



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Leonardo Sanches

Anestesia espinhal no lagarto *Iguana iguana* (Linnaeus, 1758).

São José do Rio Preto
2014

Leonardo Sanches

Anestesia espinhal no lagarto *Iguana iguana* (Linnaeus, 1758).

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração – Biologia Estrutural, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof. Dr . Luiz Henrique Florindo

São José do Rio Preto
2014

Sanches, Leonardo.

Anestesia espinhal no lagarto Iguana iguana (Linnaeus, 1758) /
Leonardo Sanches. -- São José do Rio Preto, 2014
71 f. : il., gráfs, tabs.

Orientador: Luiz Henrique Florindo

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Biologia. 2. Réptil. 3. Iguana-verde. 4. Anestesia animal.
5. Raquianestesia. 6. Lidocaína. 7. Medula espinhal. I. Florindo, Luiz
Henrique. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 598.1

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Leonardo Sanches

Anestesia espinhal no lagarto *Iguana iguana* (Linnaeus, 1758).

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração – Biologia Estrutural, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo.....
UNESP – São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Ricardo Guilherme D’Otaviano de Castro Vilani.....
PUCPR – Curitiba

Prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga.....
UNESP – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto
27 de março de 2014

Aos meus pais *Claudinei Sanches* e *Maria Conceição Serantoni Sanches*, à minha irmã *Aline Sanches*, e ao meu grande amigo *Ciro Alexandre Teixeira Cruvinel*, pelo amor, incentivo e apoio à minha educação, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, fonte de todo amor, toda a bondade, toda a misericórdia e todo o meu ser. Agradeço pela minha vida, minha saúde e por todas as minhas conquistas.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo**, pela oportunidade de realizar esse estudo, pela confiança em mim e no meu trabalho, pelos ensinamentos e orientações indispensáveis ao meu aprendizado, pelos puxões de orelha e pela amizade verdadeira que sempre levarei comigo. “Sou imensamente grato”.

Ao **Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos vertebrados (LZCV)** da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de São José do Rio Preto (UNESP/IBILCE), onde pude realizar esse trabalho, adquirir valiosos ensinamentos, viver novas experiências e descobrir novos horizontes.

Aos **iguanas** do LZCV, que foram meus aliados, amigos e companheiros. Não há palavras que possam expressar toda a minha gratidão e reconhecimento.

Aos **integrantes da comissão examinadora**, por terem aceitado prontamente o convite, pela análise do meu trabalho e pelas importantes considerações.

Ao meu amigo **Ciro Alexandre Teixeira Cruvinel**, pelo carinho, respeito, confiança, amizade, apoio e por todos os conselhos e orientações. Você sempre acreditou e investiu em mim e eu serei eternamente grato por isso. Nunca serei capaz de retribuir todo o bem que você já me fez, mais saiba que sempre estarei tentando. Esse trabalho tem o meu nome, mais é tão meu quanto seu. Te admiro muito meu amigo, e saiba que sempre estarei do seu lado como um amigo fiel, um irmão, um companheiro.

Aos meus amigos **Prof. Me. Rodrigo Storti Pereira, Prof. Dr. Alan Peres Ferraz de Melo, Profa. Dra. Tatiana Morosini de Andrade Cruvinel, Profa. Dra. Patricia Simone Leite Vilamaior, Ma. Renata Kerche Alvaides Sisto, Vinicius Araújo Armelin, Fabio Nascimento Franco, Gracila Heitor de Oliveira, Luciana Sousa Alves Queiroz, Maria Stella Fernandes**

Villela e Armando Diego Rigon Ribeiro, por terem me auxiliado e me orientado durante a elaboração deste trabalho. “Sem vocês não seria possível”.

Aos meus amados pais **Claudinei Sanches** e **Maria Conceição Serantoni Sanches** e a minha irmã **Aline Sanches**, por todo amor, respeito, incentivo e confiança. Sou infinitamente grato por todo investimento em minha educação. Vocês são meu maior exemplo de vida, caráter, competência e honestidade. “Amo vocês mais do que tudo.”

A minha grande amiga **Mariana Teodoro Teixeira**. Você foi minha amiga, minha irmã, minha mãe, meu carma, minha benção, meu estresse, minha paz, meu porto seguro, e muito mais. Muito eu devo a você e nada que eu escreva aqui pode descrever o quanto você foi importante para a realização deste trabalho e o quanto você é essencial na minha vida.

Aos meus amigos **Nágila Maiara Dinardi**, **Bruno Barros Furukava**, **Vitor Ianelli Tavares de Sá**, **Carlos Eduardo de Sousa**, **Maria Laura Martins** e a todos que cuidaram e dedicaram um pouco de seu tempo em prol dos iguanas utilizados neste estudo.

A todos os meus **amigos** e **familiares**. A minha felicidade é o reflexo do amor que recebo de vocês, e nada faria sentido se eu não tivesse vocês do meu lado.

Ao **Setor de Atendimento Clínico Cirúrgico de Animais Selvagens (SACCAS)** do Hospital Veterinário "Dr. Halim Atique" do Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP), responsável por grande parte do meu desenvolvimento profissional e pessoal. Um lugar onde pude aprender a amar, cuidar, zelar, respeitar e admirar toda forma de vida!

Aos professores **Dr. Classius de Oliveira** e **Dr. Sebastião Roberto Taboga**, pela disponibilização dos Laboratórios de Anatomia, e de Microscopia e Microanálise do IBILCE.

Ao **Hospital Veterinário "Dr. Halim Atique"** da UNIRP, pela disponibilização do Laboratório de Diagnóstico por Imagem e do Laboratório de Análises Clínicas, Microbiológicas e Histopatológicas.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da bolsa de mestrado.

"Não é o quanto fazemos, mas quanto amor colocamos naquilo que fazemos.

Não é o quanto damos, mas quanto amor colocamos em dar."

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

Ainda não foi descrito na literatura um protocolo para anestesia espinal em *Iguana iguana*. Porém essa técnica é amplamente empregada em mamíferos por evitar transtornos fisiopatológicos desencadeados pela anestesia geral. É obtida pela inoculação de um anestésico local em uma determinada área do canal medular, bloqueando temporariamente a inervação presente na região. Objetivou-se com este estudo desenvolver um protocolo anestésico para anestesia espinal em *Iguana iguana*. Dois espécimes foram utilizados durante a análise radiográfica da coluna vertebral. Em seguida, quatro animais foram eutanasiados para avaliação macroscópica do canal medular e para análises histológicas da medula espinal nas regiões pré-sacral, sacral e coccígea. Observou-se que a medula espinal estende-se até a extremidade da cauda, e que devido a outras características anatômicas do canal medular, bem como das vértebras pré-sacrais, sacrais e coccígeas, o local mais indicado para inoculação do anestésico é o espaço intervertebral presente entre a última vértebra pré-sacral e a primeira sacral. Posteriormente, oito indivíduos foram submetidos a dois tratamentos distintos. No grupo 1-Ig administrou-se solução salina e no grupo 2-Ig foi administrado cloridrato de lidocaína com hemitartrato de epinefrina na dose de 0,158 mg/cm, no espaço intervertebral pré-determinado. Os animais permaneceram $93,8 \pm 14,8$ min com ausência de resposta sensitiva aos estímulos dolorosos nos membros pélvicos e $98 \pm 13,7$ min de miorrelaxamento. Na cauda, o bloqueio sensitivo permaneceu durante $41,1 \pm 11$ min na região proximal, $11,9 \pm 7,9$ min na região média e $4,9 \pm 4,9$ min na região distal, não sendo possível comprovar se as respostas aos estímulos dolorosos foram reais ou um arco-reflexo. A temperatura corporal esteve dentro dos parâmetros “preferenciais” durante praticamente todo o experimento em ambos os grupos. A frequência cardíaca e a respiratória estiveram acima dos valores de repouso durante quase todo o período após-inoculação, provavelmente devido aos diferentes estímulos estressantes e/ou, no caso da frequência cardíaca, uma possível resposta compensatória à hipotensão promovida pela lidocaína. Apesar de se obter um bloqueio sensitivo e um miorrelaxamento satisfatório nos membros pélvicos, com mínimas alterações cardiorrespiratórias, não foi possível evitar o trauma medular durante a introdução da agulha, acarretando em monoplegia do membro pélvico esquerdo de quatro indivíduos e paraplegia em um indivíduo.

Palavras-chave: Anestesia espinal. *Iguana iguana*. Lidocaína. Medula espinal. Répteis.

ABSTRACT

In the literature, there is no protocol for spinal anesthesia in Iguana iguana. However, it is widely used in mammals with the purpose of avoid pathophysiological disorders that can be triggered by general anesthesia. Spinal anesthesia is achieved by the inoculation of a local anesthetic in a particular area of the medullary canal that temporarily blocks the neural pathways in this region. So, considering the lack of scientific information about this kind of anesthesia in reptiles, the objective of the present study was to develop a protocol of spinal anesthesia for the lizard Iguana iguana. Initially, two specimens were used for the radiographic examination of the spine, and then, four animals were euthanized for macroscopic evaluation of the spinal canal and for histological analyzes of the pre-sacral, sacral and coccygeal regions. It was observed that the spinal cord of these animals extends up to the end of the tail, and that due to other anatomical features of the spinal canal and of the pre-sacral, sacral and coccygeal vertebrae, the most suitable location for the anesthetic administration is the intervertebral space between the last pre-sacral and first sacral vertebrae. Subsequently, eight individuals were submitted to two different treatments: in the group 1-Ig isosmotic saline were administered at the previously determined intervertebral space, while in the group 2-Ig were administered lidocaine hydrochloride with epinephrine hemitartrate (0.158 mg/cm). The animals remained 93.8 ± 14.8 minutes with absence of sensory response to painful stimuli in the hind limbs, and 98 ± 13.7 minutes of myorelaxation. On the tail, the sensory blockade remained for 41.1 ± 11 minutes in the proximal, 11.9 ± 7.9 minutes in the central region and 4.9 ± 4.9 minutes in the distal region, although it was not possible to verify whether the responses to painful stimuli were real or derived from a reflex arc. The body temperatures were within the preferential temperature for almost all experiments. Heart rate and ventilatory rate exceeded the resting values during almost all the post-inoculatory period probably due to the various stressful stimuli and/or, in the case of heart rate, a baroreceptor reflex occurred in response to the hypotension elicited by lidocaine. Despite obtain a satisfactory sensory blockade as well as a myorelaxation of hindlimbs with minimal cardiorespiratory changes, it has not been possible to avoid spinal cord trauma during insertion of the needle for pharmacological administration, resulting in left pelvic limb monoplegia in four individuals, and paraplegia in one individual.

Keywords: Spinal anesthesia. Iguana iguana. Lidocaine. Spinal cord. Reptiles.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Amostras de 5 mm de espessura de cortes segmentados em vértebra pré-sacral. *I. iguana* adulto fêmea. (Fonte: Sanches, 2014). 29
- Figura 2 - Imagem ilustrativa (vista lateral) da introdução de agulha epidural no espaço pré-sacral/sacral (PS₉-S₁). *I. iguana* adulto macho. (Fonte: Sanches, 2014). 33
- Figura 3 - Imagem demonstrando a inoculação do fármaco no espaço pré-sacral/sacral (PS₉-S₁). *I. iguana* adulto fêmea. (Fonte: Sanches, 2014). 34
- Figura 4 - As imagens demonstram a avaliação das respostas sensitivas por pinçamento cutâneo em regiões de coxa (1), panturrilha (2) e pinçamento em falange (3) de membro pélvico esquerdo. *I. iguana* adulto fêmea. (Fonte: Sanches, 2014). 36
- Figura 5 - As imagens demonstram a avaliação das respostas sensitivas por pinçamento cutâneo em terço cranial (1), médio (2) e ponta (3) da cauda. *I. iguana* adulto fêmea. (Fonte: Sanches, 2014). 36
- Figura 6 - *I. iguana* adulto macho. Imagem radiográfica em projeção dorsoventral. Regiões pré-sacral, sacral e início da região caudal. (Fonte: Sanches, 2014). 38
- Figura 7 - *I. iguana* adulto fêmea. Imagem radiográfica em projeção dorso ventral. A coluna vertebral apresenta nove vértebras pré-sacrais (PS₉), duas vértebras sacrais (S₂) e sessenta vértebras coccígeas (C₆₀). (Fonte: Sanches, 2014). 39
- Figura 8 - Corte transversal da oitava vértebra (V) pré-sacral. Medula espinhal (M) situada dentro do canal vertebral. A mesma apresenta coloração esbranquiçada e formato cilíndrico-triangular. Destaca-se a aracnóide (A), localizada entre a medula espinhal e a dura-máter; e a dura-máter (D), revestindo mais externamente a medula espinhal. Aumento de 2,5X. (Fonte: Sanches, 2014). 40
- Figura 9 - Corte transversal da oitava vértebra pré-sacral, evidenciando os espaços epidural (EE), subaracnóideo (ESA), e a distância entre o perióstio da vértebra e a medula

espinhal (DPM) mensurada na região central do plano sagital mediano. Aumento de 2,5X. (Fonte: Sanches, 2014).....	41
Figura 10 - Corte transversal da setima vértebra pré-sacral em região articular. Não é possível evidenciar os espaços meníngeos. Aumento de 2,0X. (Fonte: Sanches, 2014).....	41
Figura 11 - Corte da medula espinhal de <i>I. iguana</i> jovem (fêmea) em terço médio da cauda. Observam-se a distribuição da substância branca (SB) na região periférica da medula espinhal e da substância cinzenta (SC) em região central. Coloração HE. Aumento de 10X. (Fonte: Sanches, 2014).....	42
Figura 12 - Corte da medula espinhal de <i>I. iguana</i> adulto macho, em terço cranial da região caudal. Observam-se as fibras nervosas (FN) e os núcleos das células da glia (CG) na substância branca. Coloração HE. Aumento de 20X. (Fonte: Sanches, 2014).	43
Figura 13 - Corte da medula espinhal de <i>I. iguana</i> jovem (macho). Observam-se corpos neuronais (CN), fibras nervosas (FN) e os núcleos das células da glia (CG) na substância cinzenta. Coloração HE. Aumento de 40X. (Fonte: Sanches, 2014)..	43
Figura 14 - Corte da medula espinhal de <i>I. iguana</i> jovem (macho) em extremidade do terço final da cauda. Observa-se a presença de substância branca (SB) e substância cinzenta (SC). Coloração HE. Aumento de 20X. (Fonte: Sanches, 2014).....	44
Figura 15 - <i>I. iguana</i> adulto macho. Imagem radiográfica em projeção latero-lateral. Vértebras pré-sacrais (PS), sacrais (S) e coccígeas (C). (Fonte: Sanches, 2014).	45
Figura 16 - Período (min) da ausência de resposta sensitiva nos membros pélvicos, região proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, nos grupos 0-Ig (determinação da dose) e 2-Ig (lidocaína). Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).	47
Figura 17 - Período (min) do miorelaxamento nos membros pélvicos. Grupos 0-Ig (determinação da dose) e 2-Ig (lidocaína). Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).	48

Figura 18 - Período (min) da ausência de resposta sensitiva nos membros pélvicos, região proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, nos grupos 1-Ig (controle) e 2-Ig (lidocaína). Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).....	50
Figura 19 - Período (min) do miorrelaxamento nos membros pélvicos. Grupos 1-Ig (controle) e 2-Ig (lidocaína). Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).....	53
Figura 20 - Temperatura corporal ($T_c - ^\circ\text{C}$) do grupo 1-Ig (controle) e grupo 2-Ig (lidocaína), monitorada 5 minutos antes da inoculação, durante (tempo 0) e 30 minutos após a inoculação. Não houve diferença significativa entre os grupos e durante todo o monitoramento. Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).....	54
Figura 21 - Frequência cardíaca ($f_H - \text{b.p.m.}$) do grupo 1-Ig (linha preta - controle) e grupo 2-Ig (linha vermelha - lidocaína), monitorada 5 minutos antes da inoculação, durante (tempo 0) e 30 minutos após a inoculação. O * representa o grupo 1-Ig e o $\ddagger$ representa o grupo 2-Ig, indicando que há diferença significativa quando comparada a f_H no minuto em que se realizou o estímulo doloroso com o minuto após o estímulo. Não há diferença significativa entre a f_H de ambos os grupos durante todo o monitoramento pós-inoculação. Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).....	57
Figura 22 - Frequência respiratória ($f_R - \text{m.p.m.}$) do grupo 1-Ig (linha preta - controle) e grupo 2-Ig (linha ivermelha - lidocaína), monitorada 5 minutos antes da inoculação, durante (tempo 0) e 30 minutos após a inoculação. O • indica que há diferença significativa quando comparada a f_R entre os dois grupos no referido minuto. O " representa o grupo 2-Ig, indicando que há diferença significativa quando comparada a f_R no minuto em que se realizou o estímulo doloroso com o minuto após o estímulo. Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).....	60

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Período (min) da ausência de resposta ao estímulo sensitivo e do miorrelaxamento nos membros pélvicos, região proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, após administração de 2mg/kg de cloridrato de lidocaína com hemitartrato de epinefrina no (grupo 0-Ig). Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). 47
- Tabela 2 - Período (min) da ausência de resposta ao estímulo sensitivo e do miorrelaxamento nos membros pélvicos, região proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, após administração de 0,158mg/cm de cloridrato de lidocaína com hemitartrato de epinefrina (grupo 2-Ig). Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). 48
- Tabela 3 - Período (min) da ausência de resposta ao estímulo sensitivo e do miorrelaxamento nos membros pélvicos, região proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, após administração de solução fisiológica à 0,9% (grupo 1-Ig). O volume corresponde ao de lidocaína para cada animal. Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). 49
- Tabela 4 - Período (min) da ausência de resposta ao estímulo sensitivo nas regiões proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, após administração de solução fisiológica à 0,9% nos oito animais (Animal 1 ao 8) do grupo 2-Ig..... 50

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A	Aracnóide
b.p.m.	Batimento por minuto
C	Vértebra coccígea
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CG	Célula da glia
cm	Centímetro
cm/CO-VC	Distância em centímetro entre o côndilo occipital e a primeira vértebra coccígea
CN	Corpo neuronal
CO	Côndilo occipital
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
D	Dura-máter
DPM	Distância entre o periósteo da vértebra e a medula espinhal
E.P.M.	Erro padrão médio
E.V.A.	Etil, Vinil e Acetato
ECG	Eletrocardiograma
EE	Espaços epidural
ESA	Espaço subaracnóideo
f_H	Frequência cardíaca
FN	Fibra nervosa
f_R	Frequência respiratória
HE	Hematoxilina e eosina
IBILCE	Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas
Ig	Iguana
KCl	Cloreto de potássio
Kv	Quilovoltagem
L	Vértebra lombar
$\mu\text{g/ml}$	Micrograma por mililitro
μm	Micrometro
M	Medula espinhal
m.p.m.	Movimentos por minuto
mA	Miliamperagem

mg	Miligrama
mg/cm	Miligrama por centímetro
mg/kg	Miligrama por quilograma
mg/PT	Miligrama por peso total
min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
n°	Número
°C	Grau Celsius
p	Nível de significância
PL	Período de latência
PS	Vértebra pré-sacral
Q ₁₀	Coeficiente de temperatura
R.D.	Região distal da cauda
R.M.	Região média da cauda
R.P.	Região proximal da cauda
S	Vértebra sacral
S.N.C.	Sistema nervoso central
SB	Substância branca
SC	Substância cinzenta
SP	São Paulo
T	Tempo/segundo
To	Vértebra torácica
T _c	Temperatura corporal
UNESP	Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
UNIRP	Centro Universitário de Rio Preto
V	Vértebra
X	Multiplicar
%	Porcentagem
*	Diferença estatística significativa entre a f_H do grupo 1-Ig no minuto em que se realizou o estímulo doloroso com o minuto após o estímulo
[]	Concentração do fármaco
±	Mais-menos
®	Marca registrada

- ‡ Diferença estatística significativa entre a f_H do grupo 2-Ig no minuto em que se realizou o estímulo doloroso com o minuto após o estímulo
- Diferença estatística significativa entre dois grupos em um determinado tempo.
- " Diferença estatística significativa entre a f_R do grupo 2-Ig no minuto em que se realizou o estímulo doloroso com o minuto após o estímulo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	Anestesia espinal	19
1.2	Anestésicos locais.....	22
1.3	Anestesia espinal em répteis.....	24
2	OBJETIVOS	26
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1	Amostragem.....	27
3.2	Análises prévias para o desenvolvimento da técnica anestésica	27
3.2.1	Análise radiográfica da coluna vertebral.....	27
3.2.2	Análise histológica da medula espinal	28
3.2.3	Avaliação macroscópica do canal medular	30
3.3	Desenvolvimento da técnica de anestesia espinal.....	31
3.3.1	Amostragem	31
3.3.2	Procedimento e técnica para anestesia espinal.....	31
3.3.3	Protocolo experimental	33
3.3.4	Adequação da dose utilizada.....	35
3.3.5	Avaliação do bloqueio sensitivo e miorelaxamento	35
3.4	Análises estatísticas	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	Determinação do sítio de inoculação por meio das análises complementares.....	38
4.1.1	Radiografia das regiões pré-sacral, sacral e caudal.....	38
4.1.2	Aspectos morfológicos do canal medular, medula espinal e meninges	39
4.1.3	Histologia da medula espinal	42
4.1.4	Sítio para a inoculação do fármaco	44
4.2	Abordagem aos espaços meníngeos	46
4.3	Determinação da dose	46
4.4	Anestesia Espinal	48
4.4.1	Avaliação do período de anestesia	48
4.5	Avaliação da temperatura corporal	53
4.6	Avaliação da frequência cardiorrespiratória	54
4.6.1	Frequência cardíaca.....	54
4.6.2	Frequência respiratória.....	57

4.7	Crítica ao método	60
5	CONCLUSÕES	62
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos os procedimentos clínico-cirúrgicos em répteis vem adquirindo grande importância, uma vez que a cada dia se tornam mais populares como animais de estimação (GREENE, 2004), além de várias espécies serem mantidos em zoológicos (READ, 2004). Consequentemente, a utilização de protocolos anestésicos nesses animais tornou-se mais rigorosa (CARREGARO et al., 2009).

