Larissa Borges Cardozo

Avaliação da eficácia analgésica e resposta inflamatória em cães tratados com metadona ou tramadol e submetidos a osteotomias corretivas

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Anestesiologia

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Denise Tabacchi Fantoni

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cardozo, Larissa Borges

Avaliação da eficácia analgésica e resposta inflamatória em cães tratados com metadona ou tramadol e submetidos a osteotomias corretivas / Larissa Borges Cardozo. -- São Paulo, 2013.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Anestesiologia.
Orientadora: Denise Tabacchi Fantoni.

Descritores: 1.Analgesia 2.Dor aguda 3.Inflamação 4.Metadona 5.Tramadol
6.Interleucina-6

USP/FM/DBD-132/13

Agradecimentos

Agradeço à professora Denise Fantoni, por ter me dado a chance de conhecer um mundo novo. Sua inteligência, carisma, carinho, bondade e amizade serão sempre exemplo.

Aos meus pais, Djalma e Vivi Cardozo, por me permitirem buscar meus objetivos, suportando a saudade, driblando a distância e mantendo sempre o amor que só uma família pode proporcionar.

A Bruno Cardozo e Helena Costa, por fazerem o tempo longe de casa passar mais rápido, me dando forças a cada encontro para continuar, terminar e voltar logo.

As professoras Aline Ambrósio e Silvia Cortopassi por estarem sempre disponíveis e dispostas a me ajudar.

A Denise Aya Otsuki, pela ajuda na análise estatística, além das conversas longas sobre projetos de pesquisa e de vida.

A Rodrigo Amaral, Fabricio Frazilio, Alessandro Martins e Rafael Lessa, por terem feito o início da vida em São Paulo ser mais leve e divertido.

A Maria Fernanda Rizzo e Lourenço Cotes, pela ajuda imensurável na execução do projeto, além da amizade verdadeira nos momentos bons e ruins.

A Marcia Kahvegian, Maria Teresa Souto, Daniella Godói, Lara Mott, Jaqueline França, Carla Holms, Fernanda Devito, Roberta Figueiredo, Patricia Flor, Geni Patricio e Paula Finkensieper, pela companhia em momentos dentro e fora da USP.

Ao prof. Cássio Ferrigno e aos pós-graduandos do LOTC, em especial Olicies Cunha, Kelly Ito e Daniela Izquierdo, pela amizade e confiança com relação a seus pacientes.

Aos secretários da pós-graduação da Anestesiologia Cláudia Pereira, Clayton e Alessandra, por todo apoio e auxílio durante o doutorado.

A todos os funcionários e enfermeiros do Hovet-USP, que de alguma maneira ajudaram no avanço desse estudo.

A CAPES e a FAPESP, pelo auxílio à pesquisa e aos pesquisadores envolvidos no estudo.

“A vida é curta,
a arte é longa,
a oportunidade é fugaz,
a experiência enganosa,
o julgamento difícil.”

Hipócrates

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3^a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de gráficos	
Lista de tabelas	
Resumo	
Summary	
1. Introdução	1
2. Objetivos.....	3
2.1 Objetivos gerais	3
2.2 Objetivos específicos	3
3. Revisão de Literatura	4
3.1 Dor: definição e fisiologia	4
3.2 Metadona.....	9
3.3 Tramadol.....	12
4. Métodos.....	15
4.1 Animais e critérios de inclusão.....	15
4.2 Critérios de Exclusão	15
4.3 Procedimentos anestésico e cirúrgico	16
4.4 Planejamento do estudo	17
4.5 Tempos e parâmetros de avaliação.....	18
4.5.1 Tempos de avaliação e delineamento	18
4.5.2 Frequências Cardíaca (FC) e Respiratória (FR) e Pressão Arterial Sistólica (PAS), Média (PAM) e Diastólica (PAD).....	19
4.6 Avaliações de escores de dor e sedação	20
4.6.1 Escala análoga visual (EAV)	20
4.6.2 Escala de medida composta de dor de Glasgow (<i>Glasgow Composite Measure Pain Scale</i>)	20
4.6.3 Escala da <i>Colorado State University</i> para avaliação da dor aguda em cães (<i>Canine Acute Pain Scale</i>)	21
4.6.4 Grau de sedação	22
4.7 Avaliação dos efeitos adversos	22
4.8 Medicação resgate	22
4.9 Dosagens de IL-6	23
4.10 Análise estatística	23
5. Resultados.....	25
5.1 Características demográficas	25
5.1.1 Animais – idade, peso, sexo e raças.....	25
5.1.2 Tipos de cirurgia	27
5.2 Tempos cirúrgico e de extubação.....	27
5.3 Parâmetros cardiovasculares e respiratórios	28

