a 2,5 horas), o efeito analgésico mais eficaz e prolongado obtido com a metadona peridural justifica o emprego desta via de administração, na dose de 0,5 mg/kg, em animais submetidos a cirurgias de tecidos moles.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Altier N, Dion D, Boulanger A, Choiniere M. Successful use of methadone in the treatment of chronic neuropathic pain arising from burn injuries: a case-study. *Burns* 2001; 27: 771–5.

American Animal Hospital Association; American Association of Feline Practitioners; AAHA/AAFP Pain Management Guidelines Task Force Members, Hellyer P, Rodan I, Brunt J, Downing R, Hagedorn JE, Robertson SA. AAHA/AAFP pain management guidelines for dogs & cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 2007; 43: 235-48.

Andersen HB, Christensen B, Findlay JW, Jansen JA. Pharmacokinetics of intravenous, intrathecal and epidural morphine and fentanyl in the goat. *Acta Anaesthesiol Scand* 1986; 30: 393-9.

Anggard E, Nilsson MI, Holmstrand J, Gunne LM. Pharmacokinetics of methadone during maintenance therapy: pulse labeling with deuterated methadone in the steady state. *Eur J Clin Pharmacol* 1979; 16: 53-7.

Asantila R, Eklund P, Rosenberg PH. Epidural analgesia with 4 mg of morphine following caesarean section: effect of injected volume. *Acta Anaesthesiol Scand* 1993; 37: 764-7.

Ballantyne JC, Loach AB, Carr DB. Itching after epidural and spinal opiates. *Pain* 1988; 33: 149-60.

Beeby D, MacIntosh KC, Bailey M, Welch DB. Postoperative analgesia for Caesarean section using epidural methadone. *Anaesthesia* 1984; 39: 61-3.

Bernard JM, Wouters PF, Doursout MF, Florence B, Chelly JE, Merin RG. Effects of sevoflurane and isoflurane on cardiac and coronary dynamics in chronically instrumented dogs. *Anesthesiology* 1990; 72: 659-62.

Bernard JM, Doursout MF, Wouters P, Hartley CJ, Merin RG, Chelly JE. Effects of sevoflurane and isoflurane on hepatic circulation in the chronically instrumented dog. *Anesthesiology* 1992; 77: 541-5.

Bernards CM, Hill HF. Physical and chemical properties of drug molecules governing their diffusion through the spinal meninges. *Anesthesiology* 1992; 77: 750-6.

Bernards CM. Understanding the physiology and pharmacology of epidural and intrathecal opioids. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2002; 16: 489-505.

Bernards CM, Shen DD, Sterling ES, Adkins JE, Risler L, Phillips B, Ummenhofer W. Epidural, cerebrospinal fluid, and plasma pharmacokinetics of epidural opioids (part 1): differences among opioids. *Anesthesiology* 2003; 99: 455-65.

Bernards CM. Recent insights into the pharmacokinetics of spinal opioids and the relevance to opioid selection. *Curr Opin Anaesthesiol* 2004; 17: 441-7.

Besse D, Lombard MC, Zajac JM, Roques BP, Besson JM. Pre- and postsynaptic distribution of mu, delta and kappa opioid receptors in the superficial layers of the cervical dorsal horn of the rat spinal cord. *Brain Res* 1990 25; 521: 15-22.

Besse D, Lombard MC, Besson JM. Autoradiographic distribution of mu, delta and kappa opioid binding sites in the superficial dorsal horn, over the rostrocaudal axis of the rat spinal cord. *Brain Res* 1991; 548: 287-91.

Betschart HR, Jondorf WR, Bickel MH. Differences in adipose tissue distribution of basic lipophilic drugs between intraperitoneal and other routes of administration. *Xenobiotica* 1988; 18: 113-21.

Bonnet MP, Mignon A, Mazoit JX, Ozier Y, Marret E. Analgesic efficacy and adverse effects of epidural morphine compared to parenteral opioids after elective caesarean section: a systematic review. *Eur J Pain* 2010; 14: 894.e-1-9.

Bromage PR, Camporesi E, Chestnut D. Epidural narcotics for postoperative analgesia. *Anesth Analg* 1980; 59: 473-80.

Brondani JT, Loureiro Luna SP, Beier SL, Minto BW, Padovani CR. Analgesic efficacy of perioperative use of vedaprofen, tramadol or their combination in cats undergoing ovariohysterectomy. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 420-9.

Callahan RJ, Au JD, Paul M, Liu C, Yost CS. Functional inhibition by methadone of N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes: stereospecific and subunit effects. *Anesth Analg* 2004; 98: 653-9.

Camu F, Debucquoy F. Alfentanil infusion for postoperative pain. A comparison of epidural and intravenous routes. *Anesthesiology* 1991; 75: 171-8.

Capner CA, Lascelles BD, Waterman-Pearson AE. Current British veterinary attitudes to perioperative analgesia for dogs. *Vet Rec* 1999; 145: 95-9.

Coda BA, Brown MC, Risler LBS, et al. Equivalent analgesia and side effects during epidural and pharmacokinetically tailored intravenous infusion with matching plasma alfentanil concentration. *Anesthesiology* 1999; 90: 98-108.

Codd EE, Shank RP, Schupsky JJ, Raffa RB. Serotonin and norepinephrine uptake inhibiting activity of centrally acting analgesics: structural determinants and role in antinociception. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274: 1263-70.

Conzemius MG, Hill CM, Sammarco JL, Perkowski SZ. Correlation between subjective and objective measures used to determine severity of postoperative pain in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 210: 1619-22.

Cousins MJ, Mather LE. Intrathecal and epidural administration of opioids. *Anesthesiology* 1984; 61: 276-310.

Credie RG, Teixeira Neto FJ, Ferreira TH, Aguiar AJA, Restitutti FC, Corrente JE. Effects of methadone on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2010; 37: 240-9.

Csajka C, Verotta D. Pharmacokinetic–pharmacodynamic modelling: history and perspectives. *J Pharmacok Pharmacodyn* 2006; 33: 227-79.

Dale O, Hoffer C, Sheffels P, Kharasch ED. Disposition of nasal, intravenous, and oral methadone in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 536-45.

Dale O, Sheffels P, Kharasch ED. Bioavailabilities of rectal and oral methadone in healthy subjects. *J Clin Pharmacol* 2004; 58: 156-62.

Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm Res* 1993; 10, 1093-5.

Day TK, Pepper WT, Tobias TA, Flynn MF, Clarke KM. Comparison of intra-articular and epidural morphine for analgesia following stifle arthrotomy in dogs. *Vet Surg* 1995; 24: 522-30.

Di Francesco C, Bickel MH. Uptake in vitro of lipophilic model compounds into adipose tissue preparations and lipids. *Biochem Pharmacol* 1985; 34: 3683-8.

Dohoo SE, Dohoo IR. Postoperative use of analgesics in dogs and cats by Canadian veterinarians. *Can Vet J* 1996; 37: 546-51a.

Dohoo SE, Dohoo IR. Factors influencing the postoperative use analgesics in dogs and cats by Canadian veterinarians. *Can Vet J* 1996; 37: 552-6b.

Eap CB, Buclin T, Baumann P. Interindividual variability of the clinical pharmacokinetics of methadone: implications for the treatment of opioid dependence. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41: 1153-93.

Edney ATB, Smith PM. Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. *Vet Rec* 1986; 118: 391-6.

Ellis DJ, Millar WL, Reisner LS. A randomized double-blind comparison of epidural versus intravenous fentanyl infusion for analgesia after cesarean section. *Anesthesiology* 1990; 72: 981-6.

Evron S, Samueloff A, Simon A, Drenger B, Magora F. Urinary function during epidural analgesia with methadone and morphine in post-cesarean section patients. *Pain* 1985; 23: 135-44.

Ferreira TH. A farmacocinética da metadona e seus efeitos antinociceptivos, comportamentais e sobre a concentração alveolar mínima do sevoflurano em felinos [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2010.

Firth AM, Haldane SL. Development of a scale to evaluate postoperative pain in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 651-9.

Garofalo NA. Alterações hemodinâmicas e neuroendócrinas associadas ao uso da metadona em cães conscientes e anestesiados com isoflurano [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2010.

Garrett ER, Derendorf H, Mattha AG. Pharmacokinetics of morphine and its surrogates. VII: High-performance liquid chromatographic analyses and pharmacokinetics of methadone and its derived metabolites in dogs. *J Pharm Sci* 1985; 74: 1203-14.

Garrido MJ, Trocóniz IF. Methadone: a review of its pharmacokinetic/pharmacodynamic properties. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1999; 42: 61-6.

Gaynor JS. Definitions of terms describing pain. In: Gaynor JS, Muir WW, editors. *Handbook of Veterinary Pain Management*. Missouri: Mosby; 2002. p. 60-2.

Geller E, Chrubasick J, Graf R, et al. A randomized double-blind comparison of epidural sufentanil versus intravenous sufentanil or epidural fentanyl analgesia after major abdominal surgery. *Anesth Analg* 1993; 76: 1243-50.

George MJ. The site of action of epidurally administered opioids and its relevance to postoperative pain management. *Anaesthesia* 2006; 61: 659-64.

Ginosar Y, Riley ET, Angst MS. The site of action of epidural fentanyl in humans: the difference between infusion and bolus administration. *Anesth Analg* 2003; 97: 1428-38.

Glass PSA, Estok P, Ginsberg B, Goldberg JS, Slanden RN. Use of patient-controlled analgesia to compare the efficacy of epidural to intravenous fentanyl administration. *Anesth Analg* 1992; 74: 345-51.

Gorman AL, Elliott KJ, Inturrisi CE. The d- and l-isomers of methadone bind to the non-competitive site on the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in rat forebrain and spinal cord. *Neurosci Lett* 1997; 223: 5-8.

Gourlay GK, Wilson PR, Glynn CJ. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of methadone during the perioperative period. *Anesthesiology* 1982; 57: 458-67.

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, Cherry DA, Cousins MJ. Cephalad migration of morphine in CSF following lumbar epidural administration in patients with cancer pain. *Pain* 1985; 23: 317-26.

Gourlay GK, Willis RJ, Lamberty J. A double-blind comparison of the efficacy of methadone and morphine in postoperative pain control. *Anesthesiology* 1986; 64: 322-7.

Gourlay GK, Kowalski SR, Plummer JL, Cousins MJ, Armstrong PJ. Fentanyl blood concentration-analgesic response relationship in the treatment of postoperative pain. *Anesth Analg* 1988; 67: 329-37.

Gourlay GK, Murphy TM, Plummer JL, Kowalski SR, Cherry DA, Cousins MJ. Pharmacokinetics of fentanyl in lumbar and cervical CSF following lumbar epidural and intravenous administration. *Pain* 1989; 38: 253-9.

Greene RF, Miser AW, Lester CM, Balis FM, Poplack DG. Cerebrospinal fluid and plasma pharmacokinetics of morphine infusions in pediatric cancer patients and rhesus monkeys. *Pain* 1987; 30: 339-48.

Hall LW, Clarke KW, Trim CM. Principles of sedation, analgesia and premedication. In: Hall LW, Clarke KW, Trim CM. *Veterinary Anaesthesia*. 10th ed. London: WB Saunders; 2001. p. 75-112.

Haynes SR, Davidson I, Allsop JR, Dutton DA. Comparison of epidural methadone with epidural diamorphine for analgesia following caesarean section. *Acta Anaesthesiol Scand* 1993; 37: 375-80.

Hellyer PW, Gaynor JS. Acute post-surgical pain in dogs and cats. *Compendium of continuing education for the practicing veterinarian (small animals)* 1998; 20: 140-53.