A anestesia de forma eficaz pode ser um grande desafio, pois esses animais apresentam características anatômicas e fisiológicas únicas, bem como diferentes respostas perante a administração dos anestésicos (MOSLEY, 2005; SCHUMACHER; YELEN, 2006). Assim, deve-se conhecer a fisiologia do animal, a fisiopatologia em questão, a ação e a distribuição dos fármacos, além dos equipamentos anestésicos utilizados (MOSLEY, 2005).

Porém, são escassos os estudos e pesquisas voltados em determinar o período de indução e de manutenção das drogas anestésicas, a duração dos efeitos promovidos pelas doses utilizadas e os efeitos adversos potencialmente fatais relacionados com o anestésico, como a depressão cardiorrespiratória. Além disso, a falta de financiamento e apoio a esse tipo de pesquisa tem dificultado ainda mais o avanço científico, limitando a utilização de anestésicos nesses animais (SLADKY; MANS, 2012).

Como em todas as espécies não domésticas, a utilização de técnicas anestésicas seguras e eficientes em répteis é essencial durante o manejo clínico-cirúrgico. O emprego adequado de anestésicos facilitará a realização de exames físicos completos, a coleta de amostras e diagnóstico de alta qualidade, bem como a realização de procedimentos cirúrgicos bem sucedidos (SLADKY; MANS, 2012).

Ressaltando que condições consideradas dolorosas para seres humanos e outros mamíferos devem ser consideradas dolorosas em todas as espécies de vertebrados (SLADKY; KINNEY; JOHNSON, 2008), mesmo que os animais não expressem nenhuma reação durante a realização de procedimentos dolorosos (HEARD, 2001).

1.1 Anestesia espinhal

A anestesia espinhal não é citada de forma específica em répteis, porém sabe-se que é uma técnica muito utilizada na medicina humana e veterinária, pois proporciona menor grau de efeitos indesejáveis quando empregada adequadamente (CARVALHO, 2004).

É caracterizada por bloqueios centrais ou neuroaxiais, promovendo a interrupção da condução nervosa nas proximidades da medula espinhal ou em estruturas que envolvam a medula (KLAUMANN; OTERO, 2013). É obtida pela inoculação de anestésicos locais em uma determinada área do canal medular. O fármaco promove um bloqueio temporário na inervação presente no local da coluna vertebral onde foi introduzido, originando a perda de sensibilidade das fibras sensoriais e paralisia da região por inibição das fibras motoras (quando utilizadas soluções mais concentradas) (HALL; CLARKE; TRIM, 2001). Também é possível obter analgesia regional pela estimulação de alguns receptores específicos (SKARDA; MUIR III, 1996).

Há dois tipos de bloqueios centrais: o bloqueio epidural (anestesia epidural) e o bloqueio subaracnóideo (anestesia subaracnóidea) (KLAUMANN; OTERO, 2013).

A anestesia epidural é obtida pela administração de anestésicos locais no espaço epidural. Este espaço encontra-se entre o periósteo do canal vertebral e a dura-máter (INTELIZANO et al., 2002). Em mamíferos, ao introduzir o anestésico no espaço epidural, são atingidos os nervos espinhais que passam pelos forames intervertebrais, obtendo assim um bloqueio paravertebral múltiplo. Em seguida, há o bloqueio dos ramos nervosos e gânglios dentro do espaço epidural. Seletivamente, os anestésicos locais bloqueiam primeiramente as fibras nervosas pré-ganglionares autônomas (bloqueio simpático), em seguida as fibras térmicas, fibras sensoriais, fibras do tato, fibras de alta pressão, fibras motoras e por fim as fibras de sensibilidade vibratória e impulsos proprioceptivos. Ao depositar o fármaco no espaço epidural observar-se (em cães) a queda imediata da cauda, relaxamento do esfíncter anal com emissão de gases ou até exteriorização de fezes, paralisia de membros posteriores e uma possível incontinência urinária (MASSONE, 1994).

O sítio de inoculação do anestésico varia conforme a espécie animal e de acordo com o término da medula espinhal (HILBERY, 1992). Em cães, a medula espinhal e o espaço subaracnóideo terminam ao nível da última vértebra lombar (GRIMM, 2004), sendo o acesso epidural realizado geralmente na região lombossacra, ou seja, entre a última vértebra lombar e a primeira vértebra sacral (INTELIZANO et al., 2002). Já em gatos adultos, cervos e cavalos, a medula espinhal tem um crescimento maior, estendendo-se pelos segmentos sacrais. Nesses animais a anestesia epidural é realizada no espaço intervertebral sacrococcígeo, compreendido entre a última vértebra sacral e a primeira caudal (coccígea) (BERG, 1978). Em répteis, a medula espinhal se prolonga até o extremo da cauda, observando a ausência de estruturas como o filamento terminal e cauda equina (MADER, 1996). Segundo Romero (2000), em

Geochelone carbonaria a medula espinhal estende-se até a articulação da penúltima com a última vértebra coccígea.

Por meio dessa técnica é possível evitar os transtornos fisiopatológicos desencadeados pela anestesia geral (ALVAREZ, 2004), que apesar de ainda ser descrita como a técnica anestésica de eleição para répteis, promove depressão acentuada do sistema nervoso central (S.N.C.) (CARVALHO, 2004). Dispensa controle contínuo do anestesista, além de ser um método barato que pode ser empregado a campo (FIALHO, 1986). Quando administrado pela via epidural o anestésico sofre menor absorção, o que também contribui para a diminuição de efeitos sistêmicos desencadeados por esses fármacos (SKARDA, 1987). Em animais domésticos, pode ser utilizada em cirurgias retro-umbilicais como cesariana, ovariossalpingohisterectomia, redução de prolapsos, caudectomia, orquiectomia e osteossíntese nos membros pélvicos (GOODCHILD; SERRÃO, 1989).

As doses dos fármacos administrados por via epidural são mais elevadas que as recomendadas por via subaracnóidea. A aplicação inadvertida pode promover intoxicação, convulsão, depressão respiratória, apnéia e até parada cardíaca (FANTONI, 2012).

O acesso ao espaço subaracnóideo é utilizado na medicina veterinária com maior frequência para realização de procedimento diagnóstico. O anestésico é administrado geralmente nos espaços intervertebrais entre as últimas vértebras lombares (L₄, L₅, L₆ e L₇), evitando bloqueios altos que poderiam comprometer a mecânica respiratória (MASSONE, 1994). Os detalhes sobre a administração de anestésicos por esta via são pouco descritos em literatura, sendo considerada como um acidente no decorrer da anestesia epidural (KLAUMANN; OTERO, 2013). Além disso, por se tratar de uma técnica mais delicada e a área presente no espaço subaracnóideo ser de poucos milímetros (mm), é pouco utilizada em cães. Porém, promove um relaxamento superior ao produzido pela anestesia epidural, por agir diretamente ao nível das raízes nervosas espinhais (MASSONE, 1994).

Em mamíferos, durante a anestesia subaracnóidea (ou raquidiana), a agulha penetra a dura-máter e o fármaco é introduzido diretamente no líquido cefalorraquidiano (presente no espaço subaracnóideo) (HALL; CLARKE; TRIM, 2001), promovendo um bloqueio das fibras aferentes nociceptivas A-delta e C (raízes dorsais) envolvidas na dor. As fibras aferentes proprioceptivas e simpáticas (raízes dorsais) e as fibras motoras e simpáticas também são bloqueadas (COVINO; LAMBERT, 1993).

Apesar de delicada, essa técnica é recomendada para pacientes de alto risco, animais submetidos a cirurgias abdominais retro-umbilicais e que estejam de estômago repleto, ou em animais onde há necessidade de mantê-los acordados. É contra indicada em casos de

hipotenção arterial, estados de choque, convulsões, septicemias, choques hemorrágicos, meningites, anemias, hipovolemias, alterações anatômicas da coluna e em animais idosos (MASSONE, 1994).

1.2 Anestésicos locais

Anestesia local é classificada como um bloqueio reversível da condução nervosa, com perda das sensações sem alteração do nível de consciência (FERREIRA, 1999).

A molécula do anestésico local pode ser dividida em três partes: um grupamento amínico secundário ou terciário, um radical aromático e uma cadeia intermediária. O grupamento amínico confere às moléculas hidrossolubilidade. Já o radical aromático é responsável por conceder às moléculas propriedades lipofílicas, essenciais para a sua penetração nas fibras nervosas. Unindo essas duas partes, há uma cadeia intermediária que fornece a separação espacial necessária entre as extremidades lipofílica e hidrofílica, bem como a ligação química entre os dois grupamentos, servindo como base para a classificação dos anestésicos locais em ésteres ou amidas. A cadeia intermediária é de grande relevância, uma vez que há grandes diferenças no grau de alergenicidade, na potência e no metabolismo, quando comparamos os dois grupos de fármacos (TORTAMANO; ARMONIA, 2001).

Os efeitos promovidos pelos anestésicos locais são decorrentes da diminuição da permeabilidade das membranas celulares das fibras nervosas ao sódio (NATALINI, 2007a). Eles agem inibindo a passagem dos íons sódio através dos canais de sódio íons-seletivos nas membranas neuronais, bloqueando a condução nervosa. A falha na permeabilidade dos canais de sódio promove uma diminuição da taxa de despolarização, impedindo que o limiar de ação seja atingido e o potencial de ação propagado (STOELTING; HILLIER, 2007).

A potência dos anestésicos locais é determinada principalmente por sua lipossolubilidade, porém o tamanho da molécula e a hidrossolubilidade também apresentam grande importância, uma vez que a capacidade de se difundir no tecido depende da solubilidade em água (NATALINI, 2007a).

Em mamíferos, os efeitos tóxicos desencadeados pelos anestésicos locais mais destacados são a sonolência, tremores musculares, hipotensão, náuseas e vômitos (CORTOPASSI; FANTONI; BERNARDI, 2002). Porém esses efeitos tóxicos desencadeados por agentes anestésicos locais são raros (LEBLANC, 1990).

Os sinais mais comuns de toxicidade no S.N.C. são convulsões, coma e depressão respiratória (BALLER; HENDRICKSON, 2002).

Dentre os efeitos cardiovasculares, observa-se a vasodilatação periférica e a hipotensão desencadeada pelo miorelaxamento da musculatura lisa dos vasos sanguíneos. Quanto ao miocárdio, pode haver bradicardia ou outras arritmias, redução na despolarização, na contratilidade e no débito cardíaco (NATALINI, 2007a). Concentrações plasmáticas de lidocaína de 5 a 10 µg/ml podem resultar em hipotensão profunda pelo relaxamento da musculatura vascular e depressão direta do miocárdio (STOELTING; HILLIER, 2007).

Os efeitos respiratórios são diretamente relacionados à altura do bloqueio durante a anestesia espinal. Bloqueios altos podem promover uma respiração mais diafragmática. Em casos severos, pode atingir as raízes do nervo frênico e ocasionar parada respiratória. Esse fato geralmente está ligado à falha técnica ou sobredose do anestésico (MASSONE, 1994).

Os anestésicos locais do tipo amida são biotransformados pelo sistema microssomal hepático, por meio de uma hidroxilação e N-desalquilação do ácido aminocarboxílico. (GOULART; HAMAJI; KURIKI, 2005). Os metabólicos ou a droga *in natura* são excretados pelo rim (NATALINI, 2007a), porém sabe-se que a baixa solubilidade dos anestésicos locais em água limita sua excreção *in natura* a aproximadamente 5% (GOULART; HAMAJI; KURIKI, 2005).

A lidocaína (α -dietil-aminoacetato-2,6-xilidina) está disponível sob a forma de cloridrato. Quando utilizada em anestesia local tem rápido início, potência e duração moderadas e alto poder de penetração (MASSONE, 2003; VEERING, 1996), sendo limitada em cirurgias prolongadas, devendo associá-la a fármacos de longa duração quando necessário (CRUZ et al., 1997). Além de ser amplamente utilizada em anestésias loco-regionais, a lidocaína tem propriedades analgésicas quando administrada por via intravenosa, utilizando-a para obtenção de analgesia suplementar durante a anestesia geral (WU et al., 2002).

É o anestésico local mais utilizado na medicina veterinária (BOOTH, 1988). Em cães e gatos utiliza-se 1 ml de lidocaína a 2%, com ou sem epinefrina, para cada 5 kg de peso vivo do animal durante anestesia epidural, promovendo um bloqueio em torno de 30 min à 1 hora (NATALINI, 2007a). Segundo Massone (1994) em cães não se deve exceder a dose de 7mg/kg por via epidural. De modo geral, utilizam-se soluções de lidocaína a 2% durante realização de procedimentos cirúrgicos. Porém pode se utilizar lidocaína a 1% quando há necessidade de um efeito predominantemente analgésico, com pouco envolvimento da função motora (KLAUMANN; OTERO, 2013).

Anestesia local é pouco utilizada em répteis, porém oferece grandes vantagens, como a capacidade de reduzir a profundidade da anestesia geral ou de sedação em diferentes

procedimentos cirúrgicos. Em alguns casos, pode se utilizar anestésicos locais em procedimentos menos invasivos, com o animal contido fisicamente (REDROBE, 2004).

A lidocaína é empregada em répteis muitas vezes como *splash block* (irrigação do local operado com o anestésico local) e geralmente não é utilizada como agente único durante os procedimentos cirúrgicos (LONGLEY, 2008). É utilizada na dose de 2 a 5 mg/kg para infiltração local e tópica, não devendo ultrapassar a dose máxima de 10mg/kg (MADER, 1996). As doses tóxicas dos anestésicos locais ainda não foram determinadas em répteis, porém não se devem exceder as dosagens utilizadas em mamíferos, a fim de se evitar efeitos colaterais sistêmicos (SLADKY; MANS, 2012). Segundo Mader (1998), as indicações para o uso de anestésicos locais em répteis são semelhantes as de animais domésticos.

1.3 Anestesia espinal em répteis

A utilização de anestesia espinal em répteis é recente e foi somente relatada em algumas espécies de tartarugas e jabutis (MANS et al., 2011; RIVERA et al., 2011).

Carvalho (2004) realizou um estudo objetivando desenvolver uma técnica de anestesia espinal em jabutis de patas vermelhas (*Geochelone carbonaria*). Ele administrou em oito indivíduos 0,2ml de lidocaína a 2% para cada 10 centímetros (cm) de carapaça, em um dos espaços articulares compreendidos entre a 15^a e 22^a vértebras coccígeas. O período de latência (PL) na cauda, ou seja, o período entre a administração do fármaco e o início do efeito anestésico, foi em média de $0,3 \pm 0,1$ min nos machos e nas fêmeas. Já o PL nos membros pélvicos ocorreu em média de $3,7 \pm 0,5$ min nos machos e $2,8 \pm 1,1$ min nas fêmeas. Verificou-se também analgesia satisfatória nos membros pélvicos durante $58,8 \pm 28,1$ min nos machos e $55 \pm 20,4$ min nas fêmeas. A cauda e a cloaca permaneceram anestesiadas durante $81,3 \pm 11,1$ min nos machos e $55 \pm 20,4$ min nas fêmeas.

Fontenelle et al. (2000) desenvolveram um estudo visando padronizar o método de anestesia epidural em *Geochelone carbonaria*. Utilizaram seis espécimes e os dividiram em dois grupos. O grupo 1 foi anestesiado com lidocaína a 2% com vasoconstritor na dose de 0,1ml para cada 5 cm de comprimento de carapaça. No grupo 2 foi utilizado o dobro da dose do grupo 1. O PL na cauda foi de 235 ± 240 segundos no grupo 1 e 35 ± 12 segundos no grupo 2. Nos membros pélvicos o PL foi de $6,8 \pm 4,4$ min no grupo 1 e de $1,1 \pm 0,5$ min no grupo 2. Observou-se que a cauda dos animais do grupo 1 permaneceu anestesiada durante 65 ± 20 min e do grupo 2 durante $133,4 \pm 73,1$ min. Já os membros pélvicos permaneceram

anestesiados durante $53,3 \pm 24,2$ min no grupo 1 e $125 \pm 79,8$ min no grupo 2. Os animais do grupo 1 voltaram a andar após 80 ± 18 min e os do grupo 2 após 144 ± 74 min

A utilização de anestesia espinal em *Geochelone carbonaria* também já foi relatada por Ramos et al. (2009), Pessoa et al. (2009) e Rodrigues et al. (2009).

Futema et al. (2003) realizaram anestesia epidural em um *Chelonia mydas* durante uma reconstituição de casco. Utilizaram a associação de lidocaína a 2% sem vasoconstritor na dose de 4mg para cada 10cm de carapaça e fentanil na dose de 2mg para cada 10 cm de carapaça. Imediatamente após a inoculação verificou-se o relaxamento da cauda e dos membros pélvicos, indicando bloqueio motor. Foi observado também o bloqueio sensitivo, pela ausência de resposta comportamental aos estímulos dolorosos promovidos pelo pinçamento da cauda e das nadadeiras. A extensão do bloqueio atingiu até a metade da segunda placa lateral, o que pôde ser avaliado pela ausência de ossos e placas de queratina sobre a lesão. Após 60 minutos de bloqueio, foram observadas respostas motoras nas nadadeiras anteriores e contração das nadadeiras posteriores.

Posteriormente, Futema et al. (2004) descrevem a utilização de anestesia epidural em um *Chelonia mydas* durante a excisão de papilomas. Foi utilizado 0,2 ml de lidocaína a 2% sem vasoconstritor para cada 10 cm de carapaça. Os movimentos da cauda retornaram após $58,9 \pm 19,2$ min e das nadadeiras posteriores após $62,9 \pm 19,9$ min. O período para a recuperação total dos movimentos das nadadeiras posteriores foi de $83,9 \pm 16,2$ min. Oliveira et al. (2009) e Mans et al. (2011) relatam a utilização de anestesia epidural para procedimentos cirúrgicos em *Trachemys scripta elegans*.

Embora a compreensão da anestesia em répteis tenha avançado significativamente durante a última década, a capacidade de extrapolar para as diferentes ordens e espécies ainda é um grande desafio, uma vez que a classe Reptilia é extremamente diversificada (SLADKY; MANS, 2012). Desse modo, torna-se necessário a elaboração de técnicas anestésicas específicas para cada espécie ou grupo, possibilitando uma anestesia segura, eficaz e com menores efeitos colaterais.

2 OBJETIVOS

Desenvolver um protocolo anestésico para anestesia espinal no iguana verde (*Iguana iguana*), determinando:

- a) o espaço intervertebral indicado para se realizar o acesso aos espaços meníngeos;
- b) uma dose efetiva do fármaco utilizado (lidocaína), capaz de promover o bloqueio sensitivo e o miorelaxamento;
- c) o período de bloqueio sensitivo e miorelaxamento em membros pélvicos e cauda;
- d) avaliar as frequências cardiorrespiratórias e controlar a temperatura corpórea perante a administração do fármaco.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE) da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), campus São José do Rio Preto/SP, sob o protocolo nº 00662, de acordo com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

3.1 Amostragem

Utilizou-se para realização deste estudo dezoito espécimes de *Iguana iguana*, de diferentes idades e pesos, cedidos pelo Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos Vertebrados do IBILCE/UNESP.