5.3.1 Frequência cardíaca	28
5.3.2 Frequência respiratória.....	28
5.3.3 Pressão arterial sistólica.....	28
5.3.4 Pressão arterial média	29
5.3.5 Pressão arterial diastólica.....	29
5.4 Grau de sedação	30
5.5 Escala análoga visual (EAV)	31
5.6 Escalas de Colorado	32
5.7 Escala composta modificada de Glasgow.....	33
5.8 Interleucina-6.....	33
5.9 Resgate analgésico	34
6. Discussão.....	35
7. Conclusões	45
8. Anexos.....	46
9. Referências bibliográficas	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINES	Antiinflamatórios não esteroidais
AMPc	Monosfato de adenosina cíclico
ASA	<i>American Society of Anesthesiology</i>
ATP	Trifosfato de adenosina
bpm	Batimentos por minuto
CAM	Concentração alveolar mínima
CGRP	Peptídeo geneticamente relacionado a calcitonina
cmH ₂ O	Centímetros de água
CWO	<i>Closing wedge osteotomy</i>
EAV	Escala análoga visual
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FC	Frequência cardíaca
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
IASP	<i>International Association for the Study of Pain</i>
IL-10	Interleucina 10
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IM	Intramuscular
IV	Intravenoso
mmHg	Milímetros de mercúrio
MPA	Medicação pré-anestésica

mpm	Movimentos por minuto
NK	<i>Natural killer</i>
NMDA	N-metil-D-aspartato
PAD	Pressão arterial diastólica
PAF	Fator de ativação plaquetária
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
RPA	Recuperação pós-anestésica
SC	Subcutâneo
SNC	Sistema nervoso central
SRD	Sem raça definida
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TPLO	<i>Tibial plateau leveling osteotomy</i>
TTA	<i>Tibial tuberosity advancement</i>
USP	Universidade de São Paulo
VPT	Departamento de Patologia

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Escores de dor obtido por EAV no período perioperatório nos momentos de avaliação – FMVZ – São Paulo – 2012.....	32
Gráfico 2 - Escores de dor avaliados por escala de Glasgow modificada no período perioperatório nos momentos de avaliação – FMVZ – São Paulo – 2012	33
Gráfico 3 - Valores séricos de IL-6 (pg/ml) obtidos nos momentos de avaliação nos diferentes grupos de tratamento analgésico – FMVZ – São Paulo – 2012	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média e desvio-padrão das idades dos animais (n=28) nos diferentes grupos do estudo – FMVZ – São Paulo – 2012	25
Tabela 2 - Média e desvio-padrão dos pesos dos animais (n=28) nos diferentes grupos do estudo – FMVZ – São Paulo – 2012	25
Tabela 3 - Distribuição de sexo por número absoluto e de porcentagem dentro dos diferentes grupos estudados – FMVZ – São Paulo – 2012	26
Tabela 4 - Raças dos animais incluídos no estudo e sua incidência (%) – FMVZ – São Paulo – 2012	26
Tabela 5 - Tipos de procedimentos cirúrgicos realizados nos diferentes grupos em números absolutos – FMVZ – São Paulo – 2012	27
Tabela 6 - Tempos de cirurgia e extubação (média $\pm$ desvio padrão) dos diferentes grupos – FMVZ – São Paulo – 2012	27
Tabela 7 - Frequência cardíaca - batimentos por minuto (FC - bpm), frequência respiratória - movimentos por minuto (FR - mpm), pressão arterial sistólica (PAS - mmHg), pressão arterial diastólica (PAD - mmHg) e pressão arterial média (PAM - mmHg) dos animais nos diferentes grupos e momentos (média $\pm$ desvio padrão) – FMVZ – São Paulo – 2012	30
Tabela 8 - Escores de sedação dos animais nos momentos de avaliação apresentados em mediana (menor-maior valor encontrado) – FMVZ – São Paulo – 2012	31
Tabela 9 – Escores de avaliação de dor aguda na escala da Universidade do Colorado apresentados em mediana (menor-maior valor encontrado) nos diferentes grupos avaliados – FMVZ – São Paulo – 2012	32