Hellyer PW, Mama KR, Shafford HL, Wagner AE, Kollias-Baker C. Effects of diazepam and flumazenil on minimum alveolar concentration for dogs anesthetized

with isoflurane or an isoflurane or a combination of isoflurane and fentanyl. *Am J Vet Res* 2001; 62: 555-60.

Herperger LJ. Postoperative urinary retention in a dog following morphine with bupivacaine epidural analgesia. *Can Vet J* 1998; 39: 650-2.

Hewson CJ, Dohoo IR, Lemke KA. Perioperative use of analgesics in dogs and cats by Canadian veterinarians in 2001. *Can Vet J* 2006; 47: 352-9a.

Hewson CJ, Dohoo IR, Lemke KA. Factors affecting the use of postincisional analgesics in dogs and cats by Canadian veterinarians in 2001. *Can vet J* 2006; 47: 453-9b.

Holton LL, Scott EM, Nolan AM, Reid J, Welsh E. Relationship between physiological factors and clinical pain in dogs scored using a numerical rating scale. *J Small Anim Pract* 1998; 39: 469-74.

Holton L, Reid J, Scott EM, Pawson P, Nolan A. Development of a behaviour-based scale to measure acute pain in dogs. *Vet Rec* 2001; 148: 525-31.

Hugonnard M, Leblond A, Keroack S, Cadore J, Troncy E. Attitudes and concerns of French veterinarians toward pain and analgesia in dogs and cats. *Vet Anaesth Analg* 2004; 31: 154-63.

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, Verebely K. The levels of methadone in the plasma in methadone maintenance. *Clin Pharmacol Ther* 1972; 13: 633-7.

Inturrisi CE, Colburn WA, Kaiko RF, Houde RW, Foley KM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of methadone in patients with chronic pain. *Clin Pharmacol Ther* 1987; 41: 392-401.

Inturrisi CE. Pharmacology of methadone and its isomers. *Minerva Anesthesiol* 2005; 71: 435-7.

Kafer ER, Brown JT, Scott D, et al. Biplanic depression of ventilating responses to CO₂ following epidural morphine. *Anesthesiology* 1983; 58: 418-27.

Kaufman, J.J., Koski, W.S., Benson, D.W., Semo, N.M., 1975. Narcotic and narcotic antagonist pKa's and partition coefficients and their significance in clinical practice. *Drug and Alcohol Dependence* 1975/76; 1: 103-14.

Kona-Boun JJ, Cuvellez S, Troncy E. Evaluation of epidural administration of morphine or morphine and bupivacaine for postoperative analgesia after premedication with an opioid analgesic and orthopedic surgery in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2006; 229: 1103-12. Erratum in: *J Am Vet Med Assoc* 2006; 229: 1755.

Kristensen K, Christensen CB, Christrup LL. The μ_1 , μ_2 , delta, kappa opioid receptor binding profiles of methadone stereoisomers and morphine. *Life Sci* 1995; 56: 45-50.

KuKanich B, Papich MG. Pharmacokinetics of tramadol and the metabolite O-desmethyltramadol in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2004; 27: 239-46.

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 Ther* 2005; 28: 461-6a.

KuKanich B, Lascelles BD, Papich MG. Use of a von Frey device for evaluation of pharmacokinetics and pharmacodynamics of morphine after intravenous administration as an infusion or multiple doses in dogs. *Am J Vet Res* 2005; 66: 1968-74b.

KuKanich B, Lascelles BD, Papich MG. Assessment of a von Frey device for evaluation of the antinociceptive effects of morphine and its application in pharmacodynamic modeling of morphine in dogs. *Am J Vet Res* 2005; 66: 1616-22c.

KuKanich B, Borum SL. The disposition and behavioral effects of methadone in Greyhounds. *Vet Anaesth Analg* 2008; 35: 242-8.

Kurz A, Sessler DI. Opioid-induced bowel dysfunction: pathophysiology and potential new therapies. *Drugs* 2003; 63: 649-71.

Kyles AE, Papich M, Hardie EM. Disposition of transdermally administered fentanyl in dogs. *Am J Vet Res* 1996; 57: 715-9.

Lamont LA. Multimodal pain management in veterinary medicine: the physiologic basis of pharmacologic therapies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008; 38: 1173-86.

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: 128-36.

Lemberg K, Kontinen VK, Viljakka K, Kylänlahti I, Yli-Kauhaluoma J, Kalso E. Morphine, oxycodone, methadone and its enantiomers in different models of nociception in the rat. *Anesth Analg* 2006; 102: 1768-74.

Loper KA, Ready LB, Downey M, Sandler NA, Nessly M, Rapp S, Badner N. Epidural and intravenous fentanyl infusions are clinically equivalent after knee surgery. *Anesth Analg* 1990; 70: 72-5.

Lorena SERS. Estudo demográfico sobre as condutas de avaliação e tratamento da dor dos médicos veterinários brasileiros no período perioperatório de grandes e pequenos animais [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2010.

Machado CEG, Dyson DH, Maxie MG. Effects of oxymorphone and hydromorphone on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2006; 33: 70-7.

Maiante AA, Teixeira Neto FJ, Beier SL, Corrente JE, Pedroso CE. Comparison of the cardio-respiratory effects of methadone and morphine in conscious dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2009; 32: 317-28.

Marucio RL, Luna SP, Neto FJ, Minto BW, Hatschbach E. Postoperative analgesic effects of epidural administration of neostigmine alone or in combination with morphine in ovariohysterectomized dogs. *Am J Vet Res* 2008; 69: 854-60.

Mather LE. Clinical pharmacokinetics of fentanyl and its newer derivatives. *Clin Pharmacokinet* 1983; 8: 422-46.

Miguel R, Barlow I, Morrell M, et al. A prospective, randomized, double-blind comparison of epidural and intravenous sufentanil infusions. *Anesthesiology* 1994; 81: 346-52.

Mizoguchi H, Watanabe C, Yonezawa A, Sakurada S. New therapy for neuropathic pain. *Int Rev Neurobiol* 2009; 85: 249-60.

Monteiro ER, Figueroa CD, 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: 519-27.

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: 25-33.

Monteiro ER, Teixeira-Neto FJ, Campagnol D, Alvaides RK, Garofalo NA, Matsubara LM. Effects of remifentanyl on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Am J Vet Res* 2010; 71: 150-6.

Morton CM, Reid J, Scott EM, Holton LL, Nolan AM. Application of a scaling model to establish and validate an interval level pain scale for assessment of acute pain in dogs. *Am J Vet Res* 2005; 66: 2154-66.

Mugabure B, Echaniz E, Marin M. Fisiología y farmacología clínica de los opiáceos epidurales e intratecales. *Rev Soc Esp Dolor* 2005; 12: 33-45.

Muir WW III. Physiology and pathology of pain. In: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of Veterinary Pain Management*. St Louis: Mosby; 2002. p.13-45.

Murrell JC, Psatha EP, Scott EM, Reid J, Hellebrekers LJ. Application of a modified form of the Glasgow pain scale in a veterinary teaching centre in the Netherlands. *Vet Rec* 2008; 162: 403-8.

Olsen, G.D., Wendel, H.A., Livermore, J.D., Leger, R.M., Lynn, R.K. and Gerber, N., Clinical effects and pharmacokinetics of racemic methadone and its optical isomers, *Clin Pharmacol Ther* 1976; 21: 147–57.

Pascoe PJ. Opioid analgesics. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2000; 30: 757-72.

Payne R, Inturrisi CE. CSF distribution of morphine, methadone and sucrose after intrathecal injection. *Life Sci* 1985; 37: 1137-44.

Payne R, Gradert TL, Inturrisi CE. Cerebrospinal fluid distribution of opioids after intraventricular & lumbar subarachnoid administration in sheep. *Life Sciences* 1996; 59: 1307-21.

Peccinini RG. Fundamentos de farmacocinética clínica. In: Aizenstein ML. *Uso Racional de Medicamentos*. São Paulo: Artes Médica; 2010. p. 88-114

Peckham EM, Traynor JR. Comparison of the antinociceptive response to morphine and morphine-like compounds in male and female Sprague-Dawley rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316: 1195-201.

Peng PW, Tumber PS, Gourlay D. Review article: perioperative pain management of patients on methadone therapy. *Can J Anaesth* 2005; 52: 513-23.

Plummer JL, Cmielewski PL, Reynolds GD, Gourlay GK, Cherry DA. Influence of polarity on dose-response relationships of intrathecal opioids in rats. *Pain* 1990; 40: 339-47.

Quasha AL, Eger EI 2nd, Tinker JH. Determinations and applications of MAC. *Anesthesiology* 1980; 53: 315-34.

Raekallio M, Heinonen KM, Kuussaari J, Vainio O. Pain alleviation in animals: attitudes and practices of Finnish veterinarians. *Vet J* 2003; 165: 131-5.

Rostami-Hodjegan A, Wolff K, Hay AW, Raistrick D, Calvert R, Tucker GT. Population pharmacokinetics of methadone in opiate users: characterization of time-dependent changes. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 48: 43-52.

Rubenstein RB, Kreek MJ, Mbawa N, Wolff WI, Korn R, Gutjahr CL. Human spinal fluid methadone levels. *Drug Alcohol Depend* 1978; 3: 103-6.

Sams RA, Muir WW. Principles of drugs disposition and drug interaction in horses. In: Muir WW, Hubbell JAE, editors. *Equine Anesthesia: Monitoring and Emergency Therapy*. 4th edition. St Louis: Saunders Elsevier; 1990. p. 171-83.

Schlitt SC, Schroeter LM, Wilson JE, Olsen GD. Methadone-induced respiratory depression in the dog: comparison of steady-state and rebreathing techniques and correlation with serum drug concentration. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 207: 109-22.

Schmidt N, Brune K, Williams KM, Geisslinger G. Stereoselective pharmacokinetics of methadone in beagle dogs. *Chirality* 1994; 6: 492-5.

Selley DE, Cao CC, Sexton T, Schwegel JA, Martin TJ, Childers SR. μ Opioid receptor-mediated G-protein activation by heroin metabolites: evidence for greater efficacy of 6-monoacetylmorphine compared with morphine. *Biochem Pharmacol* 2001; 62: 447-55.

Shaiova L, Berger A, Blinderman CD, Bruera E, Davis MP, Derby S, Inturrisi C, Kalman J, Mehta D, Pappagallo M, Perlov E. Consensus guideline on parenteral methadone use in pain and palliative care. *Palliative and Supportive Care* 2008; 6: 165-76.

Short CE. Fundamentals of pain perception in animals. *Applied Animal Behaviour Science* 1998; 59: 125-33.

Sjöström S, Hartvig P, Persson MP, Tamsen A. Pharmacokinetics of epidural morphine and meperidine in humans. *Anesthesiology* 1987; 67: 877-88.

Skarda R. Local and regional anesthetic and analgesic techniques : dogs. In: Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ, editors. *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia*. 3th edition. Baltimore: Williams and Wilkins; 1996. p. 426-47.

Smith LJ, Yu JK, Bjorling DE, Waller K. Effects of hydromorphone or oxymorphone, with or without acepromazine, on preanesthetic sedation, physiologic values, and histamine release in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218: 1101-5.

Soares JHN, Ascoli FO, Gremiao IDF, Gomes de Segura IA, Mársico Filho F. Isoflurane sparing action of epidurally administered xylazine hydrochloride in anesthetized dogs. *Am J Vet Res* 2004; 65: 854-9.

Stanley TH, Liu WS, Webster LR, Johansen RK. Haemodynamic effects of intravenous methadone anaesthesia in dogs. *Can Anaesth Soc J* 1980; 27: 53-7.