3.2 Análises prévias para o desenvolvimento da técnica anestésica

Com o objetivo de estabelecer o espaço intervertebral indicado para a inoculação do fármaco, foram realizadas análises radiográficas da coluna vertebral, análises histológicas da medula espinhal e avaliação macroscópica do canal medular.

3.2.1 Análise radiográfica da coluna vertebral

Foram utilizados dois *I. iguana* adultos, um macho e uma fêmea, apresentando 138,5 cm de comprimento e 3,030 kg, e 128,5 cm de comprimento e 3,550 kg, respectivamente. Os procedimentos foram realizados junto ao Setor de Diagnóstico por Imagem do Hospital Veterinário "Dr. Halim Atique", do Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP).

Os exames radiográficos foram realizados em um aparelho radiodiagnóstico Raicenter®, modelo RC600 Plus. Utilizou-se filmes radiográficos Kodak®, acoplados em chassis radiográficos metálicos de 35X43cm (Kodak®). A revelação e fixação dos filmes radiográficos foram efetuadas por uma processadora automática Macrotec®, modelo MX-2. Os fatores de exposição utilizados foram da ordem de 45 Kv (quilovoltagem), com 300 mA (miliampères) multiplicados por 0.04 T (tempo/segundo) para a região cranial (crânio, vértebras cervicais e vértebras dorsais que se articulam com costelas verdadeiras, ou seja, fundidas ao externo), região pré-sacral (vértebras dorsais que se articulam com costelas não

fundidas ao externo) e sacral (vértebras localizadas entre as vértebras pré-sacrais e coccígeas), e 35 Kv, com 100 mA multiplicados por 0.04 T para a região da cauda. A técnica foi baseada em dados pré-existentis obtidos durante a rotina do setor de diagnóstico por imagem.

Os animais foram contidos quimicamente, utilizando-se o anestésico inalatório Isoflurano (BioChimico®) e posicionados na região central da mesa radiográfica sobre os chassis radiográficos metálicos. Para as projeções látero-laterais os animais foram colocados em decúbito lateral direito, e para as projeções dorsoventrais em decúbito ventral.

As imagens radiográficas foram analisadas, avaliando a morfologia das estruturas ósseas da coluna vertebral. Por meio desta análise foi possível identificar, caracterizar e quantificar as vértebras pré-sacrais, sacrais e coccígeas. A nomenclatura utilizada para descrever as estruturas anatômicas teve como base a Nomina Anatômica Veterinária (2005).

3.2.2 Análise histológica da medula espinhal

A análise histológica da medula espinhal foi realizada junto ao Laboratório de Análises Clínicas, Microbiológicas e Histopatológicas do Hospital Veterinário "Dr. Halim Atique", da UNIRP.

Para esta etapa, foram eutanasiados dois espécimes de *I. iguana* jovens, um macho e uma fêmea, apresentando 31,1 cm de comprimento e 28,1 gramas, e 30,4 cm de comprimento e 26,7 gramas, respectivamente. Também foram eutanasiados dois espécimes adultos, apresentando 130,4 cm de comprimento e 3,320 kg (macho), e 130,2 cm de comprimento e 3,430 kg (fêmea).

O protocolo utilizado para eutanásia esteve de acordo com a Resolução 1000 de 11 de maio de 2012 do CFMV, que dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Os animais foram submetidos à anestesia geral, por meio do anestésico volátil isoflurano. Após entrarem em plano anestésico, administrou-se cloreto de potássio (KCl) por via intracardíaca.

Após óbito, administrou-se solução de formaldeído a 10 % por via intramuscular e subcutânea no pescoço, cauda, membros e cavidade celomática, a fim de preservar e fixar o material. Em seguida, os animais foram levados em tanques contendo solução de formaldeído a 10 %, onde permaneceram submersos por um período de no mínimo de 24 horas.

Decorrido o tempo para a fixação do material, iniciou-se o processo de macroscopia e dissecação das regiões pré-sacral, sacral e caudal. Realizou-se a dissecação da pele, da musculatura dorsal e ventral, e das estruturas adjacentes à coluna vertebral nessas regiões,

expondo as vértebras e otimizando a macroscopia. Durante o processo de macroscopia, foram feitos cortes transversais em sequência, da extremidade da cauda até a primeira vértebra pré-sacral. Os cortes foram realizados em intervalos de 1 cm nos indivíduos jovens e de 5 cm nos animais adultos, para obtenção das amostras. Cada amostra continha 5 mm de espessura e era composta pelo fragmento da vértebra presente no local juntamente com a medula espinhal e as meninges (Figura 1). Antes de se iniciar o processo de descalcificação das amostras, foi realizada a avaliação macroscópica do canal medular, a ser descrita na etapa seguinte.



Figura 1 - Amostras de 5 mm de espessura de cortes segmentados em vértebra pré-sacral. *I. iguana* adulto fêmea. (Fonte: Sanches, 2014).

O procedimento seguinte foi a descalcificação das amostras para remoção de sais de cálcio presentes no tecido ósseo. Foi utilizado ácido nítrico a 20% onde o material permaneceu por um período de 3 dias, sendo reciclado a cada 24 horas. Após o período citado o material foi lavado em água corrente.

Após essas etapas, iniciou-se o processamento histológico das amostras. Os cassetes histológicos contendo as amostras foram colocados em processador de tecidos histotécnico da marca OMA® modelo CM 69, para a inclusão do material em parafina. As amostras

percorrem uma série de etapas onde o material é desidratado. Neste processo foi utilizado álcool etílico como agente desidratante. Em seguida, fez-se a clarificação das amostras por meio de xilol, que visa remover completamente o álcool do interior das amostras e preparar os tecidos para a infiltração em parafina.

Após este ciclo, o material foi depositado no interior de um molde contendo parafina líquida com a superfície a ser seccionada para baixo. Em seguida o material foi seccionado, por meio de um micrótomo da marca Leitz® (modelo 1512), em fatias finas e uniformes com espessura de 5 µm e aderidas em lâmina.

Finalmente, foi realizada a coloração dos preparos histológicos. Nesta etapa, utilizou-se a coloração por hematoxilina e por eosina (HE), em que os núcleos são corados pela hematoxilina, sendo evidenciados em roxo, enquanto o citoplasma e os espaços intercelulares são corados pela eosina, sendo evidenciados em rosa.

As análises das lâminas histológicas foram realizadas no Laboratório de Microscopia e Microanálise do IBILCE/UNESP. Utilizou-se microscópio de luz Olympus®, modelo BX60, para a análise das lâminas e câmera digital Olympus® (DP-71) para fotografá-las. Os protocolos utilizados durante as análises histológicas seguiram o padrão descrito por Bacha Jr. e Bacha (2003), o qual visa preparar as células e o tecido, mantendo a mesma estrutura microscópica e a mesma composição química que possuíam quando vivas, podendo assim ser analisadas por microscopia de luz.

3.2.3 Avaliação macroscópica do canal medular

Após a confecção das amostras histológicas, foi realizada a avaliação macroscópica do canal medular antes de iniciar o processo de descalcificação das mesmas. Essa etapa foi realizada no Laboratório de Anatomia do IBILCE/UNESP.

As amostras adquiridas dos animais adultos foram colocadas em placas de Petri, preenchida com água destilada. Em seguida, as mesmas foram analisadas por meio de uma Lupa Leica®, modelo MZ16, e fotografadas por câmera Leica® DFC295.

Foi avaliada a presença de medula espinhal, bem como as meninges e os espaços subaracnóideo e epidural. A distância entre o periósteo da vértebra e a medula espinhal foi mensurada na região central do plano sagital mediano, por meio do software AutoCad® 2013.

A nomenclatura utilizada para descrever as estruturas anatômicas analisadas durante essa etapa foi baseada na Nomina Anatômica Veterinária (2005).

3.3 Desenvolvimento da técnica de anestesia espinal

Esta etapa do experimento foi realizada junto ao Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos Vertebrados do IBILCE/UNESP.

3.3.1 Amostragem

Utilizou-se oito espécimes de *Iguana iguana* adultos de diferentes idades, pesando $2,6 \pm 0,3$ kg (E.P.M), e apresentando $31,4 \pm 0,9$ cm entre o côndilo occipital e a primeira vértebra coccígea, para o desenvolvimentos dos dois protocolos experimentais.

A fim de se estabelecer a dose a ser empregada, utilizou-se quatro animais pesando em média $2,5 \pm 0,1$ kg, e apresentando $31,5 \pm 0,7$ cm entre o côndilo occipital e a primeira vértebra coccígea.

Os animais foram cedidos pelo Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos Vertebrados, pertencente ao IBILCE/UNESP. Foram mantidos em temperatura ambiental média de $28,7 \pm 0,5$ °C durante os procedimentos, objetivando minimizar as interferências externas que poderiam afetar o experimento e as variações na temperatura corpórea; visto que estes animais são ectotérmicos e apresentam diversas adaptações para manutenção da temperatura corpórea (ZUG; VITT; CALDWELL, 2001). Além disso, grande parte dos processos fisiológicos e padrões comportamentais destes animais são dependentes da temperatura (POUGH et al., 1998).

3.3.2 Procedimento e técnica para anestesia espinal

Primeiramente, os animais foram pesados em balança digital e com auxílio de uma fita métrica, mensurada a distância entre o côndilo occipital e a primeira vértebra coccígea. Em seguida, realizou-se a contenção química dos animais por meio da administração do agente anestésico isoflurano, utilizando um vaporizador universal multiagentes (INCOTEC Científica®). A contenção química foi realizada via máscara facial, que era acoplada ao aparelho de anestesia inalatória portátil Colibri®. A fim de minimizar os estímulos estressantes durante a indução anestésica, optou-se por envolver a máscara anestésica com borracha E.V.A. (Etil, Vinil e Acetato) preta, bloqueando a visão dos animais.

Realizou então a antisepsia no terço final da região pré-sacral, sacral e terço inicial da cauda objetivando a prevenção de possíveis infecções. Os indivíduos foram colocados sobre

mesa cirúrgica em decúbito ventral e então acoplados os eletrodo de eletrocardiograma (ECG), bem como o transdutor de esforço respiratório. Para avaliação da temperatura corporal (T_c), foi introduzido um termômetro digital na cloaca dos animais. Os eletrodos de ECG e o transdutor de esforço respiratório foram conectados a um sistema de aquisição de dados (BIOPAC® Systems, Inc. - MP36) ligado a um computador contendo o software Biopac Student Lab Pro®. Este software permitiu o monitoramento da frequência cardíaca (f_H) e da frequência respiratória (f_R) durante os experimentos. Os valores da f_H foram obtidos pela contagem de complexos QRS por minuto (batimentos por minuto – b.p.m.), durante os 5 minutos pré-inoculação e nos 30 minutos pós-inoculação do fármaco. Quanto aos valores da f_R , estes foram calculados pela contagem dos picos positivos gerados no registro durante a inspiração (movimentos por minuto – m.p.m.) nos 5 minutos pré-inoculação e nos 30 minutos pós-inoculação do fármaco.

Por meio das análises prévias (análise radiográfica da coluna vertebral, análise histológica da medula espinhal e avaliação macroscópica do canal medular) definiu-se o espaço intervertebral pré-sacral/sacral, compreendido entre a 9ª vértebra pré-sacral (PS₉) e a 1ª vértebra sacral (S₁), para a realização da inoculação do fármaco. Este sítio é localizado ao encontrar as costelas flutuantes da 9ª vértebra pré-sacral com os dedos polegar e indicador.

Os animais foram colocados na extremidade da mesa cirúrgica, com os membros pélvicos e cauda suspensos, formando uma curvatura na região dorsal da coluna vertebral, favorecendo a introdução da agulha no espaço intervertebral. Além disso, a gravidade desempenha um papel importante na difusão das soluções injetadas (BROMAGE, 1962).

Realizou-se novamente a antissepsia das regiões citadas e uma agulha descartável para anestesia regional com ponta tipo Quincke (27Gx3,5 - BD Spinal®) foi introduzida lentamente pela pele e musculatura na região central (plano sagital mediano) do espaço intervertebral, conforme descrito por Gaynor (1993). A agulha formou uma angulação de 45° em relação à coluna vertebral do animal (Figura 2), pelo fato do processo espinhoso das vértebras pré-sacrais (analisados durante a dissecação das regiões pré-sacral, sacral e caudal), apontarem obliquamente no sentido caudal. Nos casos onde a agulha encostou-se ao perióstio do primeiro segmento vertebral, a mesma foi redirecionada caudalmente a fim de localizar o espaço intervertebral, como sugerido por Hall e Clarke (1987).

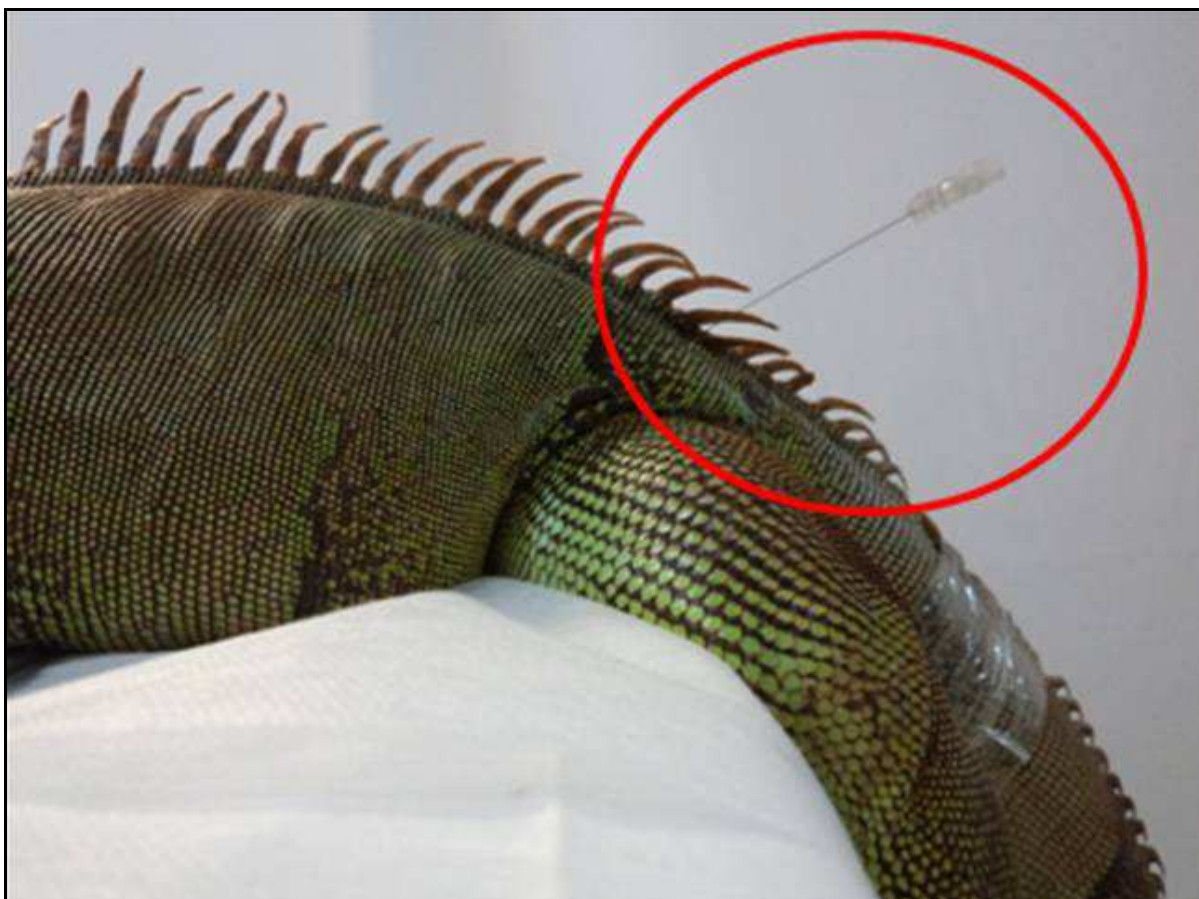


Figura 2 - Imagem ilustrativa (vista lateral) da introdução de agulha epidural no espaço pré-sacral/sacral (PS₉-S₁). *I. iguana* adulto macho. (Fonte: Sanches, 2014).

3.3.3 Protocolo experimental

No grupo controle, denominado grupo 1-Ig (iguana), foi administrado solução fisiológica à 0,9% (solução salina) e monitoradas as f_H , f_R e T_c , a fim de padronizar os parâmetros denominados fisiológicos. O volume administrado foi análogo ao volume de lidocaína calculado para cada indivíduo. No segundo grupo (grupo 2-Ig) foi administrado cloridrato de lidocaína com hemitartrato de epinefrina (Xylestesin® a 2%), na dose de 0,158 mg/cm, e monitorados os mesmos parâmetros (Figura 3). O acesso foi realizado nos espaço intervertebral entre PS₉ e S₁ e o tempo de administração foi de aproximadamente 8 segundos.



Figura 3 - Imagem demonstrando a inoculação do fármaco no espaço pré-sacral/sacral (PS₉-S₁). *I. iguana* adulto fêmea. (Fonte: Sanches, 2014).

O volume total administrado foi determinado por meio do seguinte cálculo: multiplicou-se a dose em mg/cm (a determinação da dose em mg/cm será descrita na seção 3.3.4), pela distância entre o côndilo occipital (CO) e a primeira vertebral coccígea (VC) em cm, representado pela abreviatura cm/CO-VC, obtendo a dose em mg para o indivíduo em questão. Em seguida, esta dose foi dividida pela concentração ([]) do fármaco utilizado. O cálculo também pode ser expresso pela seguinte fórmula:

$$\text{Volume total} = \frac{\text{Dose em mg/cm} \times \text{cm/CO-VC}}{[]}$$

Durante a avaliação dos animais, os dados foram coletados e os parâmetros foram aferidos de acordo com a metodologia descrita. Os animais foram mantidos em decúbito ventral durante todo o procedimento.

3.3.4 Adequação da dose utilizada

Objetivando estabelecer a dose do anestésico local (lidocaína) capaz de promover um bloqueio efetivo, foi administrado em quatro indivíduos 2mg/kg de lidocaína no espaço intervertebral localizado entre as vértebras PS₉ e S₁. Esse grupo foi denominado grupo 0-Ig. Optou-se por esta dosagem, pois a mesma é descrita como dose mínima para répteis (SCHUMACHER; YELEN, 2006), minimizando assim a ocorrência de possíveis efeitos colaterais promovido pelo fármaco.

Para a elaboração da dose: multiplicou-se o peso do animal pela a dose pré-determinada (2mg/kg), obtendo um valor em mg para o peso total (mg/PT) do indivíduo. Em seguida, esta dose foi dividida pela da distância entre cêndilo occipital e a primeira vertebral coccígea em cm (cm/CO-VC), obtendo assim um valor em mg/cm para o animal em questão. O cálculo pode ser expresso pela seguinte fórmula:

$$\text{Peso} \times \text{Dose (mg/kg)} = \frac{\text{Dose em mg/PT}}{\text{cm/CO-VC}} = \text{Dose em mg/cm}$$

Optou-se por utilizar o cálculo da dose em função do comprimento do animal (mg/cm), seguindo o padrão descrito por Klaumann e Otero (2013) e Harthoorn e Brass (1954), onde a coluna vertebral é mensurada em centímetros, desde o cêndilo occipital até a primeira vértebra coccígea.

Realizou-se então a média das doses em mg/cm dos quatro indivíduos, obtendo assim a dose final em mg/cm utilizada durante a anestesia espinal. Os procedimentos e técnica seguiram os padrões citados anteriormente.

Por meio da avaliação das respostas sensitivas e do miorrelaxamento, descritas a seguir, foi possível comprovada a eficácia da dose utilizada durante o protocolo experimental.

3.3.5 Avaliação do bloqueio sensitivo e miorrelaxamento

As respostas sensitivas foram avaliadas por meio de estímulos dolorosos promovidos por pinça kocher. Foi realizado pinçamento cutâneo nas regiões proximal e media dos membros pélvicos, e pinçamento das falanges. Também realizou-se pinçamento cutâneo no terço proximal, médio e distal da cauda. A resposta sensitiva aos estímulos dolorosos foi graduada segundo o seguinte escore: A = ausente; B = moderada e C = presente.