RESUMO

CARDOZO, L.B. *Avaliação da eficácia analgésica e resposta inflamatória em cães tratados com metadona ou tramadol e submetidos a osteotomias corretivas*. [Tese] São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

A dor aguda pós-operatória tem suscitado grande interesse por seu potencial risco de cronicidade caso não seja adequadamente tratada, podendo piorar a recuperação e a qualidade de vida do paciente. Este estudo comparativo foi realizado de maneira prospectiva, aleatória e encoberta para se avaliar os efeitos sedativos, analgésicos e na resposta inflamatória da administração de metadona ou tramadol. Foram incluídos 28 cães com ruptura de ligamento cruzado e submetidos a osteotomias corretivas, distribuídos em três grupos: TRA – 4 mg/kg de tramadol; MET0,5 – 0,5 mg/kg de metadona e MET0,7 – 0,7 mg/kg de metadona, administrados por via intramuscular na medicação pré-anestésica (MPA). A indução da anestesia foi realizada com propofol e os animais foram intubados e mantidos com isoflurano em oxigênio a 100%. Parâmetros fisiológicos (frequências cardíaca, respiratória e pressão arterial) foram avaliados nos dados momentos: TBL (basal), T1 (uma hora após a MPA), T2 (duas horas após, transcirúrgico), T4 (quatro horas após, pós-cirúrgico), T6 (seis horas após) e T24 (24 horas após). Escores de sedação e dor foram avaliados por escalas em TBL, T1, T4, T6 e T24. Coletas de sangue para mensuração de IL-6 foram realizadas em TBL, T1, T6 e T24. Animais apresentando escores na escala análoga visual maiores que 4, na escala de Glasgow maiores que 5 ou na escala de Colorado maiores que 2, recebiam analgesia complementar com o fármaco do grupo em que foram alocados. Utilizou-se análise de variância para medidas repetidas (ANOVA) com pós teste de Tukey para análise estatística dos parâmetros fisiológicos. Escores de dor e sedação foram comparados entre diferentes momentos por teste de Friedman, seguido de teste de Tukey. Os grupos foram comparados

em um mesmo momento, por teste não-paramétrico Kruskal-Wallis, seguido de teste *post hoc* de Dunn. Valores de $p < 0,05$ expressam diferença significativa. Não houve diferença entre os grupos com relação a idade, peso e sexo, além de tempos de cirurgia e extubação. Os valores de frequência cardíaca, respiratória e pressão arterial mantiveram-se dentro dos parâmetros aceitáveis nas condições avaliadas, havendo redução nos valores em T2 nos grupos MET0,5 e MET 0,7 com relação ao TBL. Para os escores na escala análoga visual, dentro do grupo TRA houve aumento significativo em T4 comparado a TBL, T1 e T24 e entre T1 e T6 ($p < 0,001$). No grupo MET0,5, houve aumento significativo de T1 para T4 ($p < 0,001$). Os grupos TRA e MET0,5 apresentaram médias $\pm$ DP mais altas ($3,4 \pm 2,5$ e $2,5 \pm 2,6$, respectivamente) que MET0,7 ($1,1 \pm 1,5$) em T4. Na escala de dor de Glasgow, em MET0,5, houve aumento significativo no momento T4 com relação aos momentos T6 e T24 ($p < 0,001$). No grupo MET0,7, houve aumento significativo no momento T4 para TBL e T24 ($p < 0,001$). Houve maior necessidade de resgate no grupo TRA (quatro animais em T4 e dois em T6), contudo após um incremento na dose do fármaco, obteve-se controle adequado da dor. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas quanto ao grau de sedação, escala de Colorado e interleucinas séricas entre os grupos e momentos avaliados. A metadona e o tramadol foram eficazes em promover analgesia pós-operatória quando administrados antes do procedimento cirúrgico e suas doses ajustadas no resgate analgésico. Ambos parecem ter tido efeito sobre a liberação de IL-6, sugerindo modulação da resposta inflamatória aguda.

Descritores: 1. analgesia, 2. dor aguda, 3. inflamação, 4. metadona, 5. tramadol, 6. interleucina-6

SUMMARY

CARDOZO, L.B. *Evaluation of the analgesic efficacy and inflammatory response in dogs receiving methadone or tramadol and undergoing orthopedic surgery*. [Thesis] São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2013.