Steffey EP, Howland D Jr. Isoflurane potency in the dog and cat. *Am J Vet Res* 1977; 38: 1833-6.

Steffey EP, Eisele JH, Baggot JD, Woliner MJ, Jarvis KA, Elliott AR. Influence of inhaled anesthetics on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of morphine. *Anesth Analg* 1993; 77: 346-51.

Steffey EP, Mama K. Inhalation anesthetics. In: Tranquilli WJ, Thurmon JC, Benson GJ, editors. *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia*. Iowa: Blackwell; 2007. p. 355-93

Stevens WC, Dolan WM, Gibbons RT, White A, Eger EI, Miller RD, et al. Minimum alveolar concentration (MAC) of isoflurane with and without nitrous oxide in patients of various ages. *Anesthesiology* 1975; 42: 197-200.

Terlizzi RD, Platt S The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part I – Function and composition. *Vet J* 2006; 172: 422–31.

Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ. Preanesthetics and anesthetic adjuncts. In: Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ, editors. *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia*. 3th edition. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996. p. 183-209a.

Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ. Perioperative pain and distress. In: Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ, editors. *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia*. 3th edition. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996. p. 40-60b.

Torda TA, Pybus DA. Comparison of four narcotic analgesics for extradural analgesia. *Br J Anaesth* 1982; 54: 291-5.

Toutain PL, Bousquet-Mélou A. Plasma terminal half-life. *J Vet Pharmacol Ther* 2004; 27: 427-39a.

Toutain PL, Bousquet-Mélou A. Plasma clearance. *J Vet Pharmacol Ther* 2004; 27: 415-25b.

Toutain PL, Bousquet-Mélou A. Volumes of distribution. *J Vet Pharmacol Ther* 2004; 27: 441-53c.

Troncy E, Besner JG, Charbonneau R, Cuvellez SG, Blais D. Pharmacokinetics of epidural butorphanol in isoflurane-anaesthetized dogs. *J Vet Pharmacol Therap* 1996; 19: 268-73.

Troncy E, Junot S, Keroack S, Sammut V, Pibarot P, Genevois JP, Cuvellez S. Results of preemptive epidural administration of morphine with or without bupivacaine in dogs and cats undergoing surgery: 265 cases (1997-1999). *J Am Vet Med Assoc* 2002; 221: 666-72.

Trujillo KA, Akil H. Inhibition of opiate tolerance by noncompetitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. *Brain Res* 1994; 633: 178-88.

Tung AS, Yaksh TL. The antinociceptive effects of epidural opiates in the cat: studies of the pharmacology and the effects of lipophilicity in spinal analgesia. *Pain* 1982; 12: 343-56.

Ummenhofer WC, Arends RH, Shen DD, Bernards CM. Comparative spinal distribution and clearance kinetics of intrathecally administered morphine, fentanyl, alfentanil, and sufentanil. *Anesthesiology* 2000; 92: 739-53.

Valverde A, Dyson DH, McDonell WN. Epidural morphine reduces halothane MAC in the dog. *Can J Anaesth* 1989; 36: 629-32.

Valverde A, Conlon PD, Dyson DH, Burger JP. Cisternal CSF and serum concentrations of morphine following epidural administration in the dog. *J Vet Pharmacol Ther* 1992; 15: 91-5.

Valverde A, Morey TE, Hernandez J, Davies W. Validation of several types of noxious stimuli for use in determining the minimum alveolar concentration for inhalation anesthetics in dogs and rabbits. *Am J Vet Res* 2003; 64: 957-62.

Valverde A. Epidural analgesia and anesthesia in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008; 38: 1205-30.

Van Seventer R, Vos C, Meerding W, Mear I, Le Gal M, Bouhassira D, Huygen FJ. Linguistic validation of the DN4 for use in international studies. *Eur J Pain* 2010; 14: 58-63.

Vanderah TW. Pathophysiology of pain. *Med Clin North Am* 2007; 91: 1-12.

Villalonga A, Gomar C, Nalda MA. Influencia de la concentración de metadona peridural en la analgesia postoperatoria. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 1989; 36: 260-3.

Wagner AE. Opioids. In: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of Veterinary Pain Management*. St Louis: Mosby; 2002. p.164-83.

Waksman G, Hamel E, Fournié-Zaluski MC, Roques BP. Autoradiographic comparison of the distribution of the neutral endopeptidase "enkephalinase" and of mu and delta opioid receptors in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 1523-7.

Welch DB, Hraynaszkiewicz A. Postoperative analgesia using epidural methadone. Administration by the lumbar route for thoracic pain relief. *Anaesthesia* 1981; 36: 1051-4.

Williams VM, Lascelles BD, Robson MC. Current attitudes to, and use of, peri-operative analgesia in dogs and cats by veterinarians in New Zealand. *N Z Vet J* 2005; 53: 193-202.

Wolff K, Hay AW, Raistrick D, Calvert R. Steady-state pharmacokinetics of methadone in opioid addicts. *Eur J Clin Pharmacol* 1993; 44: 189-94.

Xiao Y, Smith RD, Caruso FS, Kellar KJ. Blockade of rat $\alpha 3 \beta 4$ nicotinic receptor function by methadone, its metabolites, and structural analogs. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 299: 366-71.

Yamakura T, Sakimura K, Shimoji K. Direct inhibition of the N-methyl-D-aspartate receptor channel by high concentrations of opioids. *Anesthesiology*. 1999; 91: 1053-63.

APÊNDICE I (Capítulo 1)

Apêndice I.I. Número de hemácias (He) e células nucleadas (CN) e concentração de proteínas totais (PLT) nas amostras de líquido colhidas na região atlânto-occipital após 10, 150 e 300 minutos da administração da metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamento MEP) em seis cães anestesiados com isoflurano. Amostras em outros momentos (extra) foram colhidas caso a agulha espinhal se deslocasse do espaço subaracnóide e tivesse que ser reintroduzida

Animal		MIV			
		10 min	150 min	300 min	Extra
1	He/ μ L	4	27	16	-
	CN/ μ L	2	5	1	
	PLT (mg/dL)	21,3	18,2	16	
2	He/ μ L	50	55	40	100
	CN/ μ L	7	10	4	4
	PLT (mg/dL)	25,1	14,6	16,7	13,9
3	He/ μ L	5	6	5	-
	CN/ μ L	1	4	2	
	PLT (mg/dL)	11,2	11,1	20,3	
4	He/ μ L	2	3	4	-
	CN/ μ L	<1	1	1	
	PLT (mg/dL)	11,9	11,1	11,1	
5	He/ μ L	2	1	2	-
	CN/ μ L	<1	<1	3	
	PLT (mg/dL)	17,9	20,4	15,4	
6	He/ μ L	1	3	<1	-
	CN/ μ L	<1	1	<1	
	PLT (mg/dL)	11,3	11,9	11,9	
		MEP			
		10 min	150 min	300 min	Extra
1	He/ μ L	105	20	3	-
	CN/ μ L	3	3	1	
	PLT (mg/dL)	11,9	21,1	16,4	
2	He/ μ L	1	6	2	-
	CN/ μ L	<1	1	1	
	PLT (mg/dL)	11,9	11,9	10,3	
3	He/ μ L	400	1	34	54
	CN/ μ L	7	<1	5	4
	PLT (mg/dL)	11,9	8,3	28	15,8
4	He/ μ L	3	1	2	-
	CN/ μ L	1	<1	1	
	PLT (mg/dL)	10,3	11,9	14,3	
5	He/ μ L	4	<1	2	-
	CN/ μ L	<1	<1	2	
	PLT (mg/dL)	10,1	11,3	11,9	
6	He/ μ L	100	136	13	37
	CN/ μ L	4	5	1	5
	PLT (mg/dL)	17,1	11,9	11,9	11,9

Apêndice I.II. Concentração plasmática de metadona mensurada após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos de sua administração intravenosa (Tratamento MIV) ou peridural (Tratamento MEP) no animal nº 1 e os parâmetros farmacocinéticos individuais calculados à partir da curva de concentração *versus* tempo

Animal 1	
MIV	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	202,6
20	118,0
30	81,3
60	44,1
150	21,1
300	11,8
450	7,6
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,004
meia vida eliminação (min)	173,3
asc0-t (ng/ml.h)	13905,2
asc0-inf (ng/ml.h)	15794,4
asco-t/asco-inf	88,0
Cl (L/h/kg)	0,032
Vd (L/kg)	7,9
kd (min ⁻¹)	0,064
meia vida distribuição (min)	10,8
MEP	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	64,3
20	49,1
30	40,0
60	29,4
150	13,1
300	6,9
450	6,6
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,004
meia vida eliminação (min)	173,3
asc0-t (ng/ml.h)	7206,2
asc0-inf (ng/ml.h)	8864,4
asco-t/asco-inf	81,3
Cl (L/h/kg)	0,030
Vd (L/kg)	7,4
kd (min ⁻¹)	0,088
meia vida distribuição (min)	7,9
F (biodisponibilidade %)	56,1

Apêndice I.III. Concentração plasmática de metadona mensurada após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos de sua administração intravenosa (Tratamento MIV) ou peridural (Tratamento MEP) no animal nº 2 e os parâmetros farmacocinéticos individuais calculados à partir da curva de concentração versus tempo

Animal 2	
MIV	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	453,5
20	190,5
30	141,3
60	63,8
150	26,6
300	12,9
450	8,8
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,005
meia vida eliminação (min)	138,6
asc0-t (ng/ml.h)	21319,6
asc0-inf (ng/ml.h)	23074,0
asco-t/asco-inf	92,4
Cl (L/h/kg)	0,022
Vd (L/kg)	4,3
kd (min ⁻¹)	0,053
meia vida distribuição (min)	13,1
MEP	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	113,7
20	103,9
30	77,9
60	41,6
150	20,2
300	12,1
450	10,9
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,003
meia vida eliminação (min)	231,0
asc0-t (ng/ml.h)	12764,7
asc0-inf (ng/ml.h)	16405,4
asco-t/asco-inf	77,8
Cl (L/h/kg)	0,021
Vd (L/kg)	7,2
kd (min ⁻¹)	0,046
meia vida distribuição (min)	15,1
F (biodisponibilidade %)	71,1

Apêndice I.IV. Concentração plasmática de metadona mensurada após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos de sua administração intravenosa (Tratamento MIV) ou peridural (Tratamento MEP) no animal nº 3 e os parâmetros farmacocinéticos individuais calculados à partir da curva de concentração versus tempo

Animal 3	
MIV	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	335,5
20	164,5
30	119,4
60	62,1
150	23,5
300	13,1
450	9,5
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,005
meia vida eliminação (min)	138,6
asc0-t (ng/ml.h)	18415,9
asc0-inf (ng/ml.h)	20312,6
asco-t/asco-inf	90,7
Cl (L/h/kg)	0,025
Vd (L/kg)	4,9
kd (min ⁻¹)	0,054
meia vida distribuição (min)	12,8
MEP	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	76,2
20	70,5
30	48,8
60	32,1
150	17,8
300	12,3
450	8,4
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,003
meia vida eliminação (min)	231,0
asc0-t (ng/ml.h)	9982,8
asc0-inf (ng/ml.h)	12787,9
asco-t/asco-inf	78,1
Cl (L/h/kg)	0,025
Vd (L/kg)	8,2
kd (min ⁻¹)	0,051
meia vida distribuição (min)	13,6
F (biodisponibilidade %)	63,0

Apêndice I.V. Concentração plasmática de metadona mensurada após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos de sua administração intravenosa (Tratamento MIV) ou peridural (Tratamento MEP) no animal nº 4 e os parâmetros farmacocinéticos individuais calculados à partir da curva de concentração versus tempo