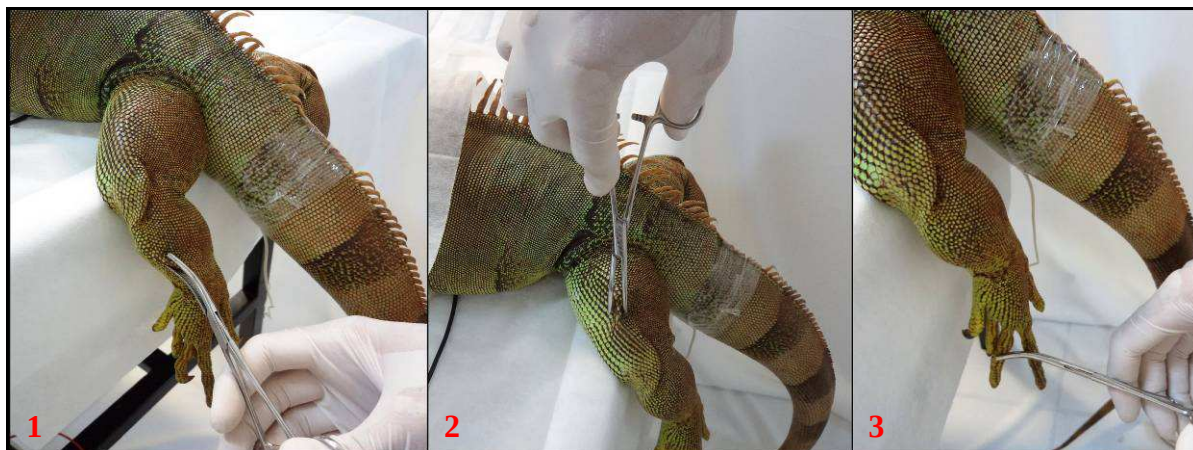


Figura 4 - As imagens demonstram a avaliação das respostas sensitivas por pinçamento cutâneo em regiões de coxa (1), panturrilha (2) e pinçamento em falange (3) de membro pélvico esquerdo. *I. iguana* adulto fêmea. (Fonte: Sanches, 2014).

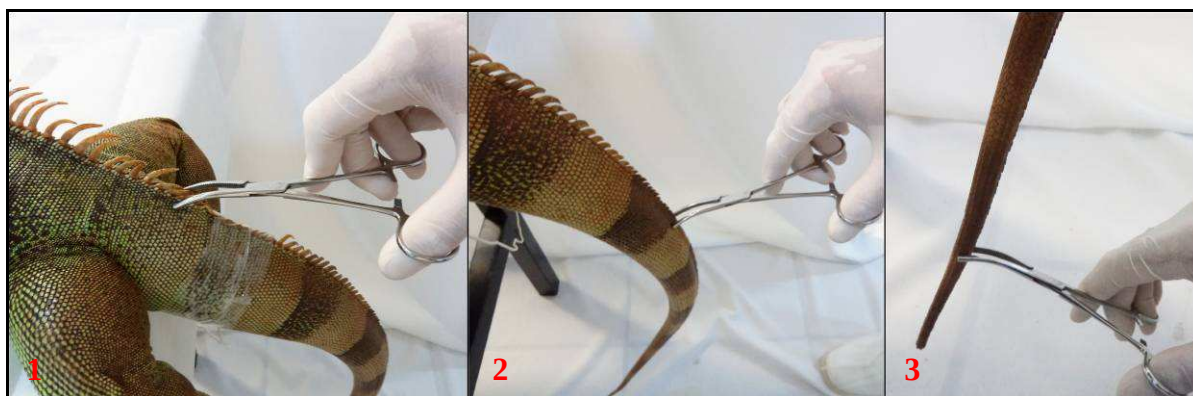


Figura 5 - As imagens demonstram a avaliação das respostas sensitivas por pinçamento cutâneo em terço cranial (1), médio (2) e ponta (3) da cauda. *I. iguana* adulto fêmea. (Fonte: Sanches, 2014).

Quanto ao miorelaxamento, este foi avaliado nos membros pélvicos pela resistência à flexão de membros, e pela observação de atividade muscular não induzida. O relaxamento muscular foi graduado segundo o seguinte escore: A = presente (flacidez muscular); B = moderado (presença de tônus muscular) e C = ausente (contração durante a manipulação). A avaliação do miorelaxamento foi somente realizada nos membros pélvicos, uma vez que a anatomia da cauda dificulta a avaliação do tônus muscular.

Por meio desses dados foi possível avaliar o período de anestesia, classificado como o tempo compreendido entre a inoculação do fármaco e o início das respostas aos estímulos sensoriais (escore B ou C), e a ausência de relaxamento muscular (escore B ou C) durante a flexão de membros. A análise do período de anestesia pelas respostas sensitivas e pelo miorelaxamento foi realizada individualmente.

As avaliações foram realizadas a cada cinco minutos após a inoculação do fármaco, até o estabelecimento de escore C para as respostas sensitivas e para o miorelaxamento.

3.4 Análises estatísticas

Os dados obtidos durante avaliação do bloqueio sensitivo nos membros pélvicos e cauda, e do miorelaxamento nos membros pélvicos dos animais do grupo 1-Ig, foram confrontados estatisticamente com os do grupo 2-Ig pelo Teste de Friedman seguido do *post-hoc* de Dunn. Para comparação dos mesmos valores entre os grupos-0Ig e 2-Ig, utilizou-se o teste Kruskal-Wallis seguido do *post-hoc* de Dunn.

O teste Anova seguido do *post-hoc* de Student-Newman Kells foi utilizado para avaliação das diferenças estatísticas entre a T_c do grupo 1-Ig com a do grupo 2-Ig em cada minuto do monitoramento pré e pós-inoculação. Os valores obtidos durante todo o monitoramento pós-inoculação foram confrontados estatisticamente entre si por meio dos mesmos testes.

A fim de se determinar as diferenças estatísticas entre os valores da f_H obtidos em cada minuto do monitoramento pós-inoculação no grupo 1-Ig com os do grupo 2-Ig, utilizou-se o teste “t” pareado bicaudal. O teste “t” pareado unicaudal foi utilizado para se comparar os valores da f_H obtidos durante os pinçamentos e um minuto após, em ambos os grupos.

Já os valores da f_R obtidos em cada minuto do monitoramento pós-inoculação do grupo 1-Ig foram confrontados estatisticamente com os do grupo 2-Ig pelo teste “t” pareado bicaudal. O mesmo teste foi utilizado para se comparar os valores obtidos durante os pinçamentos e um minuto após, em ambos os grupos, e comparar os valores de f_R obtidos durante a inoculação do fármaco e um minuto após, nos dois grupos.

O grau de significância estabelecido para os testes estatísticos foi de 5% ($p < 0.05$) e os valores foram apresentados como erro padrão médio (E.P.M.). Os testes estatísticos foram realizados por meio do GraphPad Instat 3®.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação do sítio de inoculação por meio das análises complementares

4.1.1 Radiografia das regiões pré-sacral, sacral e caudal

A avaliação das regiões pré-sacral, sacral e caudal por meio do exame radiográfico possibilitou a identificação e quantificação das vértebras presentes nessas regiões.

A coluna vertebral consiste de ossos irregulares que se estendem do crânio à extremidade da cauda. Segundo Guibé (1970), a coluna vertebral dos répteis é dividida em vértebras cervicais, dorsais, sacrais e vértebras caudais. Nesse estudo foi denominado como: vértebras pré-sacrais, as vértebras dorsais que se articulam com costelas flutuantes (não fundidas ao externo); vértebras sacrais, as localizadas entre as vértebras pré-sacrais e coccígeas (caudais); vértebras coccígeas, as que os processos transversos apontam obliquamente no sentido caudal (Figura 6).

Observou-se que nestes animais a coluna vertebral apresenta nove vértebras pré-sacrais, duas vértebras sacrais e sessenta vértebras coccígeas (Figura 7).

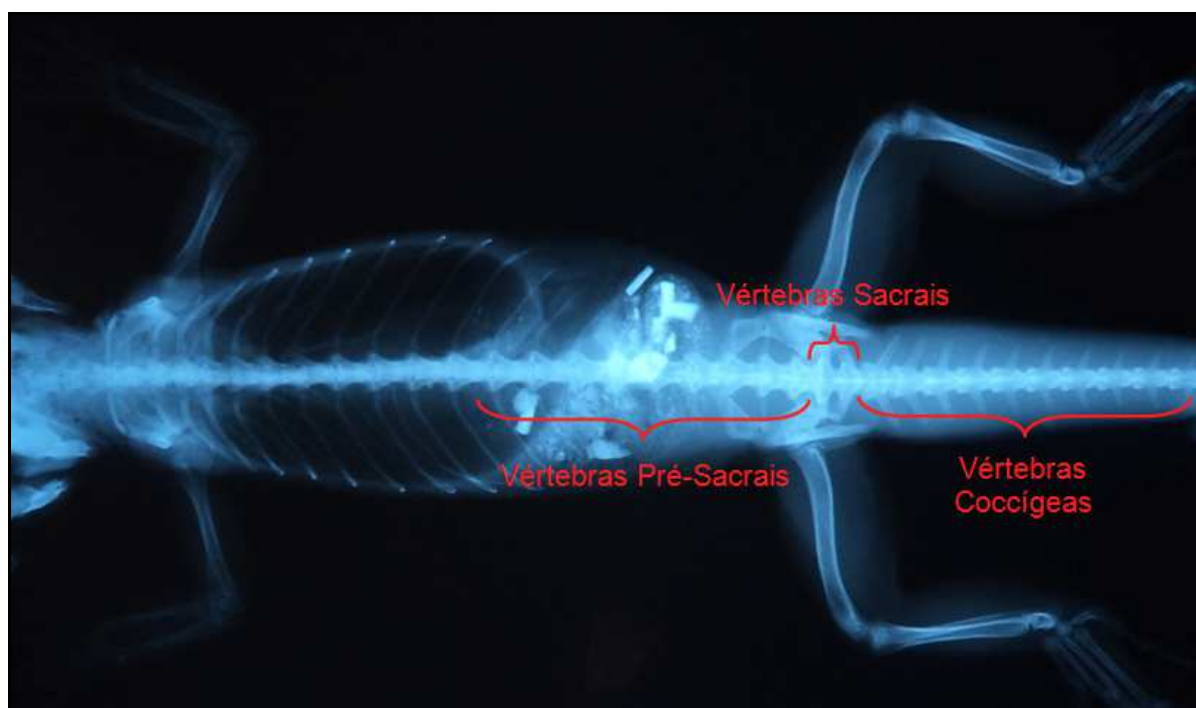


Figura 6 - *I. iguana* adulto macho. Imagem radiográfica em projeção dorsoventral. Regiões pré-sacral, sacral e início da região caudal. (Fonte: Sanches, 2014).

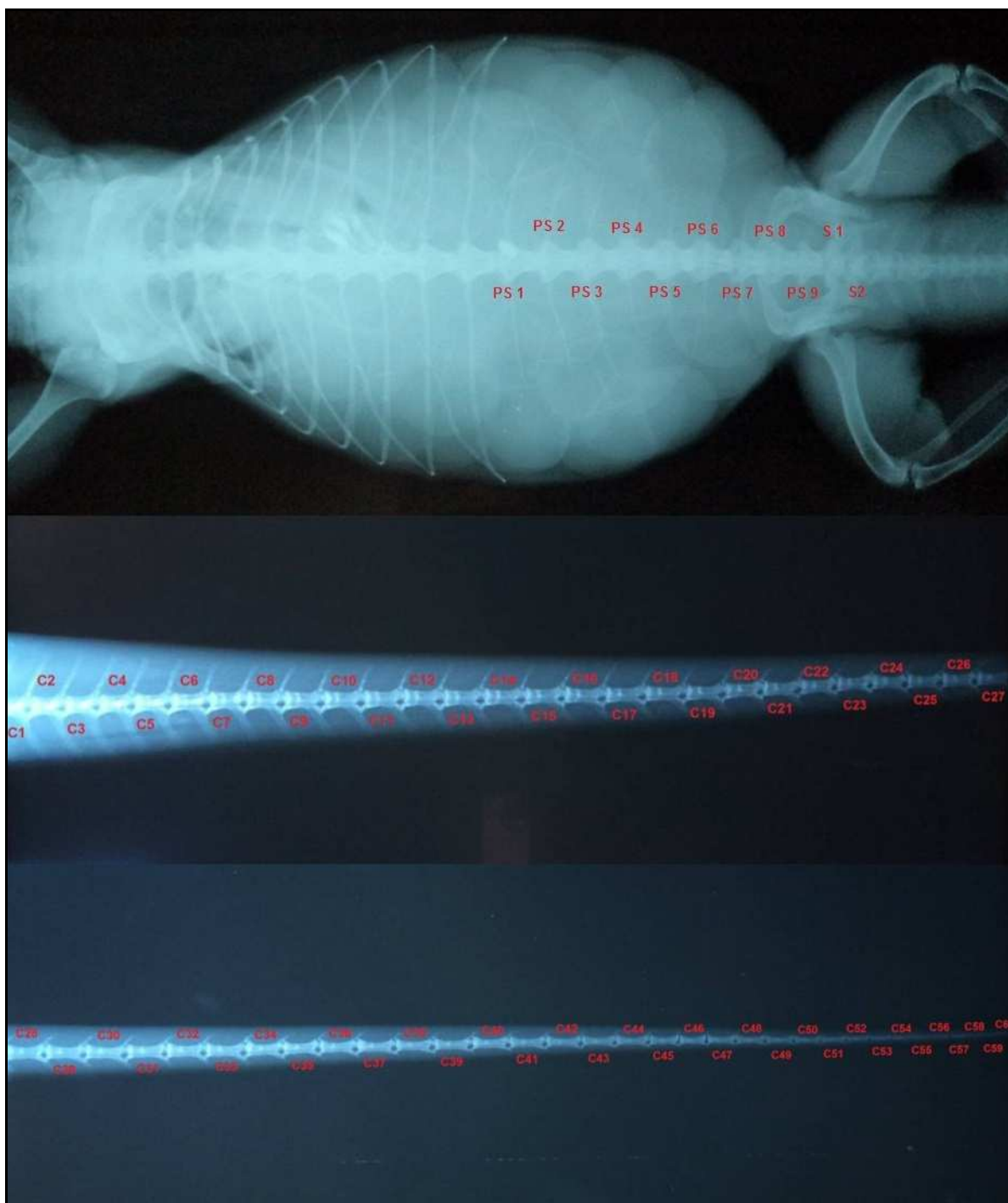


Figura 7 - *I. iguana* adulto fêmea. Imagem radiográfica em projeção dorso ventral. A coluna vertebral apresenta nove vértebras pré-sacrais (PS9), duas vértebras sacrais (S2) e sessenta vértebras coccígeas (C60). (Fonte: Sanches, 2014).

4.1.2 Aspectos morfológicos do canal medular, medula espinhal e meninges

A medula espinhal se localiza dentro do canal vertebral, preenchendo-o até a última vértebra coccígea. Exibe coloração esbranquiçada e apresenta formato não uniforme que varia de cilíndrico a triangular, afilando-se em direção a última vértebra coccígea (Figura 8).

Na região mediana das vértebras pré-sacrais, pode-se visualizar dois envoltórios meníngeos: a aracnóide e a dura-máter. Esses envoltórios podem ser evidenciados apenas nas vértebras pré-sacrais, não sendo possível a identificação dos mesmos nas regiões sacral e caudal.

A aracnóide localiza-se entre a medula espinhal e a dura-máter, delimitando o espaço subaracnóideo. A dura-máter reveste a medula mais externamente e é separada do periósteo do canal vertebral pelo espaço epidural. Mantém contato estrito com a aracnóide (Figura 8).

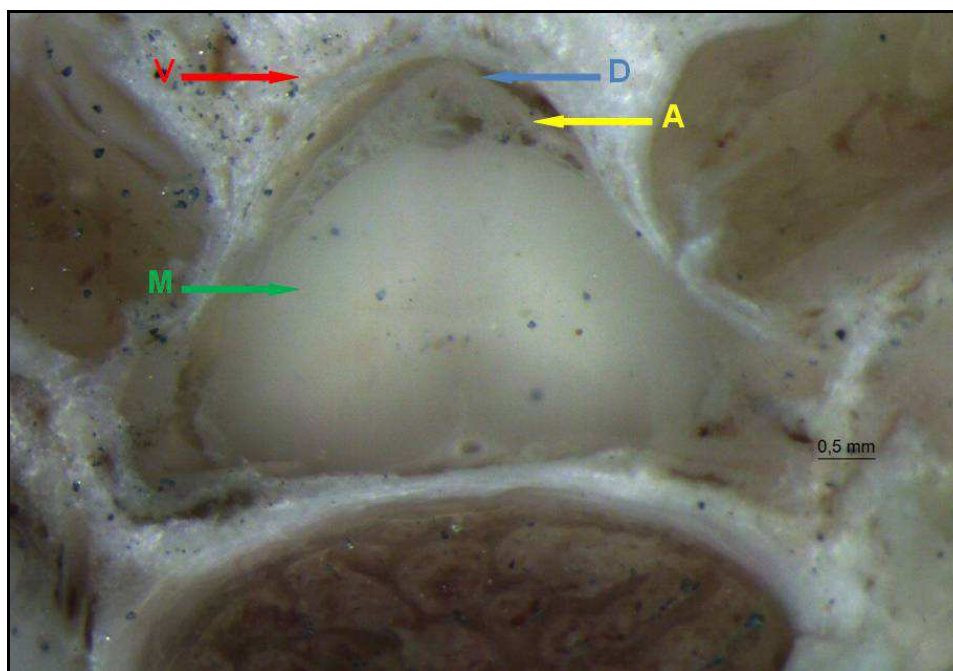


Figura 8 - Corte transversal da oitava vértebra (V) pré-sacral. Medula espinhal (M) situada dentro do canal vertebral. A mesma apresenta coloração esbranquiçada e formato cilíndrico-triangular. Destaca-se a aracnóide (A), localizada entre a medula espinhal e a dura-máter; e a dura-máter (D), revestindo mais externamente a medula espinhal. Aumento de 2,5X. (Fonte: Sanches, 2014).

Os espaços epidural e subaracnóideo, consequentemente, foram evidenciados em cortes realizados somente na região mediana das vértebras pré-sacrais, não sendo possível identifica-los nas regiões sacral e caudal.

Em cortes segmentados da oitava vértebra pré-sacral, viu-se que a distância entre o periósteo da vértebra e a medula espinhal em plano sagital mediano, é de $0,5 \pm 0,1$ mm (Figura 9). Na região articular, os espaços epidural e subaracnóideo são reduzidos, não sendo possível evidencia-los (Figura 10).

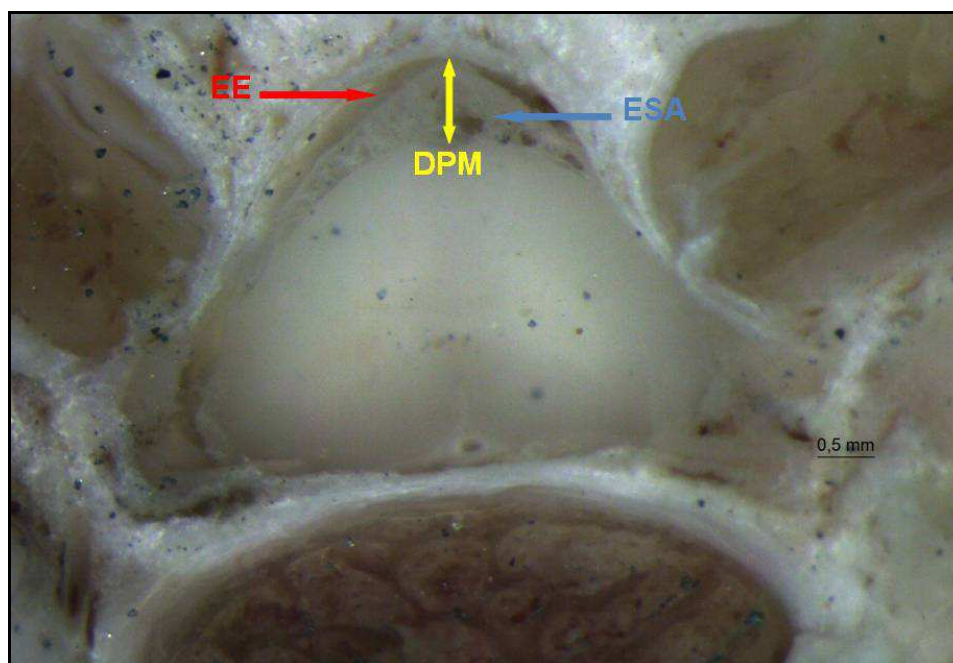


Figura 9 - Corte transversal da oitava vértebra pré-sacral, evidenciando os espaços epidural (EE), subaracnóideo (ESA), e a distância entre o periósteo da vértebra e a medula espinhal (DPM) mensurada na região central do plano sagital mediano. Aumento de 2,5X. (Fonte: Sanches, 2014).