Acute postoperative pain has aroused great interest because of their potential risk of chronification if not treated properly, may worsen the recovery and quality of life of the patient. This clinical trial was conducted in a prospective, randomized, double-blind comparison to evaluate the efficacy of methadone and tramadol as premedication in dogs. 28 animals with ruptured cruciate ligament undergoing corrective osteotomies were divided into three groups: TRA - received 4 mg/kg of tramadol; MET0.5 - received 0.5 mg/kg of methadone and MET0.7 - received 0.7 mg/kg of methadone intramuscularly. Anesthesia induction was performed with propofol and animals intubated for general anesthesia with isoflurane in 100% oxygen. Physiological parameters (heart and respiratory rate and blood pressure) were evaluated at specified times (in hours): TBL (baseline), T1, T2, T4, T6 and T24. Pain and sedation scores were described by use of visual analogue scale (VAS), composite modified Glasgow scale and Colorado scale at TBL, T1, T4, T6 and T24. Blood samples for measurement of IL-6 were performed in moments TBL, T1, T6 and T24. Statistical analysis was performed by ANOVA for repeated measurements. Pain and sedation scores were compared in different times by Friedman's test followed by Tukey test. Groups were compared by non-parametric Kruskal-Wallis test followed by post hoc Dunn's test. Values with $p < 0.05$ were considered significant. There was no statistically significant difference among groups with respect to age, weight, gender, time of surgery and time for extubation. Heart rate, respiratory rate and blood pressure values were maintained within acceptable values and a reduction was observed in T2 in groups MET0.5 and MET0.7 in

relation to TBL. Increases in VAS scores were observed in TRA in T4 compared to TBL, T1 and T24 and between T1 and T6 ($p<0.001$). In MET0.5 there was a significant increase in T4 when compared to T1 ($p<0.001$). Groups TRA and MET0.5 showed higher mean $\pm$ SD values (3.4 ± 2.5 and 2.5 ± 2.6 , respectively) than MET0.7 (1.1 ± 1.5) in T4. In Glasgow pains scale, there was significant increase in T4 when compared to T6 and T24 ($p<0.001$). In MET0.7, T4 showed higher scores than TBL and T24 ($p<0.001$). TRA showed greater demand of rescue analgesia (four animals in T4 and two in T6), however after a dose adjustment pain was controlled. There were no statistically significant differences in degree of sedation, Colorado acute pain scale and serum interleukin among groups and time points assessed. Both drugs were effective in promoting postoperative analgesia when administered prior to surgical procedure and the doses adjusted according to demand. The drugs appear to have an effect on the release of IL-6, suggesting acute inflammatory response modulation.

Descriptors: 1. analgesia, 2. acute pain, 3. inflammation, 4. methadone, 5. tramadol, 6. interleukin-6

1. Introdução

O tratamento da dor aguda pós-operatória é uma das etapas mais importantes do período perioperatório e influencia diretamente a qualidade da recuperação do paciente. Sabe-se que a presença de dor desencadeia respostas no organismo que podem ser indesejáveis ao paciente, pois é associada a alterações metabólicas e nos sistemas imune e neuroendócrino (Beilin et al, 2003). As alterações são resultantes do estresse, das lesões teciduais e da anestesia propriamente dita, envolvidas no período perioperatório. Por isso, o tratamento da dor pós-operatória torna-se indispensável para que o paciente recupere mais rapidamente suas funções, reduzindo assim morbidade e mortalidade (Xu e Brennan, 2011).

As classes farmacológicas mais comumente utilizadas para o tratamento da dor são os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e os opioides. Os opioides são analgésicos potentes e tem grandes vantagens quando comparados a outros fármacos. Eles promovem analgesia e sedação, possuem diferentes vias de administração e cada fármaco da classe tem sua farmacodinâmica específica (Lamont e Mathews, 2007).

A metadona possui uma particularidade em seu mecanismo de ação, visto que além de atuar como agonista de receptores μ , atua ainda em dois mecanismos analgésicos por vias alternativas à opioidérgica: age como antagonista de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) e promove, ainda, a inibição da recaptação de monoaminas, apresentando ação analgésica eficaz tanto no período peri-operatório como em casos de dor crônica e neuropática (Brown et al., 2004).