Animal 4	
MIV	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	301,2
20	153,4
30	99,5
60	45,4
150	15,5
300	8,0
450	4,6
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,006
meia vida eliminação (min)	115,5
asc0-t (ng/ml.h)	14205,6
asc0-inf (ng/ml.h)	14966,0
asco-t/asco-inf	94,9
Cl (L/h/kg)	0,033
Vd (L/kg)	5,6
kd (min ⁻¹)	0,060
meia vida distribuição (min)	11,6
MEP	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	54,1
20	50,9
30	41,5
60	27,5
150	14,9
300	8,8
450	8,8
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,004
meia vida eliminação (min)	173,3
asc0-t (ng/ml.h)	7708,7
asc0-inf (ng/ml.h)	9902,9
asco-t/asco-inf	77,9
Cl (L/h/kg)	0,033
Vd (L/kg)	8,4
kd (min ⁻¹)	0,074
meia vida distribuição (min)	9,4
F (biodisponibilidade %)	66,2

Apêndice I.VI. Concentração plasmática de metadona mensurada após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos de sua administração intravenosa (Tratamento MIV) ou peridural (Tratamento MEP) no animal nº 5 e os parâmetros farmacocinéticos individuais calculados à partir da curva de concentração versus tempo

Animal 5	
MIV	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	252,1
20	153,9
30	103,7
60	51,2
150	21,3
300	8,6
450	7,0
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,005
meia vida eliminação (min)	138,6
asc0-t (ng/ml.h)	15076,2
asc0-inf (ng/ml.h)	16467,3
asco-t/asco-inf	91,6
Cl (L/h/kg)	0,030
Vd (L/kg)	6,1
kd (min ⁻¹)	0,057
meia vida distribuição (min)	12,2
MEP	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	105,7
20	83,4
30	69,0
60	40,9
150	18,7
300	12,1
450	7,9
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,004
meia vida eliminação (min)	173,3
asc0-t (ng/ml.h)	11670,9
asc0-inf (ng/ml.h)	13639,4
asco-t/asco-inf	85,6
Cl (L/h/kg)	0,030
Vd (L/kg)	7,6
kd (min ⁻¹)	0,043
meia vida distribuição (min)	16,1
F (biodisponibilidade %)	82,8

Apêndice I.VII. Concentração plasmática de metadona mensurada após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos de sua administração intravenosa (Tratamento MIV) ou peridural (Tratamento MEP) no animal nº 6 e os parâmetros farmacocinéticos individuais calculados à partir da curva de concentração versus tempo

Animal 6	
MIV	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	204,5
20	95,1
30	49,4
60	31,2
150	18,3
300	8,4
450	5,5
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,004
meia vida eliminação (min)	173,3
asc0-t (ng/ml.h)	11774,6
asc0-inf (ng/ml.h)	13160,0
asco-t/asco-inf	89,5
Cl (L/h/kg)	0,038
Vd (L/kg)	9,5
kd (min ⁻¹)	0,089
meia vida distribuição (min)	7,8
MEP	
Tempo (min)	Cp (ng/mL)
10	85,9
20	62,9
30	38,9
60	20,7
150	13,6
300	11,4
450	9,3
Parâmetros Farmacocinéticos	Valor
kel (min ⁻¹)	0,002
meia vida eliminação (min)	346,5
asc0-t (ng/ml.h)	8203,3
asc0-inf (ng/ml.h)	12849,4
asco-t/asco-inf	63,8
Cl (L/h/kg)	0,037
Vd (L/kg)	18,99
kd (min ⁻¹)	0,082
meia vida distribuição (min)	8,5
F (biodisponibilidade %)	97,6

Apêndice I.VIII. Concentração expirada de isoflurano (%) ajustada para manter plano moderado de anestesia ($1,3 \text{ CAM}_{\text{ISO}}$) antes (basal) e após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos da administração da metadona pela via intravenosa (Tratamento MIV) ou peridural (Tratamento MEP) em seis cães. A ET_{ISO} foi ajustada em $1,3 \text{ CAM}_{\text{ISO}}$ com base no valor de CAM_{ISO} individual mensurado no estudo do *Capítulo 2*

ET_{ISO}								
Animal	MIV							
	Momentos							
	basal	10 min	20 min	30 min	60 min	150 min	300 min	450 min
1	2,2	1,3	1,4	1,5	1,7	1,7	2,1	2,1
2	2,4	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,5	1,5
3	2,0	1,2	1,3	1,5	1,6	1,6	1,6	1,7
4	2,4	1,5	1,8	1,8	1,9	1,9	2,2	2,2
5	2,3	1,1	1,3	1,5	1,5	1,5	2,3	2,3
6	2,3	1,4	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6	1,6
Animal	MEP							
	Momentos							
	basal	10 min	20 min	30 min	60 min	150 min	300 min	450 min
1	2,2	1,5	1,7	1,8	1,8	1,8	2,0	2,4
2	2,3	1,6	1,6	1,4	1,4	1,4	1,5	1,7
3	2,1	1,5	1,4	1,4	1,4	1,4	1,5	1,6
4	2,0	1,2	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,8
5	2,3	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,8	2,0
6	2,3	1,4	1,4	1,5	1,5	1,5	1,7	1,7

Apêndice I.IX. Valores individuais de frequência cardíaca (FC) mensurada antes e após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos da administração da metadona pela via intravenosa (Tratamento MIV) ou peridural (Tratamento MEP) em seis cães anestesiados com isoflurano (1,3 CAM_{Iso})

FC								
Animal	MIV							
	Momentos							
	basal	10 min	20 min	30 min	60 min	150 min	300 min	450 min
1	107	42	44	44	44	55	82	84
2	113	40	38	42	52	46	56	58
3	78	42	44	40	48	60	64	75
4	82	36	38	42	58	68	75	79
5	82	40	42	42	44	50	76	87
6	100	61	65	57	65	94	80	89

MEP								
Animal	Momentos							
	Momentos							
	basal	10 min	20 min	30 min	60 min	150 min	300 min	450 min
1	95	71	68	60	74	96	82	83
2	81	69	65	68	52	56	60	63
3	75	60	56	56	50	56	66	66
4	73	62	56	55	54	72	74	72
5	89	68	56	58	53	55	77	87
6	101	83	77	83	80	90	82	84

Apêndice I.X. Valores individuais de pressão arterial média (PAM) mensurada antes e após 10, 20, 30, 60, 150, 300 e 450 minutos da administração da metadona pela via intravenosa (Tratamento MIV) ou peridural (Tratamento MEP) em seis cães anestesiados com isoflurano ($1,3 \text{ CAM}_{\text{iso}}$)

PAM								
Animal	MIV							
	Momentos							
	basal	10 min	20 min	30 min	60 min	150 min	300 min	450 min
1	57	53	56	56	61	63	63	58
2	67	54	62	63	64	59	56	57
3	57	60	57	57	56	60	60	62
4	50	53	60	63	62	62	61	61
5	60	62	66	61	62	59	59	62
6	58	61	62	61	62	68	61	57

MEP								
Animal	Momentos							
	basal	10 min	20 min	30 min	60 min	150 min	300 min	450 min
1	60	57	56	70	70	73	65	61
2	61	57	61	62	62	61	67	57
3	56	59	59	57	60	61	63	62
4	52	54	54	59	63	63	62	61
5	65	60	64	65	61	65	60	63
6	57	59	63	62	68	63	61	60

APÊNDICE II (Capítulo 2)

Apêndice II.I. Valores de concentração alveolar mínima do isoflurano (CAM_{ISO} ; vol%) mensurados em seis cães, antes (CAM_{basal}) e após 2,5 ($CAM_{2,5}$) e 5 ($CAM_{5,0}$) horas da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_T e MEP_P), obtidos em nosso laboratório (Botucatu/SP; pressão barométrica de 680 mmHg) e transformados em valores relativos à pressão barométrica ao nível do mar (760 mmHg)

Animal	Valores de CAM_{ISO} na cidade de Botucatu/SP								
	MIV			MEP_T			MEP_P		
	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$
1	1,65	1,25	1,55	1,75	1,45	1,55	1,75	1,35	1,55
2	1,95	1,00	1,25	1,75	1,15	1,15	1,85	1,05	1,25
3	1,55	1,30	1,30	1,65	1,10	1,10	1,55	1,05	1,15
4	1,80	1,50	1,65	1,85	1,25	1,25	1,75	1,40	1,55
5	1,75	1,15	1,75	1,65	0,90	1,10	1,85	1,35	1,75
6	1,85	1,10	1,30	1,90	1,20	1,20	1,75	1,15	1,25
Animal	Valores de CAM_{ISO} ao nível do mar								
	MIV			MEP_T			MEP_P		
	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$
1	1,48	1,12	1,39	1,57	1,30	1,39	1,57	1,21	1,39
2	1,74	0,89	1,12	1,57	1,03	1,03	1,66	0,94	1,12
3	1,39	1,16	1,16	1,48	0,98	0,98	1,39	0,94	1,03
4	1,61	1,34	1,48	1,66	1,12	1,12	1,57	1,25	1,39
5	1,57	1,03	1,57	1,48	0,81	0,98	1,66	1,21	1,57
6	1,66	0,98	1,16	1,70	1,07	1,07	1,57	1,03	1,12

Apêndice II.II. Percentagens de redução da concentração alveolar mínima do isoflurano (CAM_{ISO} ; %) em relação à CAM_{basal} , proporcionada por 0,5 mg/kg de metadona após 2,5 ($CAM_{2,5}$) e 5 ($CAM_{5,0}$) horas de sua administração intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_T e MEP_P) em seis cães

Animal	% de Redução da CAM_{ISO}					
	MIV		MEP_T		MEP_P	
	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$
1	24	06	17	11	23	11
2	49	36	34	34	43	32
3	16	16	33	33	32	26
4	17	08	32	32	20	11
5	34	00	45	33	27	05
6	41	30	37	37	34	29

Apêndice II.III. Valores mínimos de ET_{ISO} (%) condizentes com resposta negativa à estimulação nociceptiva registrados após, aproximadamente, 60 min da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamento MEP_T ou MEP_P) em seis cães, bem como a percentagem estimada de redução da CAM_{ISO} , supondo que uma ET_{ISO} 0,1% mais baixa fosse condizente com resposta positiva (necessária para o cálculo da CAM)

Animal	MIV			MEP_T			MEP_P		
	ET_{ISO} mín (%)	Momento (min)	Redução da CAM_{ISO} Estimada (%)	ET_{ISO} mín (%)	Momento (min)	Redução da CAM_{ISO} Estimada (%)	ET_{ISO} mín (%)	Momento (min)	Redução da CAM_{ISO} Estimada (%)
1	0,81	50	49	1,21	90	26	1,21	70	26
2	0,81	60	57	0,85	50	49	0,94	80	46
3	0,81	60	46	0,85	60	46	0,85	60	42
4	1,07	70	36	1,03	60	41	1,12	90	32
5	0,81	60	52	0,81	68	49	1,03	81	41
6	0,89	60	49	0,94	90	48	0,89	50	46

Apêndice II.IV. Tempos reais (horas) de determinação da concentração alveolar mínima do isoflurano (CAM_{ISO}) antes (CAM_{basal} ; referente ao momento de indução da anestesia) e após os tempos-alvos de 2,5 ($CAM_{2,5}$) e 5 horas ($CAM_{5,0}$) da administração intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_T e MEP_P) de 0,5 mg/kg de metadona em seis cães