Figura 10 - Corte transversal da setima vértebra pré-sacral em região articular. Não é possível evidenciar os espaços meníngeos. Aumento de 2,0X. (Fonte: Sanches, 2014).

4.1.3 Histologia da medula espinhal

Observou-se em cortes transversais, que a medula espinhal pode ser dividida em substância branca, localizada na região periférica, e substância cinzenta, localizada internamente (Figura 11).

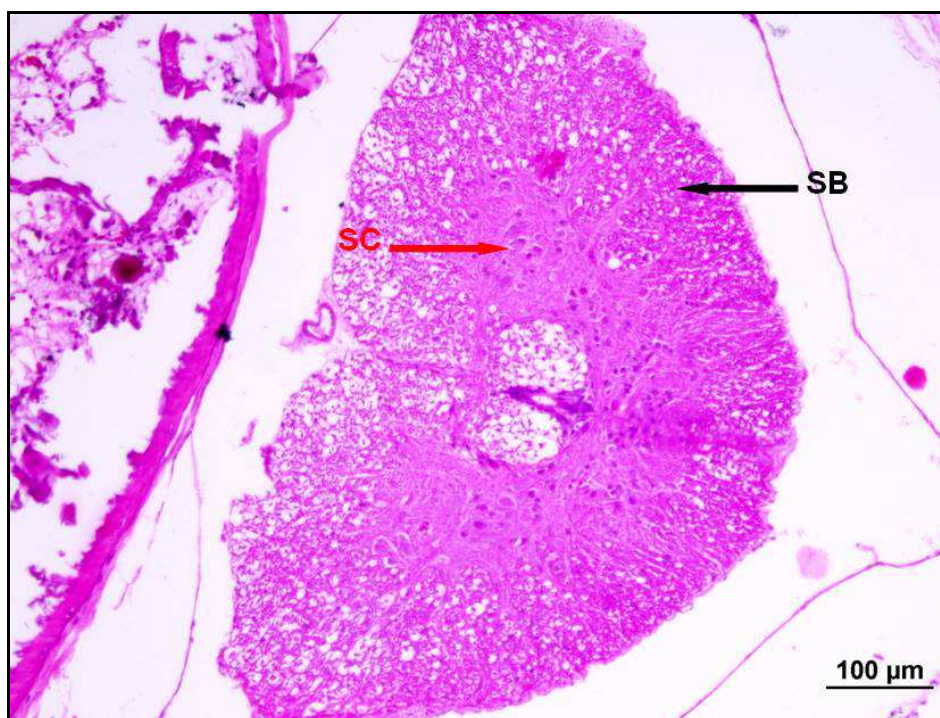


Figura 11 - Corte da medula espinhal de *I. iguana* jovem (fêmea) em terço médio da cauda. Observam-se a distribuição da substância branca (SB) na região periférica da medula espinhal e da substância cinzenta (SC) em região central. Coloração HE. Aumento de 10X. (Fonte: Sanches, 2014).

A substância branca consiste principalmente em fibras nervosas (axônios) e células da glia (Figura 12). A substância cinzenta apresenta corpos de neurônios, fibras nervosas e células da glia (Figura 13).

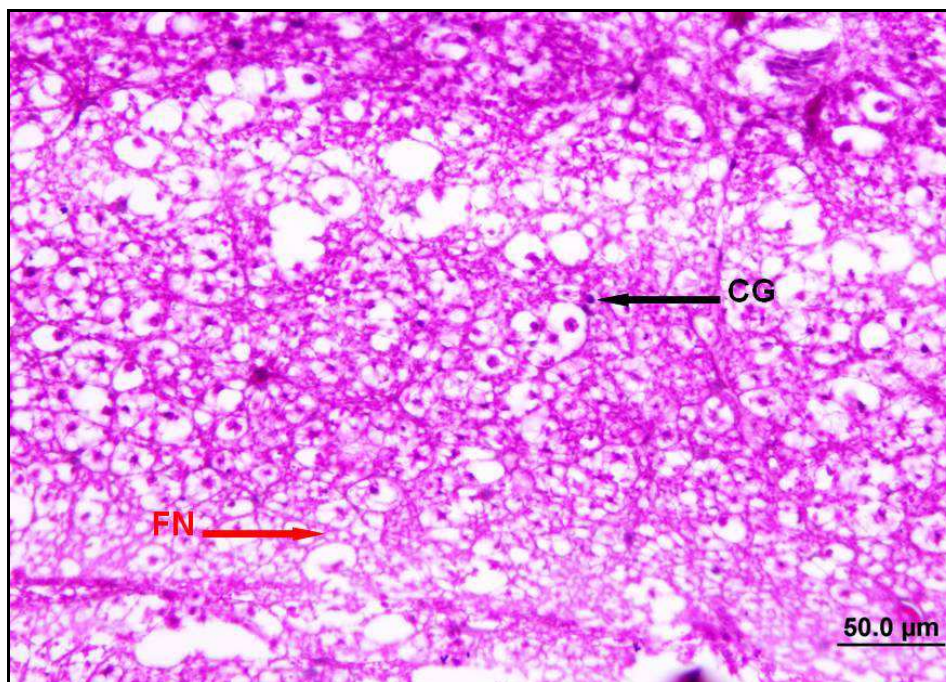


Figura 12 - Corte da medula espinhal de *I. iguana* adulto (macho) em terço cranial da região caudal. Observam-se as fibras nervosas (FN) e os núcleos das células da glia (CG) na substância branca. Coloração HE. Aumento de 20X. (Fonte: Sanches, 2014).

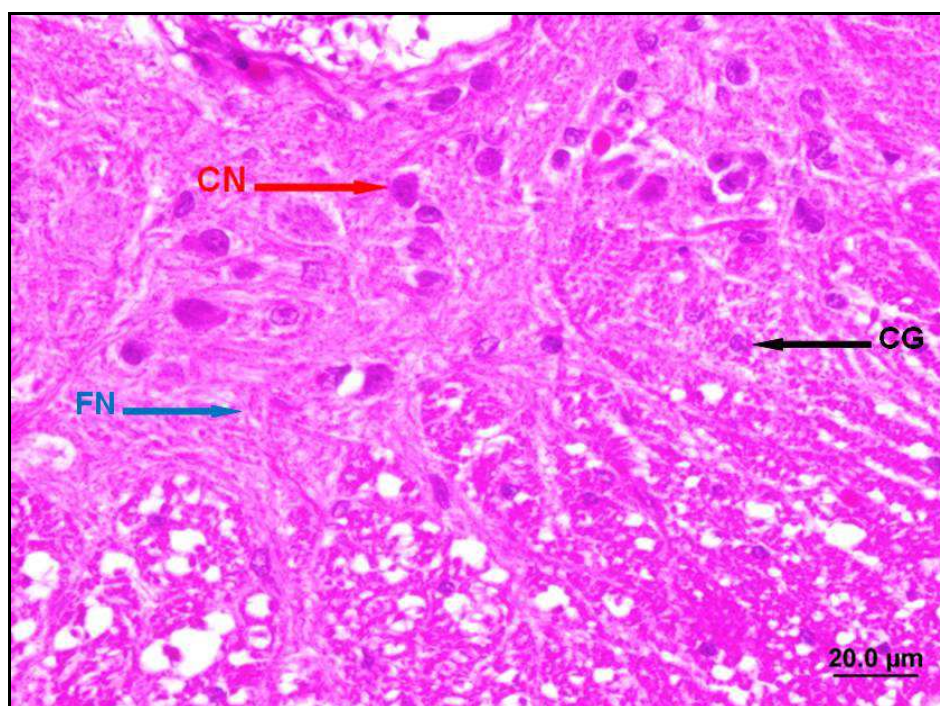


Figura 13 - Corte da medula espinhal de *I. iguana* jovem (macho). Observam-se corpos neuronais (CN), fibras nervosas (FN) e os núcleos das células da glia (CG) na substância cinzenta. Coloração HE. Aumento de 40X. (Fonte: Sanches, 2014).

A presença de medula espinhal em toda extensão da coluna vertebral (até a extremidade da cauda) também foi confirmada por essas análises (Figura 14).

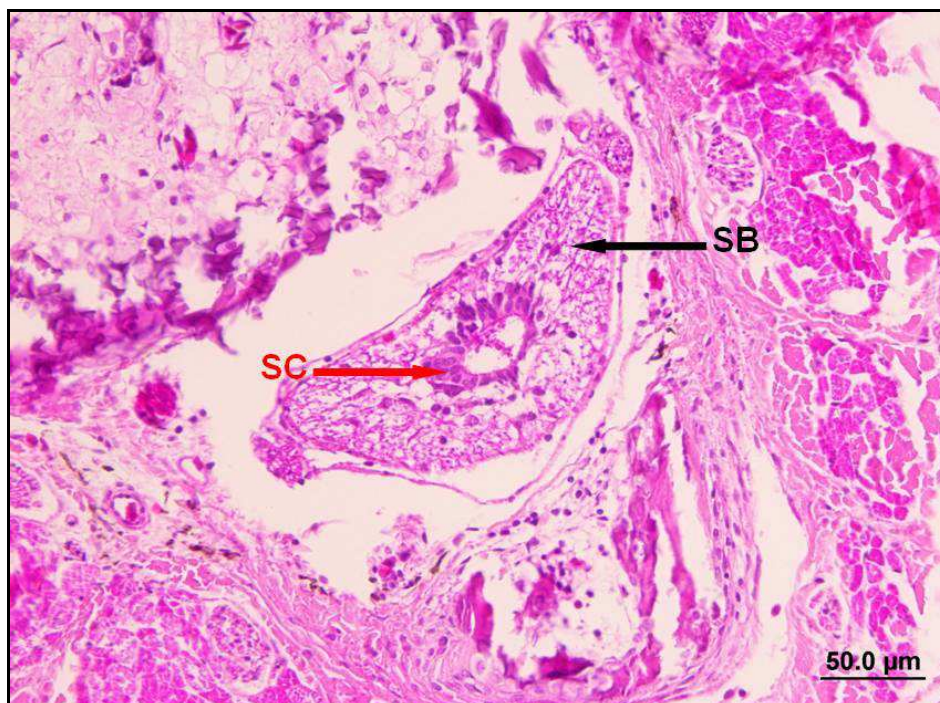


Figura 14 - Corte da medula espinhal de *I. iguana* jovem (macho) em extremidade do terço final da cauda. Observa-se a presença de substância branca (SB) e substância cinzenta (SC). Coloração HE. Aumento de 20X. (Fonte: Sanches, 2014).

A nomenclatura utilizada para descrever a organização e a composição celular da medular espinhal seguiu o modelo descrito por Junqueira e Carneiro (2008).

4.1.4 Sítio para a inoculação do fármaco

Por meio das análises acima citadas foi determinado o espaço intervertebral adequado para a inoculação do fármaco.

Um ponto importante para determinação desse sítio foi a extensão da medula espinhal. O local indicado para a inoculação do anestésico é após o término da medula espinhal, que varia nas diferentes espécies de animais. A administração de fármacos em sítios caudais ao cone medular favorece a segurança da técnica, minimizando assim a possibilidade de lesões na medula espinhal (DYCE; SACK; WENSING, 2004; FANTONI; CORTOPASSI, 2002; HILBERY, 1992). Porém, viu-se que nesses animais, bem como em outras espécies de répteis (CARVALHO, 2004; MADER, 1996), a medula espinhal estende-se até o extremo da cauda.

Devido a essa característica, a escolha do espaço intervertebral fundamentou-se na distribuição dos espaços epidural e subaracnóideo, bem como nas características anatômicas das vértebras pré-sacrais, sacrais e coccígeas.

Quando avaliados os cortes transversais realizados na coluna vertebral, observou-se que a área presente nos espaços epidural e subaracnóideo é maior na região pré-sacral, não sendo possível evidenciá-los nas regiões sacral e caudal. Uma vez que a anestesia espinal consiste na inoculação do fármaco em um desses espaços (HALL; CLARKE; TRIM, 2001; INTELIZANO et al., 2002; KLAUMANN; OTERO, 2013), o acesso na região pré-sacral possibilita uma maior margem de acerto (Figura 9). Além disso, viu-se por meio da análise radiográfica que as vértebras coccígeas apresentam um processo espinhoso mais alongado que as vértebras pré-sacrais e sacrais, dificultando o acesso intervertebral nessa região (Figura 15).

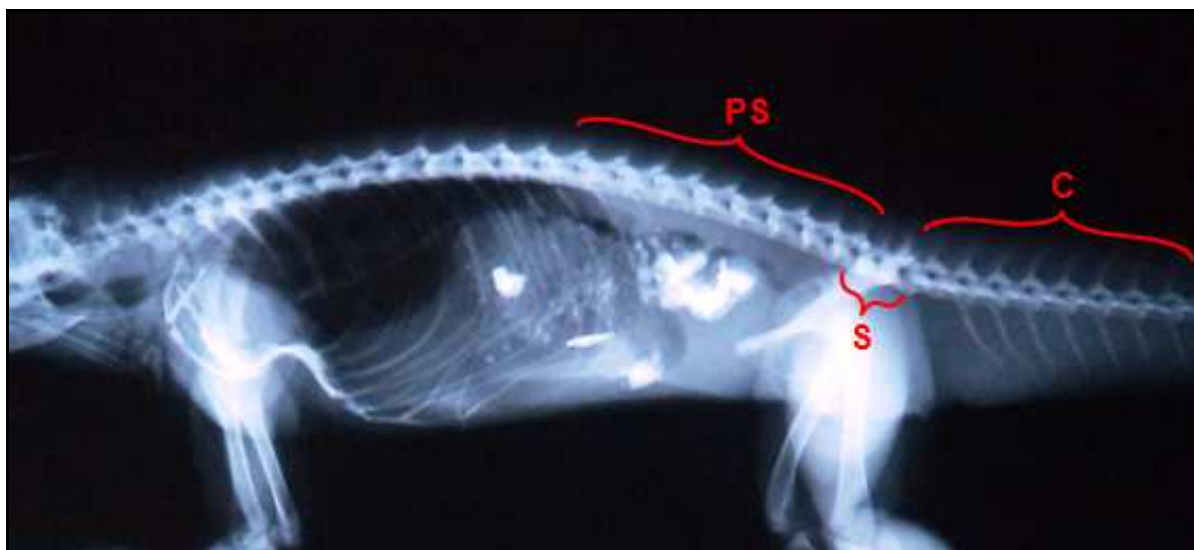


Figura 15 - *I. iguana* adulto macho. Imagem radiográfica em projeção latero-lateral. Vértebras pré-sacrais (PS), sacrais (S) e coccígeas (C). (Fonte: Sanches, 2014).

Desse modo, optou-se por utilizar o espaço intervertebral presente entre a PS₉ e a S₁, pois o acesso nessa região favorece a técnica e possibilita a administração do anestésico nos espaços meníngeos (presentes nas vértebras pré-sacrais), garantindo assim a atuação do mesmo na medula espinhal e nos nervos adjacentes. Além disso, por não se conhecer a inervação da região pré-sacral desses animais, bem como das viscerais localizadas na cavidade celomática, a administração do anestésico nessa região permite o bloqueio sensitivo dos membros pélvicos e cauda, sem comprometer a função nervosa da região pré-sacral.

4.2 Abordagem aos espaços meníngeos

Ao acessar o canal medular os animais responderam contraindo levemente a musculatura de membros pélvicos e da região perineal seguido do relaxamento muscular quase que imediato. Provavelmente, essa resposta ocorreu devido à agulha transpor a medula espinhal ou pelo atrito da agulha ao periósteo de uma das vértebras (PS₉ ou S₁). Como avaliado pelas análises macroscópicas do canal medular, a distância entre o periósteo da vértebra pré-sacral e a medula espinhal em plano sagital mediano é extremamente pequeno (em torno de 0,54 mm), o que torna quase que inexequível o acesso específico do espaço epidural e/ou subaracnóideo. Outro ponto importante é o fato da epiderme desses animais ser altamente queratinizada e protegida por escamas (COOPER, 2006), agindo como uma barreira física, diminuindo a sensibilidade e o controle da pressão exercida durante a introdução da agulha pelo anestesta. Lembrando que os animais estavam sob contenção química e não sob anestesia geral, o que possibilitou a avaliação dessa resposta sensitiva.

Pelo fato das meninges e da medula espinhal apresentarem-se associadas intimamente umas com as outras, é provável que o anestésico local seja depositado no interior da medula, bem como nos espaços epidural e subaracnóideo. Portanto, optou-se por utilizar o termo “anestesia espinhal” ao designar a técnica nesse estudo.

Além da resposta do animal perante a introdução da agulha, o acesso ao canal medular é indicado pela leve resistência à inoculação. Isso ocorre pelo fato do anestésico ser depositado no interior da medula espinhal. Em animais domésticos, o acesso aos espaços meníngeos é indicado pela completa ausência de resistência à inoculação (HALL; CLARKE, 1987; KLAUMANN; OTERO, 2013).

4.3 Determinação da dose

Por meio da avaliação das respostas sensitivas perante os estímulos dolorosos e do miorrelaxamento, definiu-se o período de anestesia dos membros pélvicos e cauda nos quatro animais submetidos à dose de 2mg/kg de lidocaína (grupo 0-Ig).

Os animais permaneceram durante $78,4 \pm 24,9$ min sem apresentar resposta sensitiva aos estímulos dolorosos em membros pélvicos. Durante avaliação da cauda, viu-se que o período de anestesia foi de $55,4 \pm 9,9$ min na região proximal. Nas regiões média e distal da cauda não houve bloqueio sensitivo, pois os animais responderam com movimentos a partir

do primeiro estímulo doloroso. Quanto ao miorelaxamento, este foi de $81,9 \pm 26,6$ min nos membros pélvicos (Tabela 1).

Tabela 1 - Período (min) da ausência de resposta ao estímulo sensitivo e do miorelaxamento nos membros pélvicos, região proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, após administração de 2mg/kg de cloridrato de lidocaína com hemitartrato de epinefrina no (grupo 0-Ig). Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$).

	Membros pélvicos	Cauda		
		R.P.	R.M.	R.D.
Ausência de resposta aos estímulos sensitivos	$78,4 \pm 24,9$	$55,4 \pm 9,9$	0	0
Miorelaxamento	$81,9 \pm 26,6$	-	-	-

Confirmou-se por meio desses dados que a dose de 2mg/kg foi efetiva, pois promoveu bloqueio sensorial nos membros pélvicos e região proximal da cauda, e miorelaxamento dos membros pélvicos. Foi então convertida a dose de 2mg/kg para mg/cm para cada um dos quatro animais, como citado anteriormente, e realizado a média desses valores. Obteve-se assim a dose de $0,158 \pm 0,004$ mg/cm, utilizada durante o protocolo experimental.

O período de anestesia nos membros pélvicos e cauda do grupo 0-Ig não diferem significativamente ($p > 0,05$) do grupo 2-Ig (descrita na seção 4.4.1), confirmando que a dose de 0,158mg/cm promove o mesmo efeito que a dose de 2mg/kg (Figura 16 e 17).

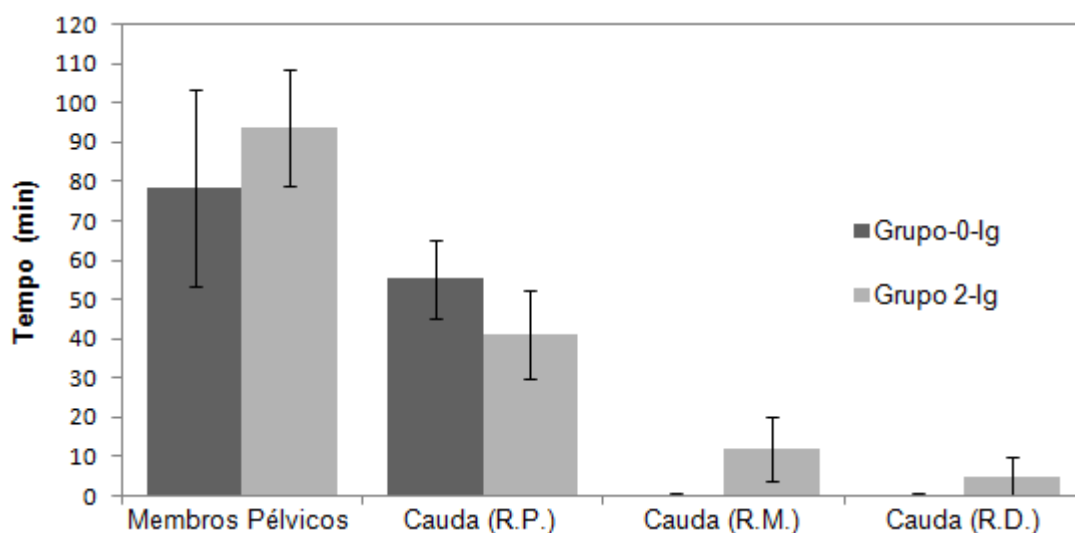


Figura 16 - Período (min) da ausência de resposta sensitiva nos membros pélvicos, região proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, nos grupos 0-Ig (determinação da dose) e 2-Ig (lidocaína). Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).