Por sua ação em receptores NMDA, a metadona vem sendo amplamente utilizada no controle da dor crônica em humanos, contudo não há estudos que relatem seu emprego na dor aguda, fato provavelmente devido a sua longa meia-vida de eliminação, dificultando a

adequação de posologia sem que haja sobredose, diferente do que ocorre em cães, em que a meia-vida e metabolização é rápida (Campagnol et al, 2012).

O trauma cirúrgico e a anestesia causam alterações no sistema imune, havendo liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias (Liu et al., 2008). Ainda há grande controvérsia a respeito do efeitos dos opioides no sistema imune e não há dados em cães disponíveis na literatura. Além disso, há poucos estudos disponíveis na literatura que avaliem os efeitos sedativos e analgésicos da metadona em situações clínicas. Assim, comparou-se o efeitos de duas doses diferentes de metadona ao tramadol, fármaco amplamente empregado, avaliando ainda sua possível influência sobre o sistema imune.

2. Objetivos

2.1 Objetivos gerais

Avaliar a ação analgésica da metadona em duas doses diferentes, comparando-a ao tramadol, em cães submetidos a osteotomias corretivas, bem como avaliar a possível influência dos dois fármacos sobre a resposta inflamatória.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a ação analgésica da metadona por método objetivo (parâmetros fisiológicos) e subjetivo (escalas de dor em pequenos animais) e compará-la ao tramadol
- Observar a possível alteração dos parâmetros fisiológicos e efeitos adversos decorrentes da administração dos fármacos analgésicos
- Avaliar a liberação sistêmica de interleucina-6 para possível associação a outros parâmetros indicativos de dor

3. Revisão de Literatura

3.1 Dor: definição e fisiologia

Acredita-se que todo indivíduo, humano ou animal, apresentará dor em algum momento da vida. O tratamento da dor tem se tornado assunto relevante no mundo por seu impacto social e financeiro e, cada vez mais, busca-se o protocolo mais adequado. Assim, surgiram os conceitos novos de dor, seus tipos e subtipos e modalidades de terapia por diferentes fármacos e suas associações, além de técnicas alternativas de analgesia.

A dor é definida pela IASP (*International Association for the Study of Pain*) como uma experiência emocional e sensorial desagradável, associada a lesão tecidual real ou potencial (Loeser e Treede, 2008). É de amplo conhecimento que mesmo que o indivíduo seja incapaz de comunicar verbalmente a presença da dor, esse fato não significa que o mesmo não a esteja sentindo e, assim, há necessidade de terapia antálgica. Ainda que o paciente possa relatar dor e procure auxílio médico, há uma falha em seu diagnóstico, acarretando em evoluções prejudiciais. Para que se diminua a ocorrência desse fato, a conduta atual é avaliar a dor como um parâmetro fisiológico, assim como frequência cardíaca, pulso, frequência respiratória e temperatura. Desta forma a dor foi elevada ao posto de “quinto sinal vital” e na avaliação inicial do paciente deve ser quantificada e de pronto tratada (Lorenz et al., 2009).

O tratamento da dor difere de acordo com sua natureza e tipo, assim como sua intensidade depende do estímulo gerador, sendo diretamente proporcional ao mesmo. A dor aguda é reconhecida como uma das principais consequências do trauma e suas repercussões são consideradas potencialmente prejudiciais para o organismo (Beilin et al, 2003). O ato cirúrgico desencadeia eventos no organismo que tem como objetivo evitar a propagação do

dano tecidual, combater infecções e dar início ao processo de cicatrização. Esses eventos envolvem a nocicepção e a inflamação. Por isso, para um tratamento adequado é necessário entendimento das alterações fisiológicas resultantes da dor.

A dor aguda pós-operatória é classificada como nociceptiva e está associada a efeitos indesejados, como desconforto, recuperação prolongada e sequelas a longo prazo, como o desenvolvimento de dor neuropática (Ledowski, 2012; Searle et al, 2012). Além de alterações fisiológicas, utilizadas como parâmetros para avaliar a dor, sabe-se que a dor desencadeia uma resposta simpática ao estresse, alterando níveis de hormônios do estresse, como cortisol, catecolaminas e glucagon circulantes, assim como citocinas, que são importantes mediadores inflamatórios liberados por células do sistema imune. Como consequência, há aumento do metabolismo basal, do trabalho cardíaco, da resistência vascular periférica e do consumo de oxigênio pelo miocárdio. Verifica-se também prejuízo da função respiratória que pode gerar complicações pulmonares como atelectasia e pneumonia e até mesmo distúrbios de coagulação, podendo levar ao aparecimento de tromboembolismo (Sakata, 2001).