Animal	Tempos reais de determinação da CAM_{ISO}								
	MIV			MEP_T			MEP_P		
	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$
1	1,8	2,3	5,1	2,1	2,8	5,2	1,7	2,3	4,9
2	2,7	2,8	4,8	2,7	2,3	4,7	2,5	2,3	4,7
3	2,7	3,0	4,9	1,9	2,7	5,1	2,4	2,5	5,0
4	2,0	2,8	4,9	2,5	2,8	4,8	2,1	2,9	5,0
5	2,5	2,5	5,4	2,4	2,3	4,9	1,8	2,4	5,0
6	2,1	2,8	4,9	2,0	2,6	4,8	2,5	2,8	4,8

Apêndice II.V. Valores de concentração plasmáticas (ng/mL) de metadona mensuradas em seis cães imediatamente após a determinação da CAM_{basal} , $CAM_{2,5}$ e $CAM_{5,0}$ (antes e após 2,5 e 5 horas da administração da metadona, respectivamente)

Animal	Concentração plasmática de metadona								
	MIV			MEP_T			MEP_P		
	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$	CAM_{basal}	$CAM_{2,5}$	$CAM_{5,0}$
1	ND	16,5	7,5	ND	13,7	7,9	ND	10,0	6,8
2	ND	20,4	12,2	ND	14,8	9,6	ND	16,4	13,4
3	ND	21,8	7,6	ND	15,2	8,2	ND	16,1	9,3
4	ND	14,8	7,5	ND	11,8	7,1	ND	17,7	11,1
5	ND	30,5	9,7	ND	20,4	13,3	ND	16,4	10,4
6	ND	11,2	6,4	ND	11,4	7,5	ND	9,7	6,3

Apêndice II.VI. Valores de frequência cardíaca (FC; bat/min) e pressões arteriais sistólica, diastólica e média (PAS; PAD e PAM; mmHg) registrados em seis cães anestesiados com concentrações equipotentes de isoflurano (1 CAM_{ISO}) antes (CAM_{basal}) e após 2,5 (CAM_{2.5}) e 5 horas (CAM_{5.0}) da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_T e MEP_P)

Animal	FC								
	MIV			MEP _T			MEP _P		
	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}
1	75	54	68	81	57	68	81	51	66
2	110	57	61	97	54	58	92	56	61
3	92	58	63	85	52	55	76	51	53
4	82	56	69	97	67	73	84	70	73
5	89	50	69	89	64	55	103	61	73
6	115	80	78	114	81	76	109	78	72

Animal	PAS								
	MIV			MEP _T			MEP _P		
	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}
1	110	117	109	110	102	107	96	119	110
2	97	131	121	108	122	122	103	149	126
3	99	130	128	131	133	119	116	124	119
4	93	109	102	96	113	108	88	101	98
5	113	142	124	121	136	132	98	125	110
6	101	155	130	105	150	147	110	148	136

Animal	PAD								
	MIV			MEP _T			MEP _P		
	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}
1	52	42	42	47	41	41	47	45	44
2	52	48	46	56	45	45	46	46	42
3	52	53	51	64	53	46	53	49	45
4	46	48	46	48	49	45	43	43	42
5	51	49	47	60	53	46	52	48	45
6	52	63	50	50	55	54	55	62	50

Animal	PAM								
	MIV			MEP _T			MEP _P		
	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}
1	66	58	57	64	56	56	59	60	59
2	63	67	63	69	62	63	59	66	60
3	64	72	68	80	71	64	71	66	62
4	60	65	62	62	67	63	56	60	58
5	66	68	65	76	75	66	65	66	61
6	65	85	69	62	76	72	68	83	69

Apêndice II.VII. Valores de frequência respiratória (f ; mov/min), pressão inspiratória máxima em via aérea (P_{insp} ; cmH₂O) e concentração de dióxido de carbono no final da expiração (ETCO₂; mmHg) registrados em 6 cães anestesiados com concentrações equipotentes de isoflurano (1 CAM_{ISO}) antes (CAM_{basal}) e após 2,5 (CAM_{2.5}) e 5 (CAM_{5.0}) horas da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_T e MEP_P)

Animal	f								
	MIV			MEP _T			MEP _P		
	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}
1	12	12	11	8	12	10	11	10	11
2	16	15	13	16	15	13	16	18	17
3	14	12	12	12	15	13	12	16	14
4	13	15	13	12	13	14	11	12	11
5	14	13	13	14	14	14	12	11	12
6	15	15	12	14	15	13	15	15	13

Animal	P _{insp}								
	MIV			MEP _T			MEP _P		
	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}
1	10	12	10	10	9	9	9	8	8
2	16	15	14	15	14	12	14	16	15
3	14	14	13	13	13	12	11	15	11
4	9	14	11	10	14	11	10	11	10
5	15	13	13	13	14	13	13	13	13
6	11	16	12	14	15	13	11	14	12

Animal	ETCO ₂								
	MIV			MEP _T			MEP _P		
	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}
1	36	34	37	35	35	37	36	36	35
2	34	33	35	37	36	36	36	36	36
3	34	29	33	35	33	33	34	32	32
4	36	34	36	35	34	34	35	35	36
5	35	35	36	35	36	37	36	37	36
6	35	33	34	34	34	35	36	32	34

Apêndice II.VIII. Valores de potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de dióxido de carbono (PaCO_2 ; mmHg) e oxigênio (PaO_2 ; mmHg) no sangue arterial, íons bicarbonato (HCO_3^- ; mmol/L) e déficit de base (BE; mmol/L) registrados em seis cães anestesiados com concentrações equipotentes de isoflurano (1 CAM_{ISO}) antes ($\text{CAM}_{\text{basal}}$) e após 2,5 ($\text{CAM}_{2,5}$) e 5 ($\text{CAM}_{5,0}$) horas da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_T e MEP_P)

Animal	pH								
	MIV			MEP_T			MEP_P		
	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$
1	7,376	7,369	7,384	7,377	7,374	7,383	7,373	7,373	7,399
2	7,351	7,372	7,359	7,365	7,371	7,374	7,362	7,362	7,373
3	7,364	7,401	7,395	7,376	7,385	7,410	7,350	7,350	7,375
4	7,381	7,366	7,385	7,366	7,384	7,387	7,407	7,407	7,405
5	7,378	7,384	7,388	7,373	7,380	7,383	7,371	7,371	7,396
6	7,363	7,358	7,393	7,383	7,380	7,386	7,366	7,366	7,385
Animal	PaCO_2								
	MIV			MEP_T			MEP_P		
	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$
1	35,2	35,9	39,4	36,9	38,6	37,3	34,6	35,9	33,3
2	35,5	32,5	37,0	36,5	39,9	40,2	35,3	37,1	36,8
3	30,7	29,2	32,4	34,8	33,3	32,6	34,7	31,6	31,4
4	35,6	36,5	35,3	36,1	33,3	36,7	33,1	33,0	35,7
5	37,5	37,4	39,1	35,8	36,6	37,1	32,2	36,1	34,6
6	35,4	34,0	35,4	34,5	35,9	36,6	34,6	31,0	34,5
Animal	PaO_2								
	MIV			MEP_T			MEP_P		
	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$
1	529,0	485,6	509,4	493,7	489,5	491,0	522,0	524,8	528,5
2	495,2	463,2	459,5	486,1	486,3	503,6	493,0	505,1	494,5
3	498,1	551,0	485,1	531,0	520,5	529,1	545,3	511,6	532,8
4	515,2	537,9	522,1	501,9	516,4	506,1	496,8	530,5	525,4
5	518,8	516,9	497,7	502,1	476,3	482,3	493,8	514,6	466,0
6	530,2	502,4	544,8	526,3	551,8	516,8	521,2	498,7	524,9
Animal	HCO_3^-								
	MIV			MEP_T			MEP_P		
	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$
1	21,3	21,1	23,2	21,9	22,3	22,4	20,9	21,0	21,6
2	20,1	20,1	21,1	21,2	22,7	23,0	20,6	20,9	21,6
3	19,1	19,6	21,1	21,1	21,0	21,9	19,2	19,3	20,0
4	21,6	21,2	21,7	21,1	19,8	22,4	22,0	21,4	22,9
5	22,2	22,5	23,3	21,3	21,9	22,3	19,9	22,0	22,0
6	20,7	20,0	22,2	21,2	21,7	22,0	20,6	20,2	21,4
Animal	BE								
	MIV			MEP_T			MEP_P		
	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$	$\text{CAM}_{\text{basal}}$	$\text{CAM}_{2,5}$	$\text{CAM}_{5,0}$
1	-4,0	-4,2	-1,7	-3,2	-2,7	-2,7	-4,5	-4,4	-3,6
2	-5,5	-5,5	-4,3	-4,1	-2,3	-1,9	-4,8	-4,5	-3,5
3	-6,7	-6,2	-4,3	-4,3	-4,4	-3,3	-6,7	-6,6	-5,6
4	-3,6	-4,1	-3,5	-4,2	-5,4	-2,7	-3,2	-3,8	-2,1
5	-2,9	-2,5	-1,5	-4,0	-3,2	-2,7	-5,7	-3,1	-3,1
6	-4,8	-5,6	-2,9	-4,1	-3,5	-3,1	-4,9	-5,4	-3,8

Apêndice II.IX. Valores de temperatura corpórea (T; °C) registrados em seis cães anestesiados com concentrações equipotentes de isoflurano (1 CAM_{ISO}) antes (CAM_{basal}) e após 2,5 (CAM_{2.5}) e 5 horas (CAM_{5.0}) da administração de 0,5 mg/kg de metadona pela via intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_T e MEP_P)

Animal	T								
	MIV			MEP _T			MEP _P		
	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}	CAM _{basal}	CAM _{2.5}	CAM _{5.0}
1	38,2	38,1	38,1	38,1	38,1	38,1	38,1	38,1	38,1
2	38,1	38,2	38,2	38,1	38,2	38,2	38,1	38,1	38,1
3	38,0	38,1	38,2	38,1	38,2	38,1	38,2	38,1	38,2
4	38,1	38,1	38,2	38,2	38,1	38,1	38,0	38,2	38,1
5	38,2	38,3	38,1	38,1	38,1	38,2	38,0	38,3	38,1
6	38,1	38,1	38,1	38,0	38,1	38,1	38,2	38,1	38,1

Apêndice II.X. Intervalos de tempo entre o término da anestesia inalatória com isoflurano e a extubação, adoção de decúbito esternal e adoção de posição quadrupedal (min) registrados em seis cães submetidos à administração intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_T e MEP_P) de 0,5 mg/kg de metadona

Animal	Extubação		
	MIV	MEP _T	MEP _P
1	11	10	12
2	10	5	12
3	8	5	8
4	13	8	9
5	9	7	14
6	10	8	6

	Esteral		
	MIV	MEP _T	MEP _P
1	11	10	12
2	10	5	12
3	19	16	19
4	14	8	9
5	9	7	14
6	10	8	6

	Quadrupedal		
	MIV	MEP _T	MEP _P
1	12	14	14
2	12	10	15
3	31	34	37
4	14	16	14
5	14	9	20
6	12	11	9

Apêndice II.XI. Horário de início (horas:minutos; am) e duração da anestesia (horas) de seis cães empregados no estudo, os quais foram submetidos à administração intravenosa (tratamento MIV) ou peridural (tratamentos MEP_T e MEP_P) de 0,5 mg/kg de metadona

Animal	Horário de início das anestésias		
	MIV	MEP _T	MEP _P
1	8:11	7:35	8:09
2	7:55	7:39	7:36
3	8:05	7:40	7:17
4	7:49	7:53	7:47
5	7:42	7:37	7:38
6	8:03	7:59	7:57
	Duração da anestésias		
	MIV	MEP _T	MEP _P
1	7,2	7,6	7,0
2	7,9	7,8	7,5
3	7,0	7,3	7,8
4	7,2	7,5	7,5
5	8,4	8,1	7,1
6	7,7	7,5	7,8