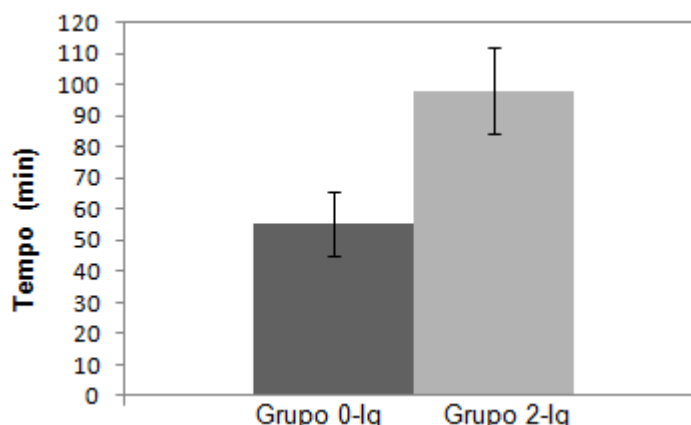


Figura 17 - Período (min) do miorelaxamento nos membros pélvicos. Grupos 0-Ig (determinação da dose) e 2-Ig (lidocaína). Valores apresentados como média ± E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).

4.4 Anestesia Espinhal

Foi administrado 0,158mg/cm de cloridrato de lidocaína com hemitartrato de epinefrina no grupo 2-Ig e solução fisiológica à 0,9% no grupo 1-Ig. Em seguida, foi avaliado o período de anestesia por meio das respostas sensitivas ao estímulo doloroso nos membros pélvicos e da cauda, pelo miorelaxamento nos membros pélvicos.

4.4.1 Avaliação do período de anestesia

Verificou-se que os animais do grupo 2-Ig permaneceram $93,8 \pm 14,8$ min sem apresentar resposta aos estímulos dolorosos nos membros pélvicos, $41,1 \pm 11,4$ min no terço proximal, $11,9 \pm 7,9$ min no terço médio e $4,9 \pm 4,9$ min no terço distal da cauda. Os animais apresentaram miorelaxamento nos membros pélvicos durante $98,1 \pm 13,7$ min (Tabela 2).

Tabela 2 - Período (min) da ausência de resposta ao estímulo sensitivo e do miorelaxamento nos membros pélvicos, região proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, após administração de 0,158mg/cm de cloridrato de lidocaína com hemitartrato de epinefrina (grupo 2-Ig). Valores

	Membros pélvicos	Cauda		
		R.P.	R.M.	R.D.
Ausência de resposta aos estímulos sensitivos	$93,8 \pm 14,8$	$41,1 \pm 11,4$	$11,9 \pm 7,9$	$4,9 \pm 4,9$
Miorelaxamento	$98,1 \pm 13,7$	-	-	-

Durante a avaliação do grupo 1-Ig, viu-se que os animais responderam comportamentalmente aos estímulos dolorosos a partir do primeiro pinçamento realizado nas diferentes regiões. Isso indica que o isoflurano não mascarou os estímulos dolorosos e que a analgesia foi promovida exclusivamente pela lidocaína. Porém, os animais apresentaram miorrelaxamento dos membros pélvicos durante $12,1 \pm 4,7$ min (Tabela 3), o que pode ser respondido agora pela influência do isoflurano, já que o mesmo produz moderado relaxamento muscular (EGER, 1984; SCHUMACHER, 1996). Os animais permaneceram parcialmente inconscientes pela ação do isoflurano durante $28,7 \pm 2,2$ min, respondendo apenas durante os estímulos dolorosos, o que reforça a hipótese do breve miorrelaxamento ser resultado da ação do fármaco.

Optou-se por utilizar o isoflurano para conter quimicamente os animais, pois o mesmo é considerado o anestésico geral mais indicado para ser utilizado em répteis (MADER, 2006). O período de indução e de recuperação são relativamente rápidos (SCHUMACHER, 1996; STOELTING; HILLIER, 2007; MADER, 2006), uma vez que a depressão do S.N.C. é dose-dependente (NATALINI, 2007b).

Tabela 3 - Período (min) da ausência de resposta ao estímulo sensitivo e do miorrelaxamento nos membros pélvicos, região proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, após administração de solução fisiológica à 0,9% (grupo 1-Ig). O volume corresponde ao de lidocaína para cada animal. Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M

	Membros pélvicos	Cauda		
		R.P.	R.M.	R.D.
Ausência de resposta aos estímulos sensitivos	$2,3 \pm 2,3$	0	0	0
Miorrelaxamento	$12,1 \pm 4,7$	-	-	-

O bloqueio sensitivo produzido pela lidocaína nos membros pélvicos foi comprovado estatisticamente ($p < 0.05$), quando comparados os grupos 1-Ig e 2-Ig (Figura 18). Ele foi bastante significativo ($93,8 \pm 14,8$ min) quando comparado aos dados obtidos em procedimentos similares descritos por Carvalho (2004), Fontenelle et al. (2000) e Futema et al. (2003) em outras espécies de répteis.

Quanto à cauda, apesar da representação gráfica mostrar que a lidocaína promoveu bloqueio sensitivo nas diferentes regiões, quando comparados os dois grupos, observou-se que

não há diferenças estatísticas significativas ($p > 0.05$), uma vez que o valor do erro padrão é alto (Figura 18).

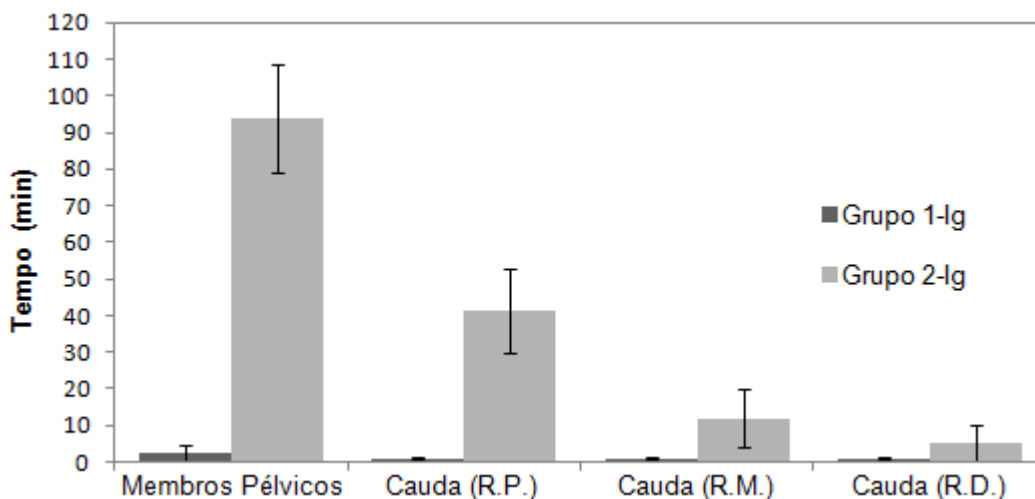


Figura 18 - Período (min) da ausência de resposta sensível nos membros pélvicos, região proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, nos grupos 1-Ig (controle) e 2-Ig (lidocaína). Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).

Esse paradoxo pode ser respondido por meio da análise individual do grupo 2-Ig. Observamos que um animal apresentou bloqueio sensitivo em toda cauda, em outro animal o bloqueio estendeu-se até a metade da cauda, em quatro animais apenas a base da cauda foi bloqueada e em dois animais não houve bloqueio sensitivo da cauda (Tabela 4).

Tabela 4 - Período (min) da ausência de resposta ao estímulo sensitivo nas regiões proximal (R.P.), média (R.M.) e distal (R.D.) da cauda, após administração de solução fisiológica à 0,9% nos oito animais (Animal 1 ao 8) do grupo 2-Ig.

	R.P.	R.M.	R.D.
Animal 1	0	0	0
Animal 2	0	0	0
Animal 3	54,8	0	0
Animal 4	65	56,1	0
Animal 5	35,35	0	0
Animal 6	96,95	0	0
Animal 7	39,8	39,8	39,8
Animal 8	37,25	0	0

O bloqueio sensitivo ocorreu em apenas algumas regiões da cauda de alguns animais, provavelmente, pois apenas em alguns indivíduos o anestésico foi inoculado nos espaços meníngeos. Como vimos anteriormente, devido às características anatômicas desses animais o

acesso aos espaços meníngeos é complexo e laborioso, sendo provável que em alguns animais o anestésico tenha sido inoculado não nos espaços meníngeos, mais próximo ao espaço intervertebral presente entre as vértebras PS9 ou S1.

Desse modo, podemos supor então que no animal em que se observou bloqueio sensitivo de toda a extensão da cauda (N 7), e no indivíduo em quem bloqueio se estendeu até a metade da cauda (N 4), parte do volume do anestésico administrado (pequena quantidade) foi depositado nos espaços meníngeos, sendo que a dose e/ou volume foi suficiente pra promover uma bloqueio sensitivo nessas regiões.

Provavelmente, somente parte do volume foi depositado nos espaços meníngeos, uma vez que a área presente nesses espaços é muito reduzida. Em mamíferos, essa área é também ocupada pelos nervos espinhais, vasos sanguíneos, tecido adiposo (espaço epidural) e líquido céfalo-raquidiano (espaço subaracnóideo) (GETTY, 1981; MECATTI, 2012; OLIVER; MIDDLEDITCH, 1998; TORSKE; DYSON, 2000). Se o volume injetado é maior que a área naquela região ou o fármaco é impedido de se difundir nos espaços meníngeos, parte do anestésico pode transpor os forames vertebrais e os manguitos duros que envolvem os troncos dos nervos espinhais (BRIERLEY; FIELD, 1949).

Através das análises prévias não foi possível determinar a área total dos espaços meníngeos, presente na região pré-sacral. Porém, sabe-se que o volume do anestésico inoculado no espaço intervertebral PS₉-S₁ (em média $0,25 \pm 0,007$ ml) provavelmente foi maior que a área presente na região. Além disso, a área dos espaços meníngeos na região articular das vértebras pré-sacrais é tão reduzida que não é possível visualiza-la, o que pode ter comprometido a difusão do anestésico no canal medular. Devido a essas características, é bastante provável que parte do anestésico, mesmo quando inoculado nos espaços meníngeos, tenha transposto os forames vertebrais.

Esses animais também apresentaram bloqueio sensitivo dos membros pélvicos. A lidocaína apresenta-se como um anestésico local potente e com alto poder de penetração (GIULIANO, 2008), paralisando as fibras sensitivas prontamente e com maior rapidez que as fibras motoras (HALL; CLARKE, 1987; HALL; CLARKE; TRIM, 2001). Quando inoculada no espaço epidural, a mesma atua inicialmente e de forma rápida bloqueando os ramos nervosos que originam o plexo lombossacral, resultando em um bloqueio paravertebral múltiplo (KLIDE, 1992; MASSONE, 1994). O plexo lombossacral é responsável por inervar os membros pélvicos, promovendo assim um bloqueio sensitivo dos mesmos (BARROS et al., 2003; DYCE; SACK; WENSING, 2004). Quando depositada no espaço subaracnóideo, age diretamente nas raízes nervosas espinhais (KANE, 1981; MASSONE, 1994).

Porém, provavelmente o bloqueio sensitivo nos membros pélvicos ocorreu principalmente por um bloqueio paravertebral dos ramos nervosos que originam o plexo lombossacral, após o anestésico ser inoculado próximo ao espaço intervertebral presente entre as vértebras PS9 ou S1, e não nos espaços meníngeos.

Podemos confirmar essa hipótese ao analisar os outros seis indivíduos. Destes, dois animais (N1 e N2) apresentaram bloqueio sensitivo apenas nos membros pélvicos, e não houve perda da sensibilidade das diferentes regiões da cauda, indicando que o anestésico atuou apenas no plexo lombossacral e não atingiu a medula espinhal.

Já os outros quatro indivíduos (N 3, N5, N6 e N8) apresentaram bloqueio sensitivo dos membros pélvicos e também na região proximal da cauda. Este fato pode ser explicado pela perda da sensibilidade do músculo *caudofemoralis longus*. Este músculo é responsável pela retração dos membros pélvicos, tendo sua origem nas primeiras vértebras caudais e inserções sobre o fêmur (RUSSELL; BAUER, 1992). Partindo do pressuposto de que este músculo é innervado pelo plexo lombossacral (por apresentar sua inserção no fêmur), o mesmo foi insensibilizado quando administrada a lidocaína, e por isso os animais permaneceram por um período maior sem responder aos estímulos dolorosos realizados na região proximal da cauda (onde se encontra a origem do músculo).

Em um estudo realizado por Carvalho (2004) no qual foi descrito as características anatômicas da medula espinhal de *Geochelone carbonaria*, viu-se que os ramos nervosos que formam o plexo lombossacral originam-se dos segmentos medulares presentes nas vértebras To₆, S₁, S₂, S₃, S₄, S₅ e C₁ (To: vértebra torácica, que nesse caso se refere às vértebras localizadas entre as cervicais e as sacrais; S: vértebra sacral; C: vértebra coccígea). Em cães, os ramos nervosos emergem dos seguimentos medulares presentes em L₄ à S₂ para formar o plexo lombossacral (GHOSHAL, 1986). Em mamíferos, geralmente, o plexo lombossacral inicia-se com o ramo ventral do quarto nervo lombar e termina com o ramo ventral do segundo nervo sacral (L₄-S₂), tendo uma raiz adicional em espécies que possuem sete nervos lombares (DYCE; SACK; WENSING, 2004).

Se as características anatômicas da medula da espinhal e dos nervos espinhais do *I. iguana* seguirem o mesmo padrão que nesses animais, o anestésico foi então inoculado diretamente na região onde se encontra o plexo lombossacral, anestesiando-o e promovendo o bloqueio sensitivo.

Desse modo, concluiu-se que em todos os animais houve um bloqueio paravertebral dos nervos que originam o plexo lombossacral (bloqueio sensitivo de membros pélvicos) e em

dois animais houve também um bloqueio medular pela administração de parte do volume nos espaços meníngeos.

Isso explica também o miorelaxamento nos membros pélvicos promovido pela lidocaína nos animais do grupo 2-Ig, que pode ser comprovado estatisticamente ($p < 0.01$) quando comparados os grupos 1-Ig e 2-Ig (Figura 19).

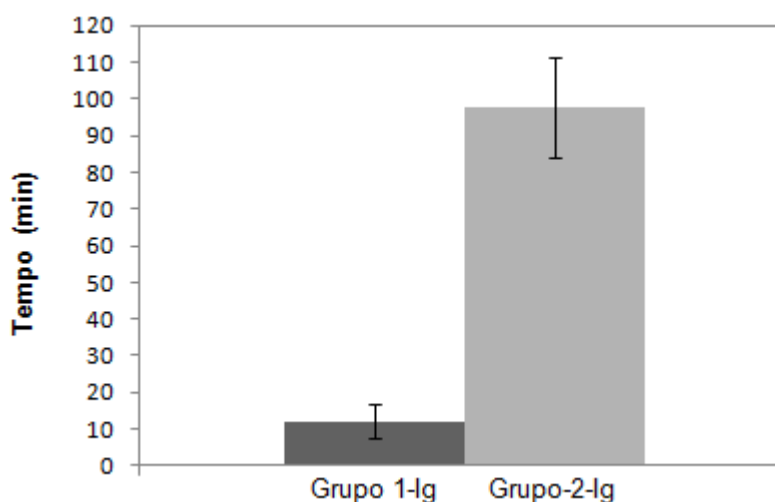


Figura 19 - Período (min) do miorelaxamento nos membros pélvicos. Grupos 1-Ig (controle) e 2-Ig (lidocaína). Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).

4.5 Avaliação da temperatura corporal

Verificou-se que os animais do grupo 1-Ig apresentaram uma T_c média de $27,2 \pm 0,2$ °C, enquanto que no grupo 2-Ig a T_c foi em média $27,4 \pm 0,2$ °C (Figura 20).

Em répteis (por serem ectotérmicos) a manutenção da T_c é realizada por meio de fontes externas de calor e o metabolismo, bem como a maior parte dos mecanismos fisiológicos, depende diretamente da T_c do animal (BERTELSEN, 2007; ROSSI, 2006).

Segundo Huey (1982) e Pough, (1983), não há uma T_c “ótima” em lagartos, e sim uma “mais adequada” para cada atividade em curso, e mantê-la dentro dos limites adequados ao metabolismo é fundamental para sua sobrevivência (HUEY; SLATKIN, 1976). Mader (2006) descreve que a T_c preferida do *I. iguana* durante o dia é em torno de 28,9°C a 32,2°C, e durante a noite de 19,4°C a 25°C.

A T_c média em ambos os grupos não oscilou de forma significativa ($p > 0,05$), mantendo se constante durante praticamente todo o experimento. Quando os dois grupos foram analisados, observou-se que também não houve diferença significativa entre eles ($p > 0,05$) (Figura 20). Podemos dizer então que além dos animais apresentarem T_c média

dentro dos parâmetros considerados como “preferidos” para o *I. iguana*, o que implica na metabolização e excreção ideal dos fármacos e, conseqüentemente, numa indução e recuperação satisfatória, a comparação entre os grupos pode ocorrer de maneira fidedigna.

É indicado manter T_c variando entre 25°C à 35°C durante a indução, manutenção e a recuperação anestésica de espécimes da ordem esquamata que vivem em climas tropicais e temperados (WEST; HEARD; CAULKETT, 2007).

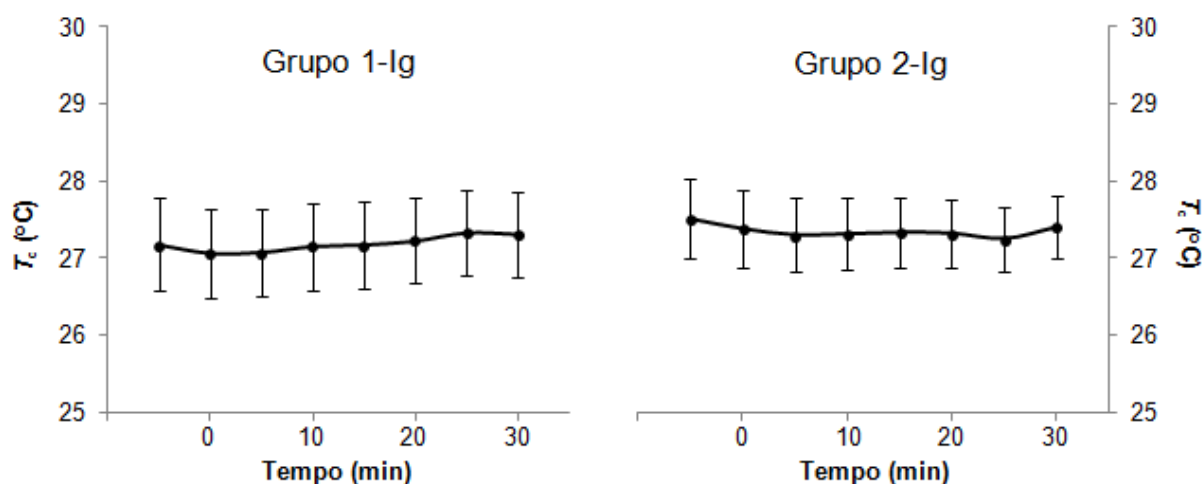


Figura 20 - Temperatura corporal (T_c – °C) do grupo 1-Ig (controle) e grupo 2-Ig (lidocaína), monitorada 5 minutos antes da inoculação, durante (tempo 0) e 30 minutos após a inoculação. Não houve diferença significativa entre os grupos e durante todo o monitoramento. Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).