A sensação dolorosa é composta por uma cadeia de eventos, iniciada pela transformação dos estímulos nocivos (físicos ou químicos) em sinais elétricos (potenciais de ação) que são transferidos das fibras nervosas periféricas para o sistema nervoso central (SNC) e indicam o início, duração, intensidade e localização do estímulo doloroso. Os nociceptores estão localizados nas terminações de fibras aferentes primárias do tipo A δ e C e, quando ativados, sofrem alterações em sua membrana, permitindo a deflagração de potenciais excitatórios que são propagados até o SNC (Voscpoulos e Lema, 2010)

Os nociceptores são capazes de traduzir um estímulo agressivo de natureza térmica, química ou mecânica, em estímulo elétrico que será interpretado no córtex cerebral como dor. As fibras A δ , em função da presença de sua bainha de mielina, transmitem o estímulo doloroso de forma rápida, enquanto as fibras C (amielinizadas) apresentam transmissão lenta.

Assim, as fibras A δ são encarregadas de transmitir estímulos mecânicos e térmicos, gerando a primeira fase da dor, e as fibras C, a segunda fase, mais duradoura e menos localizada, recebendo também estímulos químicos.

A sensibilização central altera os impulsos periféricos, facilitando respostas positivas. Quando diferentes nociceptores são sensibilizados, por possuírem diferentes limiares, o processamento no SNC pode variar numa gama grande de percepções, tanto em qualidade como em intensidade.

Após a agressão tecidual ocorre redução do limiar ou aumento da resposta aos impulsos aferentes, descargas persistentes após estímulos repetidos e ampliação dos campos receptivos de neurônios do corno dorsal e há liberação de neurotransmissores, como substância P, somatostatina, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), neurocinina-A, glutamato e aspartato (Rocha et al, 2007). Essas substâncias estão relacionadas à ativação de potenciais pós-sinápticos excitatórios e de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) e não-NMDA. Estímulos frequentes geram a somação dos potenciais de ação e consequente despolarização pós- sinápticas cumulativa. Depois da ativação de receptores NMDA pelo glutamato, há remoção do íon magnésio do interior do receptor com o aumento do influxo de cálcio para a célula, do que resulta a amplificação e o prolongamento da resposta ao impulso doloroso.

O impacto de algum agente gerador de estresse ao sistema imune é multidimensional e pode evoluir de acordo com o tempo de duração do estímulo. Geralmente, a primeira resposta é a estimulação simpática, que resulta na liberação de catecolaminas. No período perioperatório, há ainda a lesão tecidual propriamente dita, levando a liberação de substâncias químicas algôgenicas, decorrentes do processo inflamatório local, responsáveis por sinais como hiperalgesia e vasodilatação. Essas substâncias atingem os nociceptores, que reagem a alterações químicas decorrentes da inflamação, sendo assim sensibilizados.

A sensibilização ocorre pelo trifosfato de adenosina (ATP), íons potássio, tromboxanos, monofosfato cíclico de adenosina (AMPC), leucotrienos, fator de ativação plaquetária (PAF), fator de crescimento nervoso, fator de necrose tumoral (TNF- α), bradicinina, serotonina, prótons H⁺, interleucinas e prostaglandinas, liberados por células epiteliais, mastócitos, macrófagos, linfócitos, entre outros. As prostaglandinas, por exemplo, são grandes envolvidas no processo de sensibilização central e periférica, promovendo diminuição no limiar de excitabilidade dos nociceptores, hiperalgesia e estimulando a produção de interleucina 6 (IL-6) (Page, 2005; Rocha et al, 2007). Por isso, deve se instituir a terapia analgésica, evitando que a dor aguda evolua para a cronicidade, fato que acomete até metade dos paciente submetidos a cirurgias, havendo grande relação entre dor aguda grave no pós-operatório e dor crônica (Voscopoulos e Lema, 2010; Gurney, 2012).

As quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias tornam o organismo alerta para que haja rápida resposta, pois conduzem a resposta até o local da lesão, favorecendo a cicatrização, além de outros mecanismos ativados no processo de geração da dor (Voscopoulos e Lema, 2010). Elas são produzidas por diversos tipos de células no organismo, seja no local da lesão ou no sistema imunológico, mas não são armazenadas (Oliveira et al., 2011).