APÊNDICE III (Capítulo 3)

Apêndice III.I. Escore de condição corporal empregado no período de seleção dos animais (Edney & Smith, 1986)

Escore	Condição Corporal
1	Caquético
2	Magro
3	Ideal
4	Sobrepeso
5	Obeso

Apêndice III.II. Características demográficas [peso (g), idade (anos), raça, se a cadela era castrada (sim ou não), qual a cadeia mamária submetida à cirurgia (direita ou esquerda), diâmetro do maior tumor (cm)] das 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical e distribuídas nos grupos MIV (metadona intravenosa; n=10) e MEP (metadona peridural; n=10)

MIV						
Animal	Peso	Idade	Raça	Castada?	Cadeia operada	Diâmetro do maior tumor
1	21,8	13	PA	NÃO	DIREITA	5,0
2	36,5	9	LABRADOR	NÃO	ESQUERDA	3,0
3	31,5	10	SRD*	SIM	DIREITA	4,5
4	15,0	7	SRD	SIM	ESQUERDA	4,5
5	28,3	8	SRD	SIM	DIREITA	3,5
6	23,5	13	SRD	SIM	ESQUERDA	1,7
7	22,0	9	AKITA	NÃO	ESQUERDA	4,5
8	10,3	10	SRD	SIM	DIREITA	2,5
9	21,7	16	SRD	SIM	ESQUERDA	6,0
10	15,9	8	SRD	SIM	ESQUERDA	2,0
MEP						
Animal	Peso	Idade	Raça	Castada?	Cadeia operada	Diâmetro do maior tumor
1	20,3	12	AKITA	NÃO	ESQUERDA	4,8
2	7,4	10	SRD	NÃO	DIREITA	1,8
3	45,0	10	DOGUE ALEMÃO	NÃO	ESQUERDA	1,5
4	25,0	11	BOXER	NÃO	DIREITA	3,5
5	15,0	10	SRD	SIM	DIREITA	0,5
6	17,8	8	DOBERMAN	NÃO	ESQUERDA	4,0
7	28,7	9	BOXER	SIM	ESQUERDA	8,0
8	24,3	9	SETTER	SIM	ESQUERDA	5,0
9	31,0	8	LABRADOR	NÃO	ESQUERDA	5,0
10	8,3	10	SRD	NÃO	DIREITA	2,5

* SRD = sem raça definida.

Apêndice III.III. Extensão (cm) estimada no período pré-operatório para a introdução do cateter peridural de forma que sua extremidade distal atingisse a quarta vértebra lombar (L₄), local de punção (S = vértebra sacral; L = vértebra lombar) e altura atingida pelo cateter peridural no exame radiográfico realizado no período pós-operatório de 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical e distribuídas nos grupos MIV (metadona intravenosa; n=10) e MEP (metadona peridural; n=10)

MIV			
Animal	Extensão estimada para atingir L4	Local da punção	Altura atingida pelo cateter peridural
1	13,8	L7-S1	L6
2	12,5	FALHA	FALHA
3	12,5	L7-S1	L4
4	9,5	L7-S1	L4
5	13,0	L7-S1	L4
6	12,0	L7-S1	L4
7	13,0	L7-S1	L5
8	8,5	L7-S1	L4
9	11,5	L7-S1	DESL
10	10,5	L7-S1	L4
MEP			
Animal	Extensão estimada para atingir L4	Local da punção	Altura atingida pelo cateter peridural
1	11,5	L7-S1	L4
2	8,6	L7-S1	L4
3	17,0	L7-S1	L4
4	11,0	L6-L7	L3
5	10,0	L7-S1	L4
6	12,5	L7-S1	L4
7	11,5	L7-S1	L4
8	13,0	L7-S1	L4
9	11,5	L7-S1	L4
10	7,0	DESL	DESL

FALHA: falha na introdução do cateter.

DESL: deslocamento do cateter peridural antes da confirmação radiográfica.

Apêndice III.IV. Dose de propofol (mg/kg) necessária para a intubação, taxa de fluidoterapia (mL/kg/h) administrada durante o período intra-operatório, intervalo de tempo (min) entre a administração intravenosa ou peridural de metadona e o início da cirurgia (MET-CIR; min), duração da cirurgia (min), duração da anestesia (min) e valores médios de concentrações expiradas de isoflurano (ET_{ISO}) empregadas durante as etapas de “divulsão” e “sutura” do procedimento cirúrgico, em 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical e distribuídas nos grupos MIV (metadona intravenosa; n=10) e MEP (metadona peridural; n=10)

MIV							
Animal	Dose propofol	Taxa Fluido	Intervalo MET-CIR	Duração da cirurgia	Duração da anestesia	ETISO	
						Divulsão	Sutura
1	5,0	10,5	37	46	162	1,5	1,3
2	5,5	9,7	36	50	188	1,3	1,2
3	5,1	11,7	32	42	154	1,4	1,2
4	7,3	9,7	34	53	165	1,6	1,4
5	5,7	9,5	40	48	161	1,5	1,4
6	5,1	10,1	40	50	154	1,6	1,9
7	5,9	9,4	43	53	165	1,4	1,4
8	7,8	12,7	40	50	165	2,3	2,2
9	6,9	9,9	36	54	142	1,4	1,3
10	7,5	9,5	36	52	154	1,7	1,5

MEP							
Animal	Dose propofol	Taxa Fluido	Intervalo MET-CIR	Tempo cirúrgico	Tempo anestésico	ETISO	
						Divulsão	Sutura
1	5,9	17,0	34	47	140	1,6	1,3
2	8,1	10,0	40	45	158	1,5	1,1
3	5,8	10,2	41	51	186	1,0	0,9
4	3,6	9,9	42	50	158	1,4	1,3
5	7,0	9,2	38	52	175	2,0	1,7
6	7,1	10,0	45	47	175	1,7	1,7
7	4,9	9,7	38	58	151	1,7	1,7
8	7,8	9,8	37	44	172	1,7	1,7
9	5,8	10,0	38	52	176	1,5	1,3
10	7,2	9,0	34	62	152	1,9	1,8

Apêndice III.V. Valores basais (antes da administração da metadona) e valores máximos (Max) e mínimos (Min) após a administração da metadona de frequência cardíaca (FC; bpm) e pressões arteriais sistólica, média e diastólica (PAS, PAM e PAD; mmHg) registrados durante o período intra-operatório das 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical e tratadas de forma preemptiva com metadona intravenosa (Grupo MIV; n=10) ou peridural (Grupo MEP; n=10)

MIV												
Animal	FC			PAS			PAM			PAD		
	Antes Met. (Basal)	Após Met.		Antes Met. (Basal)	Após Met.		Antes Met. (Basal)	Após Met.		Antes Met. (Basal)	Após Met.	
		Max	Min		Max	Min		Max	Min		Max	Min
1	83	44	35	108	143	110	69	92	65	54	73	50
2	95	56	40	135	125	109	95	78	61	82	59	49
3	118	127	56	86	173	83	62	120	50	51	98	37
4	99	100	40	99	134	95	63	73	56	49	56	41
5	78	51	42	100	137	117	66	80	62	56	68	50
6	87	52	32	133	184	122	74	87	59	61	68	46
7	92	51	42	95	128	95	68	78	64	58	63	49
8	83	89	40	133	160	116	76	83	63	59	66	47
9	120	75	48	96	136	90	63	72	50	53	61	38
10	72	61	32	111	144	110	64	80	60	53	67	49
MEP												
Animal	FC			PAS			PAM			PAD		
	Antes Met. (Basal)	Após Met.		Antes Met. (Basal)	Após Met.		Antes Met. (Basal)	Após Met.		Antes Met. (Basal)	Após Met.	
		Max	Min		Max	Min		Max	Min		Max	Min
1	84	100	60	129	127	90	70	80	55	50	68	42
2	82	70	54	101	125	98	62	83	53	48	69	39
3	103	96	54	85	122	70	68	80	55	59	67	48
4	96	92	80	84	128	84	62	90	62	53	74	50
5	153	139	67	136	164	130	85	112	81	63	90	62
6	60	64	48	100	145	100	60	85	59	50	70	47
7	89	89	68	94	124	94	64	80	66	54	62	53
8	89	80	56	98	125	101	71	80	69	60	62	54
9	125	112	75	105	147	104	73	77	62	60	63	51
10	92	88	75	95	127	95	61	85	61	49	69	48

Apêndice III.VI. Valores máximos (Max) e mínimos (Min) de concentração expirada de CO₂ (ETCO₂; mmHg), potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de CO₂ (PaCO₂; mmHg) e O₂ (PaO₂; mmHg) no sangue arterial, íons bicarbonato (HCO₃⁻; mmol/L) e temperatura corpórea (T; °C) registrados durante o período intra-operatório das 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical e tratadas de forma preemptiva com metadona intravenosa (Grupo MIV; n=10) ou peridural (Grupo MEP; n=10)

MIV												
Animal	ETCO ₂		pH		PaCO ₂		PaO ₂		HCO ₃ ⁻		T	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min
1	39	33	7,41	7,33	40,0	32,8	390,7	328,2	21,4	19,5	37,4	37,1
2	39	33	7,39	7,36	37,4	35,2	457,1	371,0	22,2	20,8	37,2	37,1
3	38	30	7,39	7,34	38,0	34,8	439,3	389,4	21,8	20,4	37,2	36,3
4	36	32	7,36	7,33	34,0	31,0	412,0	393,4	18,8	18,0	38,5	38,0
5	36	30	7,36	7,34	34,6	31,6	391,0	364,8	18,7	18,2	37,9	37,6
6	37	33	7,36	7,34	34,1	35,3	473,1	414,8	19,9	19,4	37,2	36,7
7	35	32	7,36	7,33	32,6	30,8	516,4	448,0	19,3	18,4	37,5	37,3
8	38	33	7,34	7,33	38,8	31,2	360,2	334,0	18,0	16,0	38,2	37,1
9	37	32	7,39	7,34	39,9	32,9	430,9	402,5	21,1	19,6	37,8	37,1
10	37	32	7,44	7,40	34,8	31,7	487,4	403,1	22,7	22,0	37,9	37,1

MEP												
Animal	ETCO ₂		pH		PaCO ₂		PaO ₂		HCO ₃ ⁻		T	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min
1	38	25	7,36	7,33	34,0	28,2	404,8	347,1	18,2	16,1	37,1	36,4
2	38	33	7,38	7,33	39,6	32,1	445,5	373,1	21,6	19,8	38,5	37,3
3	38	35	7,40	7,38	38,5	34,7	428,8	377,1	23,4	21,7	37,2	36,9
4	38	34	7,37	7,35	39,2	36,9	397,1	320,6	21,7	20,8	37,1	36,9
5	38	28	7,36	7,34	37,8	34,4	431,0	338,9	20,0	18,5	38,1	37,8
6	38	33	7,40	7,38	36,0	32,1	485,1	302,2	22,7	21,3	38,0	37,1
7	37	34	7,38	7,35	36,3	32,3	415,4	351,0	21,0	20,1	38,2	37,4
8	38	33	7,36	7,35	35,8	32,5	448,7	395,1	20,6	19,0	37,7	37,2
9	38	33	7,39	7,33	37,9	33,4	428,9	364,0	21,6	19,6	38,3	37,7
10	37	33	7,39	7,36	35,0	30,7	350,9	402,8	20,3	19,6	38,4	37,4

Apêndice III.VII. Escores de sedação (EAV; 0 a 10 cm) registrados no período pré-operatório (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10) em 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical

EAV									
MIV									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	0,0	2,6	1,1	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3	0,0	8,2	2,0	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	0,0	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	0,0	7,2	3,4	1,2	2,5	1,6	0,0	0,0	0,0
7	0,0	5,8	2,2	0,0	1,6	1,5	1,5	0,0	0,0
8	0,0	7,9	0,0	0,0	0,0	1,6	0,0	0,0	0,0
9	0,0	4,0	0,9	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,0	7,1	2,2	0,0	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0
MEP									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	0,0	2,5	1,9	1,3	0,9	0,9	0,8	0,0	0,0
2	0,0	2,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0
3	0,0	5,0	1,4	2,0	0,9	0,9	0,0	0,0	0,0
4	0,0	6,9	5,0	3,0	1,2	0,5	0,0	0,0	0,0
5	0,0	6,7	2,5	0,7	0,8	0,8	0,8	0,0	0,0
6	0,0	7,0	2,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
7	0,0	9,4	7,3	7,4	1,5	0,5	0,0	0,0	0,0
8	0,0	3,7	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
9	0,0	3,3	1,3	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,0	3,2	1,4	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	**

** o escore de sedação foi descartado, pois o animal apresentou deslocamento do cateter peridural e às 12 horas foi necessária a aplicação de resgate analgésico, o qual foi realizado pela via intravenosa.