4.6 Avaliação da frequência cardiorrespiratória

4.6.1 Frequência cardíaca

Foi monitorada a f_H dos dois grupos durante os cinco minutos pré-inoculação do fármaco para se determinar os valores médios de “repouso”, uma vez que os animais estavam sob contenção química e não havia estímulos estressantes. A f_H média em repouso do grupo 1-Ig foi de $36,8 \pm 1,1$ b.p.m., enquanto que a do grupo 2-Ig foi de $39 \pm 1,1$ b.p.m. (Figura 21).

Em estudos realizados por Tucker (1966) com *I. iguana*, foi possível observar que a f_H dos animais em repouso em uma T_c de 30°C foi de 38,2 b.p.m. Quando comparamos os resultados do presente estudo com o de Tucker (1966), observa-se que apesar da diferença de aproximadamente 2,5°C na T_c dos animais, não houve diferença significativa na f_H , confirmando os valores de repouso. Este mesmo autor descreve também que o coeficiente de temperatura (Q_{10}) de *I. iguana* para f_H em repouso em seu experimento foi de 2,19.

Apesar dos animais permanecerem sob contenção química durante esse período por meio do anestésico volátil isoflurano, o mesmo não promoveu depressão cardiovascular significativa. Em iguanas, como em outros animais, o isoflurano quando utilizado em concentrações anestésicas elevadas modifica a capacidade cardiovascular em função da dose (MOSLEY; DYSON; SMITH, 2004; STEFFEY; MAMA, 2007), podendo promover uma diminuição da pressão arterial, aumento da resistência sistêmica vascular, depressão da atividade do miocárdio e diminuição do débito cardíaco (CLARKE, 1999). Apesar de alguns indivíduos serem mantidos em um plano anestésico mais profundo, devido às dificuldades em se controlar a administração do fármaco e ao estresse da indução anestésica, a maioria dos animais foram mantidos em plano anestésico superficial, não sendo observados esses efeitos. Além disso, segundo Mosley, Dyson e Smith (2004), a dose de isoflurano necessária para promover alterações cardiovasculares em iguanas é maior do que a dose máxima liberada pelos vaporizadores, indicando que existe uma ampla margem de segurança.

Durante a inoculação do fármaco houve um aumento significativo da f_H em ambos os grupos ($p < 0,01$) (Figura 21). Provavelmente uma resposta ao estímulo doloroso promovido pela inserção da agulha na medula espinhal ou pelo atrito da agulha ao periósteo de uma das vértebras (PS_9 ou S_1). Os animais também responderam contraindo levemente a musculatura dos membros pélvicos e da região perineal, seguido do relaxamento muscular quase que imediato, o que corrobora com essa hipótese.

Ao analisar o período pós-inoculação, observou-se que a f_H do grupo 1-Ig aumentou após os pinçamentos realizados nos períodos de 5, 15, 20 e 25 minutos de monitoramento. Esse fato pode ser comprovado por meio de análises estatísticas ($p < 0,05$) ao se comparar a f_H no período em que se realizou o estímulo doloroso e um minuto após o estímulo. Houve momentos, por exemplo, em que alguns animais apresentavam 38 b.p.m., e um minuto após o estímulo doloroso a f_H aumentou para 60 b.p.m. Em seguida a f_H diminuía gradativamente, até próximo dos valores de repouso.

O aumento da f_H durante os pinçamentos provavelmente ocorreu devido à percepção dos animais aos estímulos dolorosos, pois não havia bloqueio sensitivo nos membros pélvicos e cauda. Além disso, estímulos estressantes como a presença do anestesista também influenciaram. Os animais reagiam adotando postura de defesa, ficavam agitados e apresentavam reflexo de retirada quando o anestesista se aproximava. Ao remover os estímulos dolorosos e as condições de estresse, a f_H retornava aos valores de repouso.

Quando analisada a f_H do grupo 1-Ig no décimo minuto de monitoramento, observou-se que não houve aumento significativo da mesma após os pinçamentos (Figura 21), o que foi

comprovado pelo alto valor do erro padrão. Alguns animais, por exemplo, apresentavam 53 b.p.m. e um minuto após o estímulo doloroso a f_H diminuía para 50 b.p.m, provavelmente por estarem sob condições de estresse antes mesmo de se realizar o estímulo.

Ao perceber o estímulo estressante, o organismo responde com uma “reação de alarme”. O sistema nervoso autônomo simpático atua sobre a medula da adrenal promovendo a liberação de grande quantidade de catecolaminas na corrente circulatória (CUNNINGHAM, 1993; FERREIRA, 2008; FOWLER, 1986). Essas catecolaminas desencadeiam um estado de alerta nos animais, promovendo aumento da frequência e da força de contração cardíaca (SWENSON; REECE, 1996), da contração esplênica e diminuição da circulação sanguínea para regiões periféricas. O objetivo dessas mudanças é aumentar a distribuição de sangue para os órgãos vitais (DANTZER; MORMÉDE, 1984). Além disso, o S.N.C. emite informações aos nervos periféricos, gerando diferentes respostas comportamentais (GUYTON; HALL, 1997). Os animais podem reagir adotando uma postura defensiva ou protetora, tentando se esquivar, esconder e até mesmo fugir (FOWLER, 1986).

Quanto ao grupo 2-Ig, a f_H manteve-se acima dos níveis de repouso durante todo o período pós-inoculação ($49,8 \pm 0,6$ b.p.m.), provavelmente devido ao estresse gerado pela insensibilidade nos membros pélvicos e cauda (Figura 21). Os animais se arrastavam e tentavam fugir do local, mesmo nos momentos em que não se realizava o estímulo doloroso. Este comportamento não foi observado no grupo 1-Ig, pois apesar de apresentarem estado de alerta durante todo monitoramento pós-inoculação, reagem apenas durante os pinçamentos.

Ao se comparar a f_H do grupo 2-Ig durante o estímulo doloroso com um minuto após o estímulo, pode se comprovar que a mesma aumentou significativamente durante os pinçamentos realizados após 5, 10 e 25 minutos de monitoramento ($p < 0.05$).

Provavelmente, o aumento na f_H após os pinçamentos é resultado do estresse desencadeado pela aproximação do anestesta e pela manipulação dos animais, mais também pela percepção dos animais aos estímulos dolorosos nas diferentes regiões cauda, uma vez que não foi possível realizar um bloqueio sensitivo satisfatório nessas regiões.

Apesar da representação gráfica demonstrar que há um aumento na f_H após os pinçamentos realizados em 15 e 20 minutos de monitoramento pós-inoculação, não foi possível confirma-los por meio das análises estatísticas ($p > 0.05$). Esse fato pode ser também respondido pelo elevado valor do erro padrão. Há, por exemplo, animais que apresentaram 51 b.p.m., e um minuto após o estímulo doloroso a f_H diminuiu para 49 b.p.m. Esses animais provavelmente estavam sob condições de estresse antes se realizar o estímulo doloroso.

Quando comparada a f_H dos dois grupos em cada minuto de todo o monitoramento pós-inoculação, pode-se observar que não há diferenças significativas entre ambos ($p > 0.05$), apesar da representação gráfica (Figura 21) apontar alguns períodos em que a f_H do grupo 2-Ig aparentemente está acima da f_H do grupo 1-Ig. Essa contradição pode ser respondida ao analisar os indivíduos de cada grupo. Por exemplo, pode se observar que o grupo 1-Ig apresenta f_H de 47,3 b.p.m. e o grupo 2-Ig de 50,8 b.p.m. (valor médio) aos quatorze minutos após a inoculação do fármaco. Porém analisando individualmente cada grupo nesse período, viu-se que a f_H de alguns animais do grupo 1-Ig chegou a 54 b.p.m. (muito acima dos valores médios), enquanto que no grupo 2-Ig chegou a 32 b.p.m. (bem abaixo dos valores médios). Conclui-se então que o valor do erro padrão nos dois grupos (durante todo monitoramento pós-inoculação) é alto e por isso não há diferença significativa entre os valores médios.

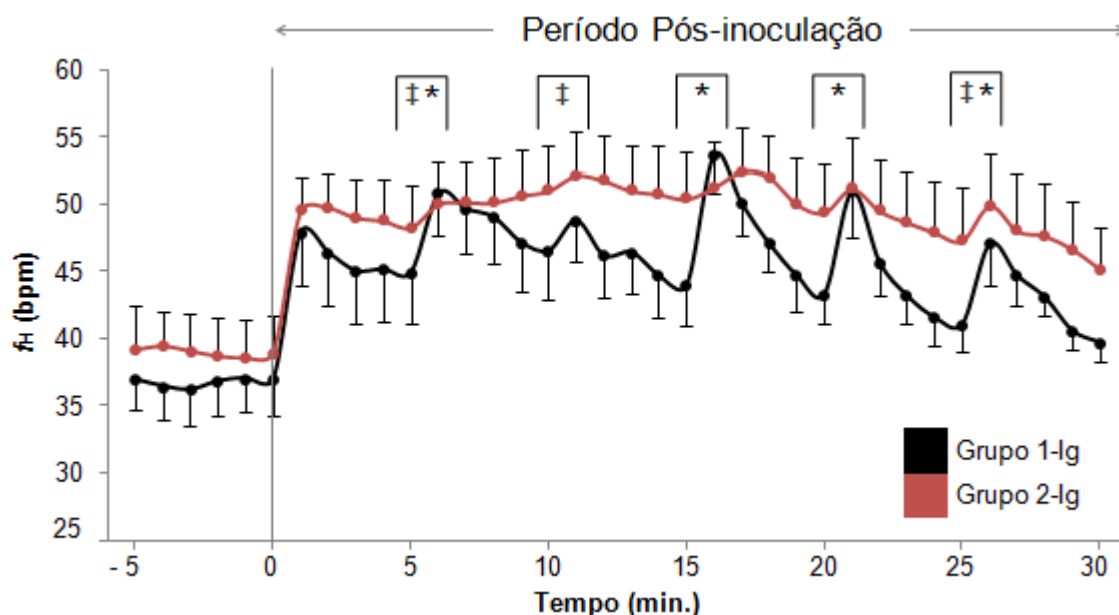


Figura 21 - Frequência cardíaca (f_H – b.p.m.) do grupo 1-Ig (linha preta - controle) e grupo 2-Ig (linha vermelha - lidocaína), monitorada 5 minutos antes da inoculação, durante (tempo 0) e 30 minutos após a inoculação. O * representa o grupo 1-Ig e o † representa o grupo 2-Ig, indicando que há diferença significativa quando comparada a f_H no minuto em que se realizou o estímulo doloroso com o minuto após o estímulo. Não há diferença significativa entre a f_H de ambos os grupos durante todo o monitoramento pós-inoculação. Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).

4.6.2 Frequência respiratória

A f_R do grupo 1-Ig nos cinco minutos pré-inoculação do fármaco (valores em repouso) foi em média $10,6 \pm 0,8$ m.p.m., enquanto que do grupo 2-Ig foi $8,1 \pm 0,8$ m.p.m. (Figura 22).

Essa diferença de aproximadamente 2,5 m.p.m. entre os dois grupos ocorreu, provavelmente, pois alguns animais do grupo 2-Ig foram mantidos em um plano anestésico

mais profundo. A contenção química foi realizada por meio de vaporizador universal e por mais que se tenha buscado manter os animais em plano superficial, não foi possível controlar a quantidade exata de anestésico administrado.

Segundo Bennet (1996), Nunes, Cruz e Cortopassi (2006), a f_R varia em torno de 10 a 20 m.p.m. na maioria dos répteis. Giordano e Jackson (1973) ao avaliarem a f_R em três *I. iguana*, observaram que os animais com uma T_c de 30°C apresentavam em média $9,8 \pm 3,2$ m.p.m. Apesar da diferença de aproximadamente 2,5°C na T_c dos animais deste estudo com os estudados por Giordano e Jackson (1973), observa-se que não há diferenças significativas na f_R média, confirmando os valores de repouso nesse período.

Tucker (1966) observou que o Q_{10} de *I. iguana* para o consumo de oxigênio foi de 2,29. Moberly (1968) descreve o valor de 2,24 e Giordano e Jackson (1973) relataram que nos iguanas estudados por eles o valor foi de 2,45.

Apesar da representação gráfica (Figura 22) indicar que ao introduzir a agulha houve uma depressão na f_R do grupo 1-Ig, pode-se observar por meio das análises estatísticas que não há diferenças significativas ao se comparar a f_R durante a inoculação e um minuto após ($p>0.05$), uma vez que o valor do erro padrão nos dois grupos (durante esse período) é alto.

Aproximadamente um minuto após a inoculação, a f_R começou a aumentar. O aumento ocorreu de forma progressiva até os treze minutos de monitoramento pós-inoculação. Em seguida, apesar de haver oscilações, a f_R manteve-se em torno de $16,6 \pm 0,3$ m.p.m. até o término do monitoramento (Figura 22). É provável que o aumento da f_R seja uma resposta aos diversos fatores estressantes e aos estímulos dolorosos realizados a cada 5 minutos. Durante todo o monitoramento do grupo 1-Ig, os animais permaneceram em estado de alerta, adotando postura de defesa. Os sinais de estresse se acentuavam durante os pinçamentos e pela aproximação do anestesista.

Quanto ao grupo 2-Ig, não houve alterações significativas na f_R durante a inoculação do fármaco, o que pode ser comprovado estatisticamente ($p>0.05$). Por meio da representação gráfica pode se observar também que f_R manteve-se praticamente constante durante os primeiros cinco minutos pós-inoculação (Figura 22). É provável que alguns animais tenham sido mantidos em um plano anestésico mais profundo durante a contenção química com isoflurano, comprometendo assim a f_R .

Apesar do isoflurano possibilitar uma rápida indução e recuperação (permitindo assim um melhor controle do plano anestésico), é comum que agentes inalatórios promovam depressão respiratória em répteis (ROONEY et al., 1999).

Além disso, a progressão do anestésico local no canal medular pode resultar em um comprometimento da mecânica respiratória. A dose dos fármacos inoculados por via epidural em mamíferos geralmente é maior do que a recomendada pela via subaracnoidea. Quando administrados de forma acidental no espaço subaracnóideo, pode haver progressão cefálica rápida do anestésico, ocorrendo depressão respiratória (MASSONE, 1994; FANTONI, 2012) por bloqueio da inervação intercostal (OTERO, 2005). Lembrando que lagartos não possuem diafragma e a respiração é realizada por movimentos de contração e expansão das costelas (MADER, 2006).

Porém, pelo fato dos espaços meníngeos serem extremamente reduzidos (e em algumas áreas inexistentes) provavelmente não houve uma difusão cefálica do anestésico no canal medular. Além disso, é provável que apenas parte do anestésico foi inoculado nos espaços meníngeos, reduzindo assim o volume presente nessa área.

Após esse período a f_R aumentou gradativamente até aproximadamente onze minutos de monitoramento, onde apesar das oscilações, manteve-se em média $11,7 \pm 0,4$ m.p.m. (Figura 22). Provavelmente a f_R permaneceu acima dos valores de repouso devido aos diferentes estímulos estressantes (insensibilidade em membros pélvicos e cauda, presença do anestesista, manipulação do animal), mais também pela percepção dos animais aos estímulos dolorosos nas diferentes regiões cauda, uma vez que não foi possível um bloqueio sensitivo satisfatório nessas regiões.

Comprovou-se por meio de análises estatísticas que a f_R do grupo 1-Ig esteve acima da f_R do grupo 2-Ig durante a maior parte do período pós-inoculação ($p < 0.05$). Provavelmente, devido a um comprometimento da mecânica respiratória promovido pelo isoflurano (alguns animais foram mantidos em um plano anestésico mais profundo).

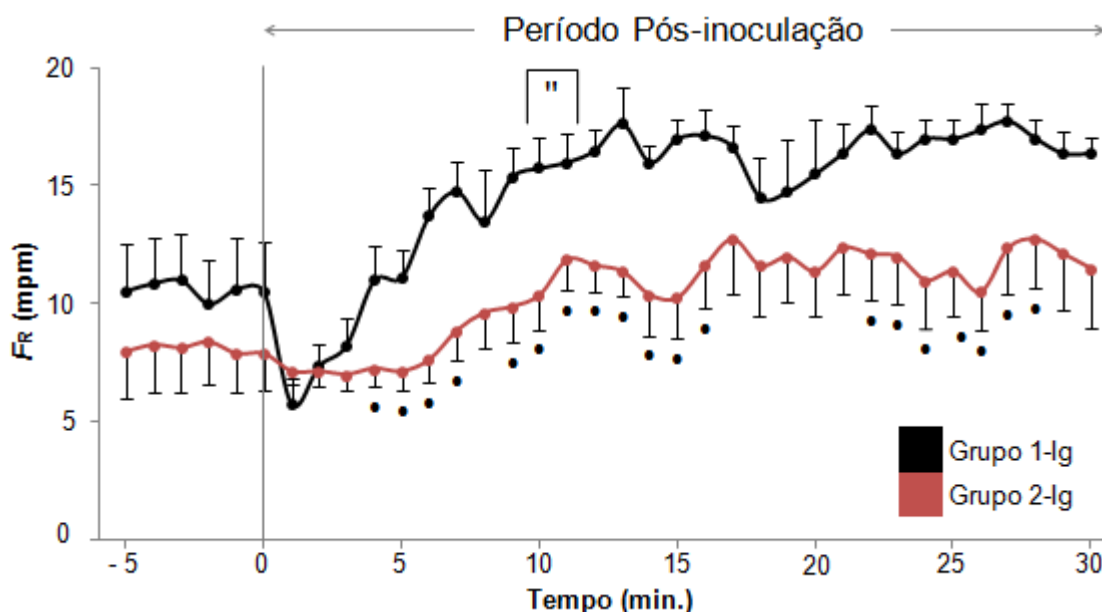


Figura 22 - Frequência respiratória (f_R – m.p.m.) do grupo 1-Ig (linha preta - controle) e grupo 2-Ig (linha vermelha - lidocaína), monitorada 5 minutos antes da inoculação, durante (tempo 0) e 30 minutos após a inoculação. O • indica que há diferença significativa quando comparada a f_R entre os dois grupos no referido minuto. O " representa o grupo 2-Ig, indicando que há diferença significativa quando comparada a f_R no minuto em que se realizou o estímulo doloroso com o minuto após o estímulo. Valores apresentados como média $\pm$ E.P.M. ($p \leq 0,05$). (Fonte: Sanches, 2014).

4.7 Crítica ao método

Observou-se que a técnica de anestesia espinal elaborada nesse estudo promoveu um bloqueio sensitivo e um miorrelaxamento bastante satisfatório nos membros pélvicos. Além disso, houve poucas alterações cardiorrespiratórias após a administração do anestésico. Essas características tornam essa técnica uma ferramenta importante durante a realização de procedimentos clínico-cirúrgicos nos membros pélvicos, podendo ser associada a outras técnicas anestésicas.

Porém, como já descrito anteriormente, é provável que a agulha perfurou a medula espinal ao ser introduzida (confirmado pelas respostas fisiológicas e comportamentais perante a inoculação), não sendo possível evitar uma lesão medular. Essa lesão foi responsável por quatro indivíduos apresentarem monoplegia do membro pélvico esquerdo e um indivíduo paraplegia.

Quatro animais foram escolhidos ao acaso e utilizados durante a adequação da dose de lidocaína a ser empregada (grupo 0-Ig). Nesses animais a agulha foi introduzida no canal medular apenas uma vez e não houve lesão medular.

Posteriormente, oito indivíduos foram submetidos aos dois protocolos experimentais (grupo 1-Ig e grupo 2-Ig), e nesses animais a agulha foi introduzida no canal medular duas

vezes. Quatro desses animais apresentaram monoplegia do membro pélvico esquerdo após a agulha ser inserida pela segunda vez, durante a administração de solução salina (foram anestesiados primeiramente os animais do grupo 2-Ig e posteriormente administrou-se solução salina à 0,9% nos animais do grupo 1-Ig). Porém, em um animal pode se observar monoplegia do membro pélvico esquerdo ao introduzir a agulha pela primeira vez (lidocaína), e ao ser realizada a segunda inoculação (solução salina), o mesmo desenvolveu paraplegia.