Diferentes citocinas podem possuir uma mesma ação e uma citocina pode induzir a formação de outras citocinas, regulando sua produção e atividade, podendo ter efeito de incrementar ou suprimir a resposta inflamatória (citocinas pró e anti-inflamatórias, respectivamente). Em quadros de choque, o desbalanço entre as citocinas pró-inflamatórias (Th1) e anti-inflamatórias (Th2) pode ter efeitos sistêmicos, em que o excesso de Th1 leva a lesão de múltiplos órgãos e até o óbito. As citocinas pró-inflamatórias que desempenham papel essencial na dor são a interleucina-1beta (IL-1 β), a interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (Oliveira et al, 2011).

A produção de IL-6 é induzida pela IL-1 e pelo TNF- α e ela é um mediador precoce da liberação de proteínas de fase aguda pelo fígado quando há estímulo nociceptivo, seja por traumas, infecções ou cirurgias. Concentrações plasmáticas podem ser encontradas 60 minutos após a lesão, com pico entre quatro e seis horas e um aumento exagerado e duradouro no período pós-operatório pode estar associado a maior morbidade (Oliveira et al, 2011).

Os fármacos analgésicos e anestésicos podem estar associados a supressão do sistema imunológico, direta ou indiretamente, alterando a função de células imunes e liberação de mediadores inflamatórios. Sugere-se que os anti-inflamatórios não esteroidais (AINE) possuem ação de suprimir a produção de fator nuclear que desempenha papel fundamental na regulação da expressão gênica de citocinas. Em estudo clínico de modelo de osteoartrite em cobaias, houve diminuição dos níveis de TNF- α e IL-6, assim como dos escores de dor, nos animais do grupo que recebeu administração tópica de um preparado de AINE (cetoprofeno ou loxoprofeno), sugerindo a eficácia da classe em atenuar a resposta inflamatória (Orita et al, 2012).

Alguns estudos sugerem que os opioides, fármacos rotineiramente utilizados para analgesia em pacientes submetidos a cirurgias, possuem efeitos supressores no sistema imune. A morfina, por exemplo, causa redução na migração de neutrófilos e macrófagos, alterando a resposta no sítio da lesão (Sacerdote et al., 2012). O tramadol parece agir de maneira benéfica sobre o sistema imune, aumentando a atividade das células “natural killers” (NK) e proliferação de linfócitos. Assim, o efeito esperado é de diminuição dos níveis de interleucinas após sua administração em modelos de dor incisional (trauma cirúrgico) (Liu et al, 2008).

3.2 Metadona

A metadona foi sintetizada no fim dos anos 30 na Alemanha, pelos pesquisadores Max Bockmühl e Gustav Ehrhart durante estudos em farmacologia para síntese de antipiréticos e analgésicos iniciados em 1880. Assim, surgiam os analgésicos opioides sintéticos como a petidina (Dolantina), na tentativa alemã de tornar-se independente da importação de ópio da China. Os pesquisadores observaram os efeitos analgésicos e espasmolíticos de um novo composto que veio a ser conhecido como metadona em 1947 nos Estados Unidos. Esse fato ocorreu após a derrota da Alemanha na Segunda Guerra Mundial, quando sua patente foi disponibilizada.

Foi introduzida no mercado nos anos 60, popularizando-se na prevenção de síndrome de abstinência produzida pela interrupção abrupta da administração contínua de opióides, principalmente nos viciados em heroína (Dole e Nyswander, 1965). Após alguns anos, foi observada sua excelente ação no tratamento de dor neuropática e, atualmente, além de ser utilizada como terapia na dependência de opioides, é vista como uma alternativa ao uso de morfina para o tratamento de dor crônica, oncológica ou não (Hutchinson e Somogyi, 2004; Inturrisi, 2005; Gallagher, 2009).

Está disponível comercialmente na forma de cloridrato e é uma mistura racêmica, composta por dois enantiômeros: (-)R-metadona (ou d-, de dextrógiro) e (+)S-metadona (ou l-, de levógiro). A porção R é aquela com atividade analgésica mais pronunciada, até 50 vezes maior do que o isômero S, agindo como agonista dos receptores opioides μ (μ), principalmente (Hutchinson e Somogyi, 2004; Skjervold et al, 2006).