Apêndice III.VIII. Escores de dor (Escala de Glasgow modificada / EGM; 0 a 10 pontos) registrados no período pré-operatório (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10) em 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical

EGM									
MIV									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	0,91	1,56	2,55	2,55	2,33	3,12	3,12	2,33	3,16
2	0,08	2,30	2,05	1,13	0,95	0,95	0,95	2,33	2,32
3	1,13	*	4,03	3,11	3,41	3,11	3,11	2,32	0,08
4	0,08	2,81	4,55	3,38	3,38	2,5	4,55	2,51	1,46
5	0,08	2,64	2,64	4,20	3,45	2,32	2,86	2,32	1,76
6	0,95	*	2,66	4,31	4,31	3,11	3,11	3,12	2,33
7	1,02	*	3,47	4,28	3,43	2,04	2,55	4,55	1,76
8	0,91	*	2,59	4,29	4,29	1,74	3,12	4,28	2,29
9	1,78	2,00	1,74	1,74	2,33	2,33	2,33	1,54	0,95
10	0,08	*	3,41	5,78	2,93	2,24	4,58	1,45	0,08
MEP									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	0,08	0,87	1,70	0,87	0,87	0,87	1,74	2,32	1,45
2	0,08	0,87	1,74	2,43	3,17	2,04	4,59	1,25	0,95
3	0,08	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	2,07	1,25	0,95
4	0,08	*	*	0,87	2,07	0,95	2,00	0,95	0,08
5	0,08	*	1,02	0,95	2,15	0,95	2,62	2,32	2,32
6	1,02	*	2,07	0,08	0,95	0,95	0,95	4,06	1,74
7	0,08	*	*	*	2,33	2,33	3,18	3,15	1,45
8	0,95	1,74	1,74	1,74	1,74	1,74	0,95	1,76	1,76
9	1,78	2,83	2,57	1,74	1,78	1,78	1,78	1,78	3,15
10	0,08	2,05	0,87	2,24	0,87	0,89	2,94	4,05	**

* O escore de dor não foi mensurado neste momento, pois o EAV de sedação se encontrava acima de 5 cm; ** escore de dor foi descartado, pois o animal apresentou deslocamento do cateter peridural e às 12 horas foi necessária a aplicação de resgate analgésico, o qual foi realizado pela via intravenosa.

Apêndice III.IX. Limiares nociceptivos mecânicos (LNM; gramas) registrados na cadeia mamária não operada (segmentos torácico, abdominal e inguinal) no período pré-operatório (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10) em 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical

LNM da cadeia mamária não operada									
MIV									
Segmento Torácico									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	367,9	812,5	728,6	800,0	800,0	652,8	379,4	654,9	515,2
2	293,0	423,6	423,6	667,3	595,2	635,5	800,0	800,0	610,0
3	207,2	640,0	506,0	800,0	800,0	800,0	800,0	510,6	278,6
4	109,7	800,0	185,0	412,0	200,2	172,9	198,5	393,6	393,6
5	573,5	766,6	800,0	800,0	800,0	800,0	683,0	800,0	717,3
6	196,7	800,0	800,0	800,0	366,6	800,0	507,5	287,3	173,1
7	408,2	516,1	731,2	371,5	713,4	606,7	800,0	800,0	800,0
8	121,8	800,0	800,0	553,5	800,0	458,3	800,0	525,3	636,4
9	248,8	302,5	556,9	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	329,9
10	148,4	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	763,3	585,3	292,3
Segmento Abdominal									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	366,7	800,0	800,0	800,0	800,0	533,7	799,6	689,5	441,6
2	168,6	800,0	800,0	800,0	640,4	800,0	800,0	800,0	776,6
3	251,7	429,7	325,3	800,0	800,0	800,0	800,0	335,4	253,0
4	130,9	222,9	191,4	111,1	123,8	65,4	59,0	132,1	132,1
5	324,4	286,7	800,0	640,6	618,7	800,0	800,0	628,8	417,6
6	133,0	800,0	601,3	700,9	427,6	800,0	561,4	307,1	145,2
7	355,6	413,6	562,5	360,4	423,9	490,7	282,1	333,6	530,3
8	105,4	422,7	719,3	523,1	800,0	101,3	242,1	265,3	103,9
9	237,7	183,0	660,1	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	222,4
10	144,8	800,0	708,4	212,3	645,7	716,9	218,3	199,7	128,4
Segmento Inguinal									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	455,1	800,0	800,0	800,0	620,2	587,4	800,0	638,8	198,5
2	152,3	800,0	800,0	800,0	653,3	800,0	800,0	800,0	800,0
3	251,0	412,1	418,3	800,0	800,0	800,0	697,0	702,2	369,7
4	155,9	207,5	125,4	160,0	121,0	83,5	91,5	197,5	197,5
5	549,0	315,6	800,0	621,5	748,1	800,0	800,0	800,0	742,1
6	145,5	711,4	442,2	337,6	184,4	800,0	690,8	492,0	219,6
7	274,2	275,8	391,8	277,0	789,8	501,7	313,7	451,7	180,2
8	102,6	154,0	407,3	464,3	481,1	312,2	525,1	207,3	85,9
9	147,0	257,9	710,1	668,7	544,7	800,0	800,0	800,0	241,5
10	123,4	367,7	497,2	614,7	514,6	739,7	428,1	638,2	392,4

Apêndice III.X. Limiares nociceptivos mecânicos (LNM; gramas) registrados na cadeia mamária não operada (segmentos torácico, abdominal e inguinal) no período pré-operatório (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10) em 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical

LNM da cadeia mamária não operada									
MEP									
Segmento Torácico									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	321,1	800,0	800,0	755,2	800,0	800,0	800,0	800,0	471,4
2	189,8	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	177,6
3	561,5	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0
4	332,4	800,0	800,0	800,0	800,0	753,5	800,0	800,0	482,3
5	121,8	800,0	800,0	429,9	556,0	553,7	169,3	177,8	159,2
6	231,6	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	544,7	800,0	800,0
7	220,9	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	326,5
8	313,1	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	484,2
9	257,4	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	669,3	307,5
10	266,3	800,0	607,4	541,4	404,4	450,0	351,1	231,6	**
Segmento Abdominal									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	452,6	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	772,7	302,3	422,4
2	223,6	777,3	599,3	383,8	727,0	657,0	448,9	390,4	136,7
3	690,0	800,0	800,0	800,0	756,1	800,0	800,0	800,0	800,0
4	305,9	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	709,3	553,8
5	106,8	800,0	800,0	800,0	713,3	175,4	132,7	141,5	110,7
6	182,5	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	377,3
7	193,8	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	735,7	202,6
8	325,6	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	723,5	800,0	355,0
9	227,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	626,0	162,9
10	262,5	800,0	784,5	687,8	270,1	504,5	287,8	231,6	**
Segmento Inguinal									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	649,0	800,0	800,0	800,0	744,1	754,5	753,3	731,8	530,5
2	152,8	800,0	500,8	800,0	739,0	800,0	659,1	364,0	83,8
3	511,2	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	625,1
4	273,3	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	391,7
5	74,7	800,0	710,0	800,0	723,5	306,1	145,6	199,8	128,3
6	178,3	800,0	800,0	800,0	762,8	702,7	800,0	800,0	272,6
7	191,6	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	642,7	766,5
8	290,8	800,0	800,0	800,0	800,0	711,0	800,0	734,4	297,5
9	331,3	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	531,0	344,0
10	143,6	800,0	766,2	630,6	361,7	548,3	280,6	279,1	**

** limiar nociceptivo foi descartado, pois o animal apresentou deslocamento do cateter peridural e às 12 horas foi necessária a aplicação de resgate analgésico, o qual foi realizado pela via intravenosa.

Apêndice III.XI. Limiares nociceptivos mecânicos (LNM; gramas) registrados na cadeia mamária operada (segmentos torácico, abdominal e inguinal) no período pré-operatório (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10) em 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical

LNM da cadeia mamária operada									
MIV									
Segmento Torácico									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	435,1	557,9	373,7	435,3	521,3	536,3	502,8	318,3	346,3
2	228,8	457,1	457,1	379,3	340,2	289,2	281,1	800,0	393,3
3	255,5	330,2	197,1	575,5	337,0	637,2	359,4	297,2	258,6
4	116,3	800,0	413,2	120,3	668,9	153,7	283,9	47,5	47,5
5	459,5	287,2	381,3	317,2	786,0	479,1	629,9	616,0	628,4
6	270,1	606,4	209,6	225,0	295,5	466,8	383,5	223,3	112,7
7	438,8	270,0	143,5	392,6	155,9	171,6	147,6	253,3	46,1
8	182,5	478,8	800,0	634,1	330,3	229,5	515,8	19,7	95,8
9	431,6	109,2	101,3	729,1	591,3	800,0	800,0	800,0	293,7
10	126,9	198,9	87,1	133,3	363,7	320,4	52,3	392,0	210,4
Segmento Abdominal									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	239,8	616,0	360,9	351,9	448,8	257,3	332,9	244,1	248,4
2	258,9	800,0	800,0	716,9	391,6	762,5	532,0	800,0	397,3
3	196,4	406,8	355,0	462,2	800,0	427,5	800,0	474,9	302,8
4	107,6	334,0	206,6	77,4	82,9	66,4	106,7	89,8	89,8
5	219,2	263,4	552,1	699,5	800,0	800,0	800,0	800,0	341,1
6	148,8	570,3	268,4	207,8	97,5	800,0	215,7	148,0	67,7
7	394,2	209,8	157,4	148,6	189,7	116,5	46,6	247,4	25,3
8	93,0	147,2	295,1	524,6	75,1	662,8	189,5	80,5	93,3
9	138,0	122,6	88,6	800,0	687,0	800,0	701,4	800,0	491,7
10	121,6	475,0	205,4	212,3	448,7	607,5	249,8	147,7	146,5
Segmento Inguinal									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	429,8	589,0	569,7	744,6	722,6	750,7	800,0	490,3	259,3
2	168,0	800,0	800,0	800,0	571,6	800,0	800,0	800,0	800,0
3	212,8	667,2	461,2	800,0	800,0	800,0	800,0	669,4	418,4
4	82,2	157,5	490,7	80,7	133,9	133,8	316,0	97,1	97,1
5	421,4	399,9	800,0	800,0	790,3	800,0	800,0	800,0	712,3
6	117,5	566,2	343,2	490,5	388,0	800,0	259,4	382,6	275,7
7	303,2	453,8	235,1	430,2	143,6	342,8	244,3	373,4	189,6
8	115,8	208,6	133,4	196,2	152,0	428,9	186,5	147,5	84,1
9	166,3	222,1	226,2	663,4	575,1	800,0	800,0	800,0	215,8
10	97,3	491,0	345,1	579,7	717,9	425,9	106,2	332,4	187,5