No *I. iguana* a medula espinhal estende-se até o extremo da cauda, não sendo possível evitá-la durante a inoculação. Gatos, por exemplo, pelo fato da medula espinhal estender-se até o segmento sacral, o acesso pelo espaço lombossacro durante a anestesia epidural pode desencadear desde a perda da sensibilidade cutânea em regiões abdominais até paralisia da cauda e dos membros pélvicos (CÂMARA FILHO; RAMANDINHA; RODRIGUES, 2000). Lesão traumática da medula espinhal e das raízes nervosas durante a inserção da agulha é descrita como uma das possíveis complicações durante bloqueios espinhais (READY et al., 1985; RIGLER et al., 1991; VANDERMEULEN; GOGARTEN; VAN-AKEN, 1997; YUEN et al., 1995).

Devido as características morfológicas do *I. iguana* e a dificuldade em se realizar esta técnica, devem ser elaborados estudos voltados à compreensão da anatomia macroscópica e microscópica da coluna vertebral e do S.N.C. desses animais. Também devem ser desenvolvidas pesquisas direcionadas em aperfeiçoar, simplificar e favorecer o acesso aos espaços meníngeos, uma vez que a anestesia espinhal possui inúmeras vantagens quando comparada a outros procedimentos anestésicos.

5 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos no presente estudo conclui-se que:

- a) o sítio indicado para inoculação de fármaco é o espaço intervertebral presente entre a nona vértebra pré-sacral e primeira vertebral sacral, uma vez que a medula espinhal do *I. iguana* estende-se até a extremidade da cauda e nessa região a área presente nos espaços epidural e subaracnóideo é mais ampla, além dos processos espinhosos das vértebras pré-sacrais e sacrais serem menores que os das vértebras coccígeas, o que facilita o acesso;
- b) a técnica anestésica foi classificada como “anestesia espinhal”, pois devido às características anatômicas do canal medular e as dificuldades em se realizar a técnica, a agulha provavelmente transpôs a medula espinhal ao ser introduzida, e o anestésico foi inoculado no interior da mesma, bem como nos espaços epidural e subaracnoideo;
- c) devido as dificuldades em se realizar a técnica e as características anatômicas do *Iguana iguana*, a anestesia espinhal foi realizada em apenas dois indivíduos, sendo que nos outros seis animais o anestésico foi administrado fora dos espaços meníngeos, promovendo apenas um bloqueio paravertebral dos ramos nervosos que originam o plexo lombossacral;
- d) a dose de cloridrato de lidocaína utilizada foi suficiente para promover um bloqueio sensitivo de $93,8 \pm 14,8$ min e um miolorrelaxamento de $98 \pm 13,7$ min em membros pélvicos;
- e) a T_c dentro dos parâmetros considerados como “preferidos” para o *I. iguana* provavelmente possibilitou a metabolização ideal dos fármacos e permitiu uma comparação fidedigna dos resultados entre os grupos;
- f) a f_H acima dos valores de repouso após a inoculação do fármaco e durante os pinçamentos, provavelmente foi uma resposta aos diferentes estímulos estressantes e dolorosos;

- g) apesar da f_R acima dos valores de repouso durante o período pós-inoculação, provavelmente houve comprometimento da mecânica respiratória em alguns animais, por não ser possível mantê-los em plano anestésico superficial;
- h) não foi possível evitar a lesão medular promovida pela inserção da agulha em alguns animais (características anatômicas do canal medular e dificuldade em ser realizar a técnica), o que ocasionou em monoplegia do membro pélvico esquerdo de quatro indivíduos e paraplegia em um indivíduo.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, D. R. R. **Midazolam como coadjuvante en la anestesia epidural em pacientes sometidas a cesarea, Hospital Escuela Bertha Calderon Roque septiembre-diciembre 2004**. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua, 2004.
- BACHA Jr, W. J.; BACHA, L. M. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003. 457 p.
- BALLER, L. S.; HENDRICKSON, D. A. Management of equine orthopedic pain. **The Veterinary Clinics of North American: equine practice**, v. 18, n. 4, p. 123-127, 2002.
- BARROS, R. A. C. et al. Constituição do plexo lombar do macaco *Cebus apella*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, n. 5, p. 373-381, 2003.
- BENNETT, R. A. Anesthesia. In: MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. p. 241-247.
- BERG, R. **Anatomia topografica y aplicada de los animales domesticos**. Madrid: Editorial AC, 1978. 414 p.
- BERTELSEN, M. F. Squamates (Snakes and Lizards). In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo animal and wildlife immobilization and anesthesia**. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. v. 1. p. 233-243.
- BOOTH N. H. Anestésicos locais. In: BOOTH N. H.; MCDONALD L. E. **Farmacologia e terapêutica veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p. 323-335.
- BRASIL. Resolução nº 1000, de 11 de Maio de 2012. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Conselho Federal de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo. Brasília, DF, 2012.
- BRIERLEY, J. B.; FIELD, E. J. The fate of an intraneural injection as demonstrated by the use of radio-active phosphorus. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 12, n. 2, p. 86-89, mai. 1949.
- BROMAGE, P. R. Spread of analgesic solutions in the epidural space and their site of action: a statistical study. **British Journal of Anaesthesia**, v. 34, p. 161-178, mar. 1962.
- CÂMARA FILHO, J. A.; RAMANDINHA, L. S.; RODRIGUES, M. R. Utilização do sítio sacrococcígeo na anestesia epidural em gatos domésticos. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 7, p. 175-178, 2000.
- CARREGARO, A. B. et al. Influência da temperatura corporal de cascavéis (*Crotalus durissus*) submetidas à anestesia com cetamina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 12, p. 969-973, dez. 2009.

- CARVALHO, R. C. **Topografia vértebro-medular e anestesia espinhal em jabuti das “patas vermelhas” *Geochelone carbonaria* (SPIX, 1824).** 126 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- CLARKE, K. W. Desflurane and sevoflurane: new volatile anesthetic agent. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 29, n. 3, p. 793-808, 1999.
- COOPER, J. E. Dermatology. In: MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2006. p. 196-216.
- CORTOPASSI, S. R. G.; FANTONI, D. T.; BERNARDI, M. M. Anestésicos locais. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 129-136.
- COVINO, B. G.; LAMBERT, D. H. Anestesia peridural e subaracnoidea. In: BARASH, O. G.; CULLEN, B. F.; STOELTING, R. K. **Tratado de anestesiologia clínica**. São Paulo: Manole, 1993. p. 905-943.
- CRUZ, M. L. et al. Epidural anaesthesia using lignocaine, bupivacaine or a mixture of lignocaine and bupivacaine in dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 24, n. 1, p. 30-32, 1997.
- CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 454 p.
- DANTZER, R.; MORMÉDE, P. Fisiopatologia de la reacción a las agresiones. In: _____. **El stress en la cría intensiva del ganado**. Zaragoza: Editorial Acríbia, 1984. p. 41-86.
- DYCE K. M., SACK, W. O.; WENSING, C. **Tratado de anatomia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 813 p.
- EGER, E. I. The pharmacology of isoflurane. **British Journal of Anaesthesia**, v. 56, p.71-99, 1984.
- FANTONI, D. T. **Tratamento da dor na clínica de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. p. 199-209.
- FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em cães e gatos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2002. 389 p.
- FERREIRA, K. V. P. **Estresse: conceito e pontos fisiológicos de observação em cães**. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) - Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2008.
- FERREIRA, M. B. C. Anestésicos locais. In: WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. **Farmacologia clínica para dentistas**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. p.104-116.
- FIALHO, S. A. G. **Anestesiologia veterinária: guia prático de anestesia para pequenos e grandes animais**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1986. 234 p.

FONTENELLE, J. H. et al. Anestesia epidural em jabuti piranga (*Geochelone carbonaria*). In: ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 4.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 9., 2000, São Pedro. **Anais...** São Pedro: [s.n.], 2000. p. 7.

FOWLER, M. E. Stress. In: _____. **Zoo & wild animal medicine**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1986. p. 34-35.

FUTEMA, F. et al. Anestesia epidural em tartarugas marinhas (*Chelonia mydas*) submetidas à excisão de Papilomas. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 8.; E ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 13., 2004, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: [s.n.], 2004. p. 73.

FUTEMA, F. et al. Relato de caso: anestesia epidural em chelonia mydas. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 7.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 12., 2003, Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro: [s.n.], 2003. p. 95.

GAYNOR, A. Espaço epidural da região lombar: anatomia e via de acesso. In: REYNOLDS, F. **Bloqueio epidural e raquiano em obstetrícia**. 1. ed. São Paulo: Livraria e editora Santos, 1993. p. 3-18.

GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. v. 1. 1134 p.

GHOSHAL, N. G. Nervos espinhais. In: GETTY, R. **Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. p. 1052-1077.

GIORDANO, R. V.; JACKSON, D. C. The effect of temperature on ventilation in the green iguana (*Iguana iguana*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 45, p. 235-238, 1973.

GIULIANO, E. A. Regional Anesthesia as an adjunct for eyelid surgery in dogs. **Topics in companion animal medicine**, v. 23, n. 1, p. 51- 56, 2008.

GOODCHILD, C. S.; SERRÃO, J. M. Cardiovascular effects of propofol in the anaesthetized dog. **British Journal of Anaesthesia**, v. 63, p. 87-92, 1989.

GOULART, T. F.; HAMAJI, A.; KURIKI, W. Anestésicos locais. **Revista Prática Hospitalar**, n. 41. p. 3-8, 2005.

GREENE, S. A. **Segredos em anestesia veterinária e manejo da dor**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

GRIMM, K. A. Anestesia epidural. In: GREENE, S. A. **Segredos em anestesia veterinária e manejo da dor**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 387-392.

GUIBÉ, J. Le squelette Du tronc et des membres. In: GRASSÈ, P. P. **Traité de zoologie: anatomie, systématique, biologie. Reptiles caractères généraux et anatomie.** 2. ed. Paris: Masson et Cie Editeurs, 1970. p. 33-48.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Os hormônios adrenocorticais. In: _____. **Tratado de fisiologia médica.** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 871-880.

HALL, L. W.; CLARKE, K. W.; TRIM, C. M. **Veterinary anaesthesia.** 10. ed. London: W. B. Saunders, 2001. 561 p.

HALL, W.; CLARKE, K.W. **Anestesia veterinária.** 8. ed. São Paulo: Manole, 1987. 680 p.

HARTHOORN, A. M.; BRASS, W. Some practical aspects of epidural anaesthesia in the dog. **Veterinary Record**, v. 66, p. 117-120, 1954.

HEARD, P. W. Reptile Anesthesia. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 4, n. 1, p. 83-118, 2001.

HILBERY, A. D. R. **Manual de anestesia de los pequeños animales.** 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1992. 154 p.

HUEY, R. B. Temperature, physiology and the ecology of reptiles. In: GANS, C.; POUGH, F. A. (Ed.). **Biology of The Reptilian: Physiological Ecology.** New York: Academic Press, 1982. v. 12. p. 25-91.

HUEY, R. B.; SLATKIN, M. Costs and benefits of lizard thermoregulation. **Quarterly Review of Biology**, v. 51, p. 363-384, 1976.

INTELIZANO, T. R. et al. Técnicas de Anestesia Local. In: FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. (Ed.). **Anestesia em cães e gatos.** 1. ed. São Paulo: Roca, 2002. p. 199-208.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nomina Anatomica Veterinaria.** 5.ed. Editorial Committee, 2005. 166 p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido nervoso. In: _____. **Histologia básica: texto e atlas.** 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 153-181.

KANE R. E. Neurologic deficits following epidural or spinal anesthesia. **Anesthesia & Analgesia**, v. 60, p. 150-161, 1981.

KLAUMANN, P. R.; OTERO, P. E. **Anestesia locorregional em pequenos animais.** São Paulo: Roca, 2013. 288 p.

KLIDE, A. M. Epidural anesthesia. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 22, n. 2, p. 413-419, 1992.

LEBLANC, P. H. Regional anesthesia. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 6, n. 3, p. 693-704, 1990.

- LONGLEY, L. A. Reptile anaesthesia. In: _____. **Anaesthesia of exotic pets**. Edinburgh: Elsevier Saunders, 2008. p. 185-219.
- MADER, D. R. Euthanasia and necropsy. In: _____. **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. p. 241-247.
- MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**. 2. ed. St. Louis: W. B. Saunders, 2006. 1242 p.
- MADER, D. R. Understanding local analgesics: practical use in the Green Iguana (*Iguana iguana*). In: ANNUAL CONFERENCE ASSOCIATION OF REPTILE AND AMPHIBIAN VETERINARIANS, 5., 1998, Kansas City. **Anais...** Kansas City: Association of Reptile and Amphibian Veterinarians City, 1998. p. 7-10.
- MANS, C. et al. Efficacy of intrathecal lidocaine, bupivacaine, and morphine for spinal anesthesia and analgesia in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). In: Annual Conference American Association of Zoo Veterinarians, 2011, Kansas City. **Anais...** Kansas City: American Association of Zoo Veterinarians, 2011. p. 135.
- MASSONE, F. **Anestesiologia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 252 p.
- MASSONE, F. **Anestesiologia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 326 p.
- MECATTI, D. S. **Avaliação da farmacocinética de nanopartículas de alginato contendo levobupivacaína**. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade São Francisco campus de Bragança Paulista, Bragança Paulista, 2012.
- MOBERLY, W. R. The metabolic responses of the common iguana, *Iguana iguana*, to activity under restraint. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 27, p. 1-20, 1968.
- MOSLEY, C. A. E. Anesthesia and analgesia in reptiles. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 14, n. 4, p. 243-262, out. 2005.
- MOSLEY, C. A.; DYSON, D.; SMITH, D.A. The cardiovascular dose-response effects of isoflurane alone and combined with butorphanol in the green iguana (*Iguana iguana*). **Veterinary Anesthesia and Analgesia**, v. 31, n. 1, p. 64-72, jan. 2004.
- NATALINI, C. C. Anestésias local e regional. In: _____. **Teoria e técnicas em anestesiologia veterinária**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007a. p. 205-229.
- NATALINI, C. C. Anestésicos inalatórios (voláteis). _____. **Teoria e técnicas em anestesiologia veterinária**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007b. p. 111-124.
- NUNES, A. L. V.; CRUZ, M. L.; CORTOPASSI, S. R. G. Anestesiologia. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2006. p. 1040-1067.

OLIVEIRA J. P. et al. Tratamento de retenção de ovo em tigre d' água americano (*Trachemys scripta elegans*) de cativeiro: relato de caso. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 12.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 18., 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: [s.n.], 2009. p. 254-257.

OLIVER, J.; MIDDLEDITCH, A. **Anatomia funcional da coluna vertebral**. Rio de Janeiro: Revinter, 1998. 325 p.

OTERO, P. Administração epidural e espinhal de analgésicos. In: _____. **Dor: Avaliação e tratamento em pequenos animais**. São Caetano do Sul: Interbook, 2005. p. 192-210.

PESSOA C. A. et al. Utilização da videoendoscopia no diagnóstico de balanite em Jabuti-Piranga (*Geochelone carbonaria* Spix, 1824): Relato de caso. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 12.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 18., 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: [s.n.], 2009. p. 282-284.

POUGH, F. H. Amphibians and reptiles as low-energy systems. In: W. P. ASPEY E S. I. LUSTICK (Ed.). **Behavioral Energetics: The cost of survival in vertebrates**. Columbus: Ohio State University Press, 1983. p. 141-188.

POUGH, F. H. et al. **Herpetology**. New Jersey: Prentice-Hall, 1998. 577 p.

RAMOS, R. M. et al. Penectomia em caso de prolapso peniano em Jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*): Relato de caso. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v. 2, n. 3, p. 166-174, 2009.

READ, M. R. Evaluation of the use of anesthesia and analgesia in reptiles. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 4, p. 547-552, 2004.

READY, L. B. et al. Neurotoxicity of intrathecal local anesthetics in rabbits. **Anesthesiology**, v. 63, p. 364-370, 1985.

REDROBE, S. Anesthesia and analgesia. In: GIRLING, S. J.; RAITI, P. (Ed.). **BSAVA Manual of Reptiles**. 2. ed. Gloucester: BSAVA Press, 2004. p. 131-146.

RIGLER, M. L. et al. Cauda equina syndrome after continuous spinal anesthesia. **Anesthesia & Analgesia**, v. 72, p. 275-281, 1991.

RIVERA, S. et al. Sterilisation of hybrid Galapagos tortoises (*Geochelone nigra*) for island restoration: Part 2: phallectomy of males under intrathecal anaesthesia with lidocaine. **Veterinary Record**, v. 168, n. 3, p. 78, jan. 2011.

RODRIGUES, T. C. S. et al. Correção cirúrgica de parafimose em jabuti *Geochelone carbonaria* (SPIX, 1824). In: SEMANA CIENTÍFICA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 21.; MOSTRA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 6., 2009, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: UFU, 2009. p. 81.

- ROMERO, S. M. B. **Fundamentos de neurologia comparada**: da recepção à integração. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 131-135.
- ROONEY, M. B. et al. Sevoflurane anesthesia in desert tortoise (*Gopherus agassizii*). **Journal Zoo Wildlife Medicine**, v. 30, n. 1, p. 64-69, 1999.
- ROSSI, J. V. General husbandry and management. In: MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2006. p. 196-216.
- RUSSELL, A. P.; BAUER, A. M. The m. caudifemoralis longus and its relationship to caudal autotomy and locomotion in lizards (Reptilia: Sauria). **Journal of Zoology**, London, v. 227, p. 127-143, 1992.
- SCHUMACHER, J. Reptiles and amphibians. In: THURMON, J. C.; TRANQUILLI, W. J.; BENSON, G. J. **Lumb & Jones veterinary anesthesia**. 3. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p. 670-685.
- SCHUMACHER, J.; YELEN, T. Anesthesia and analgesia. In: MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2006. p. 442-452.
- SKARDA, R. T. Local and regional analgesia. In: SHORT, C. E. **Principles and practice of veterinary anesthesia**. Los Angeles: Williams & Wilkins, 1987. p. 91-134.
- SKARDA, R. T.; MUIR III, W. W. Analgesic, hemodynamic and respiratory effects of caudal epidurally administered xylazine hydrochloride in mares. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 57, p. 193-200, 1996.
- SLADKY, K. K.; KINNEY, M. E.; JOHNSON, S. M. Analgesic efficacy of butorphanol and morphine in bearded dragons and corn snakes. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 233, n. 2, p. 267-273, 2008.
- SLADKY, K. K.; MANS, C. Clinical anesthesia in reptiles. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 21, n. 1, p. 17-31, jan. 2012.
- STEFFEY, E. P.; MAMA, K. R. Inhalation Anesthetics. In: TRANQUILLI, W.; THURMON, J.; GRIMM, K. (ED.). **Lumb & Jones' veterinary anesthesia and analgesia**. 4. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. p. 355-383.
- STOELTING, R. K.; HILLIER, S. C. Anestésicos locais. In: _____. **Farmacologia e fisiologia na prática anestésica**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. p. 159-187.
- SWENSON MJ, REECE WO. (Eds). **Dukes. Fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856 p.
- TORSKE, K. E.; DYSON, D. H. Epidural analgesia and anesthesia. **Veterinary Clinics of North America**: small animal practice, v. 30, n. 4, p. 859-875, 2000.
- TORTAMANO, N.; ARMONIA, P. L. Anestésicos locais. In: _____. **Guia terapêutico odontológico**. 14. ed. São Paulo: Santos, 2001. p. 30-41.

TUCKER, V. A. Oxygen transport by the circulatory system of the green iguana (*Iguana iguana*) at different body temperatures. **Journal of Experimental Biology**, v. 44, p. 77-92, 1966.

VANDERMEULEN, E.; GOGARTEN, W.; VAN-AKEN, H. Risks and complications of epidural anaesthesia. **Anaesthetist**, v. 46, p. 179-86, 1997.

VEERING, B. T. Local anesthetics. In: BROWN, D. L. **Regional anesthesia and analgesia**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. p. 188-207.

WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo animal and wildlife immobilization and anesthesia**. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. v. 1. p. 233-243.

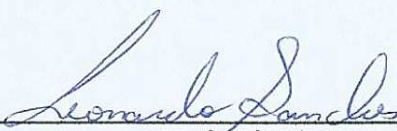
WU, C. L. et al. Analgesic effects of intravenous lidocaine and morphine on postamputation pain. **Anesthesiology**, Philadelphia, v. 96, n. 2, p. 841-848, 2002.

YUEN, E. C. et al. Neurologic complications of lumbar epidural anesthesia and analgesia. **Neurology**, v. 45, p. 1795-801, 1995.

ZUG, G. R.; VITT, L. J.; CALDWELL, J. P. **Herpetology**: An introductory biology of amphibians and reptiles. 2. ed. San Diego: Academic Press, 2001. 630 p.

Autorizo a reprodução xerográfica para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, 25/04/14


Assinatura