Apêndice III.XII. Limiares nociceptivos mecânicos (LNM; gramas) registrados na cadeia mamária operada (segmentos torácico, abdominal e inguinal) no período pré-operatório (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10) em 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical

LNM da cadeia mamária operada									
MEP									
Segmento Torácico									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	299,3	800,0	800,0	532,4	775,0	391,3	424,6	381,5	424,8
2	325,6	510,3	466,1	503,1	333,2	379,0	305,2	404,0	281,7
3	664,8	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	722,2
4	340,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	320,4
5	98,3	800,0	464,0	453,3	170,7	157,1	163,5	140,6	159,8
6	274,4	800,0	292,7	367,9	691,9	413,6	270,1	501,0	357,7
7	207,4	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	634,0
8	347,5	800,0	800,0	800,0	471,5	327,0	513,6	352,2	98,9
9	275,2	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	747,4	423,7	264,6
10	158,0	800,0	524,4	369,9	194,4	326,7	172,9	74,3	**
Segmento Abdominal									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	687,6	800,0	779,7	553,2	639,7	539,1	800,0	427,7	469,2
2	340,6	800,0	703,6	800,0	608,7	666,9	593,2	800,0	254,0
3	355,6	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0
4	172,9	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	727,2	371,2
5	101,6	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	445,4	800,0	332,5
6	192,5	800,0	800,0	800,0	732,8	470,9	494,3	588,0	800,0
7	237,6	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	732,5	141,4
8	343,3	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	266,0
9	280,8	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	738,5	233,7
10	217,9	800,0	528,4	255,0	342,2	737,3	455,8	246,8	**
Segmento Inguinal									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	540,7	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	703,4	737,7
2	231,4	800,0	800,0	800,0	417,1	800,0	259,1	800,0	151,8
3	593,8	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	501,9
4	135,8	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	523,2
5	127,4	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	317,0	320,0	280,8
6	199,1	800,0	800,0	800,0	800,0	591,0	667,4	644,3	597,6
7	117,7	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	634,0
8	291,3	800,0	800,0	800,0	769,6	532,9	800,0	599,0	215,3
9	261,6	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	800,0	486,7	354,9
10	238,1	800,0	641,7	800,0	521,1	618,5	409,5	332,7	**

** limiar nociceptivo foi descartado, pois o animal apresentou deslocamento do cateter peridural e às 12 horas foi necessária a aplicação de resgate analgésico, o qual foi realizado pela via intravenosa.

Apêndice III.XIV. Escores de dor (escala de Glasgow modificada/EGM; 0 a 10 pontos) e limiares nociceptivos mecânicos (LNM; gramas) mensurado em 3 diferentes segmentos da cadeia mamária operada (torácico, abdominal e inguinal) registrados imediatamente antes e após o resgate analgésico com metadona (0,25 mg/kg) administrada pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10) em 20 cadelas tratadas de forma preemptiva com 0,5 mg/kg de metadona (intravenosa ou peridural) e submetidas à mastectomia unilateral radical

MIV								
Animal	Antes do Resgate				Após o Resgate			
	EGM	LNM			EGM	LNM		
		Torácica	Abdominal	Inguinal		Torácica	Abdominal	Inguinal
3	4,03	197,1	355	461,2	3,11	575,5	462,2	800,0
4	4,55	413,2	206,6	490,7	3,38	120,3	77,4	80,7
4	4,55	283,9	106,7	316,0	4,55	260,9	96,8	216,8
4	4,55	260,9	96,8	216,8	4,55	181,4	85,0	105,7
4	4,45	181,4	85,0	105,7	3,38	446,2	309,6	112,7
5	4,20	317,2	699,5	800,0	3,45	786,0	800,0	800,0
6	4,31	225,0	207,8	490,5	4,31	295,5	97,5	388,0
6	4,31	295,5	97,5	388,0	3,11	466,8	800,0	800,0
7	4,28	392,6	148,6	430,2	3,43	155,9	189,7	143,6
7	4,55	253,3	247,4	373,4	2,00	120,7	122,0	174,0
8	4,29	634,1	524,6	196,2	4,29	330,3	75,1	152,0
8	4,29	330,3	75,1	152,0	1,74	229,5	662,8	428,9
8	4,28	19,7	80,5	147,5	4,55	20,1	83,4	110,8
8	4,55	20,1	83,4	110,8	3,38	106,0	92,7	153,8
10	5,78	133,3	212,3	579,7	2,93	363,7	448,7	717,9
10	4,58	52,3	249,8	106,2	0,95	800,0	800,0	800,0
MEP								
Animal	Antes do Resgate				Após o Resgate			
	EGM	LNM			EGM	LNM		
		Torácica	Abdominal	Inguinal		Torácica	Abdominal	Inguinal
2	4,59	305,2	593,2	259,1	2,04	800	800	800
6	4,06	501,0	588,0	644,3	2,00	800	800	800
10	4,05	231,6	231,6	279,1	**	**	**	**

** limiar nociceptivo foi descartado, pois o animal apresentou deslocamento do cateter peridural e às 12 horas foi necessária a aplicação de resgate analgésico, o qual foi realizado pela via intravenosa.

Apêndice III.XV. Valores individuais de concentração plasmática de metadona mensurada antes (basal) e após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 12 horas da administração preemptiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10) em 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical

Concentração plasmática de metadona									
MIV									
Animal	Basal	1h	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h
1	ND	58,8	35,5	24,0	18,9	14,1	10,3	6,3	2,7
2	ND	93,6	63,0	37,0	28,2	22,2	14,8	9,3	3,6
3	ND	60,9	42,8	29,0	62,4	43,4	33,6	22,5	10,1
4	ND	52,7	31,7	18,8	38,6	23,5	14,6	9,6	39,4
5	ND	86,3	26,2	20,1	15,8	11,3	8,6	4,3	2,3
6	ND	74,5	43,1	28,7	20,6	45,3	69,2	28,1	10,9
7	ND	51,3	21,9	18,0	10,8	31,3	15,7	7,5	3,6
8	ND	28,7	21,0	16,9	10,2	34,0	48,7	20,0	6,1
9	ND	33,9	21,4	15,6	9,3	6,9	6,7	3,1	1,8
10	ND	41,8	24,3	15,6	10,1	23,1	15,9	8,8	8,6
MEP									
Animal	Basal	1h	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h
1	ND	25,7	17,1	12,2	9,1	7,6	7,0	4,9	4,0
2	ND	35,4	14,7	11,2	10,9	9,0	7,7	5,7	10,8
3	ND	44,6	20,6	18,8	14,5	12,1	11,9	8,5	6,8
4	ND	32,2	18,0	13,4	10,0	9,3	8,2	7,3	4,1
5	ND	39,5	36,2	23,7	15,0	14,3	8,6	4,9	3,5
6	ND	39,1	19,0	12,7	9,4	7,8	7,1	5,2	3,6
7	ND	32,7	17,9	12,5	7,6	8,3	10,3	9,9	6,5
8	ND	61,9	25,3	11,3	11,3	9,2	7,7	6,8	4,2
9	ND	62,6	31,7	24,7	21,1	19,7	16,0	13,0	6,4
10	ND	22,5	16,1	9,6	8,4	6,8	5,4	3,8	2,6

ND = não detectado (limite de detecção de 0,5 ng/mL).

Apêndice III.XVI. Valores de temperatura corpórea (T; °C) registrados no período pré-operatório (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração preemptiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; n=10) ou peridural (grupo MEP; n=10) (período pós-operatório) de 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical

MIV									
T									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	38,7	37,6	37,6	37,7	38,0	38,3	38	38,7	38,3
2	38,2	38,2	37,8	37,6	37,1	37,5	38,1	38,3	37,9
3	39,1	36,1	36,1	37,1	36,5	36,5	37,8	38,3	38,7
4	39,1	38,5	38,0	37,8	38,0	38,5	38,5	38,9	38,9
5	38,5	38,3	38,1	38,1	38,3	38,5	38,7	38,7	38,6
6	38,8	37,4	37,6	38,0	37,8	38,1	38,4	39,1	38,6
7	38,4	37,7	38,2	38,6	38,6	38,7	38,7	38,8	38,4
8	38,7	38,2	37,5	37,9	37,5	36,8	37,1	38,5	39,1
9	38,7	37,5	37,4	37,7	38,4	38,8	39,4	39,2	39,1
10	38,2	37,5	37,2	37,6	37,6	37,4	38,4	38,5	39,0

MEP									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	38,2	37,2	37,8	38,0	38,2	38,5	38,7	38,8	38,4
2	38,2	37,2	37,6	37,7	37,4	37,7	38,1	38,3	38,6
3	38,8	37,5	37,8	37,8	37,9	37,9	38,3	38,4	38,6
4	38,1	37,1	37,2	37,7	37,8	37,8	38,0	38,0	38,0
5	38,5	37,9	37,8	38,1	38,1	38,1	38,0	38,9	39,1
6	38,3	37,1	37,1	37,3	37,6	37,9	37,7	38,5	38,2
7	38,6	37,8	37,4	37,2	37,9	38,0	38,0	39,0	39,1
8	39,2	37,1	37,0	37,7	38,3	38,6	38,9	39,1	38,8
9	38,5	38,1	37,8	37,6	38,2	38,0	38,7	38,8	39,2
10	39,5	37,7	37,7	37,9	37,9	37,9	37,9	38,0	**

** limiar nociceptivo foi descartado, pois o animal apresentou deslocamento do cateter peridural e às 12 horas foi necessária a aplicação de resgate analgésico, o qual foi realizado pela via intravenosa.

Apêndice III.XVII. Valores de frequência respiratória (f , mov/min) registrados no período pré-operatório (basal) e após 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 e 24 horas da administração preemptiva de metadona pela via intravenosa (grupo MIV; $n=10$) ou peridural (grupo MEP; $n=10$) (período pós-operatório) de 20 cadelas submetidas à mastectomia unilateral radical

MIV									
f									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	68	60	32	28	40	28	36	64	60
2	52	184	184	180	136	96	96	132	124
3	32	28	24	28	28	28	36	32	24
4	40	140	172	96	84	88	56	120	104
5	40	40	42	56	32	28	40	40	60
6	52	24	24	28	24	36	40	60	80
7	72	16	26	82	60	80	80	88	88
8	24	20	26	52	40	24	36	48	28
9	24	28	28	28	28	28	42	28	32
10	24	12	24	28	36	24	20	28	32

MEP									
Animal	Basal	2h	3h	4h	5h	6h	8h	12h	24h
1	40	28	88	84	96	84	80	68	40
2	28	44	24	28	32	20	28	24	30
3	74	24	72	52	64	60	46	48	44
4	52	20	30	24	40	44	32	40	96
5	104	36	100	80	48	40	84	160	160
6	24	16	16	20	16	24	20	32	20
7	48	20	20	24	76	56	52	76	60
8	56	76	104	72	100	160	100	124	44
9	100	28	60	28	40	28	44	84	108
10	40	36	20	28	28	36	20	32	**

** limiar nociceptivo foi descartado, pois o animal apresentou deslocamento do cateter peridural e às 12 horas foi necessária a aplicação de resgate analgésico, o qual foi realizado pela via intravenosa.