Diversos estudos comentam sobre o fato da metadona possuir ação antagonista de receptores NMDA de forma não competitiva por ligação de ambos seus enantiômeros (Codd, 1995; Gorman et al, 1997; Holtman et al, 2007; Kapur et al, 2011), o que torna ainda mais

interessante seu uso no tratamento de dores crônicas. Além disso, parece bloquear a recaptação de serotonina e noradrenalina, assim como o tramadol e diferentemente da morfina (Codd, 1995; Gorman et al, 1997).

Em humanos, a biodisponibilidade oral é de 85 %, a meia-vida varia entre 13 e 50 horas, e apresenta eliminação prolongada, contudo a duração da analgesia é de 4 a 8 horas (Inturrisi, 2005). É detectada no plasma após 30 minutos da administração oral, é altamente lipossolúvel e sua ligação a proteínas varia de 60 a 90%. Em situações de estresse, então, haverá maiores concentrações sanguíneas de glicoproteínas, levando a uma maior ligação de metadona e consequente decréscimo em sua atividade (Ferrari, 2004).

O uso da metadona em animais é considerado “off-label”, pois a formulação utilizada é aprovada somente para uso em humanos. KuKanich e colaboradores (2005) observaram que a administração oral de 2 mg/kg em cães não foi suficiente para torná-la detectável no plasma, concluindo que a biodisponibilidade por essa via é baixa. A meia-vida varia entre 1,75 e 4 horas após administração intravenosa (IV) e entre 2 e 12 horas por via subcutânea (SC), caracterizando rápida eliminação. A metabolização é hepática - mas não pelo citocromo P450 (CYP3A) como em humanos - e o *clearance* varia de acordo com o fluxo sanguíneo do fígado. Ainda não há relatos sobre as concentrações plasmáticas analgésicas na espécie (Ingvast-Larsson et al, 2010).

É crescente o estudo da metadona em animais domésticos, em que pode-se observar seus efeitos experimentais e clínicos. Estudos iniciais com o uso da metadona em cães preconizaram seu uso na medicação pré-anestésica (MPA) em diferentes doses que variaram de 0,3 a 1 mg/kg por via subcutânea, intramuscular ou intravenosa (Leibetseder et al., 2006; Steagall et al., 2006; Monteiro et al., 2008; Garofalo et al., 2012).

Os efeitos sedativos da metadona em cães foram observados e descritos por Monteiro et al. (2008), quando administrada em associações comumente utilizadas em pequenos animais

(com acepromazina ou xilazina, um fenotiazínico e um alfa-2 agonista, respectivamente) ou de forma isolada. O uso de metadona causou sedação leve, disforia e excitação em alguns animais, como já descrito por outros autores (KuKanich e Borum, 2008; Garofalo et al., 2012). Contudo, vale ressaltar que esses efeitos foram observados em estudos conduzidos em animais sem dor prévia, o que pode ser a causa da exacerbação dos efeitos indesejados. Quando associada a acepromazina e xilazina, a sedação foi de moderada a profunda, podendo haver efeitos adversos como bradicardia intensa (FC menor que 60 bpm) e redução na pressão arterial (mas não hipotensão). A associação metadona-acepromazina mostrou ser mais efetiva para sedação do que a associação da fenotiazina com outros opioides, como morfina, butorfanol e tramadol (Monteiro et al., 2009).

Efeitos potencializadores de anestésicos inalatórios já foram observados em cães por Leibetseder et al. (2006), Credie et al. (2010) e Campagnol et al. (2012) e em felinos por Ferreira et al. (2011), em que o uso da metadona resultou em redução de até 48% da CAM do isoflurano e em 25% na CAM do sevoflurano.

Poucos estudos vem sendo conduzidos com o objetivo de avaliar a analgesia produzida pela metadona em animais. Em cães submetidos a cirurgia de correção de ruptura de ligamento cruzado por técnica extra-capsular, a dose de 0,3 mg/kg por via intravenosa ou epidural demonstrou ser efetiva para controle da dor, havendo necessidade de resgate analgésico somente a partir de seis horas após a administração, sendo esse tempo ainda maior no grupo que recebeu a metadona por via epidural (Leibetseder et al, 2006). Em estudo realizado em felinos submetidos a osteossínteses, a dose de 0,3 mg/kg do isômero com ação opioidérgica da metadona pareceu ser ineficaz no controle da dor (Möllenhoff et al, 2005), mas esse fato pode ser devido a variações individuais e a não utilização da mistura racêmica, que age em outras vias nociceptivas. A analgesia da metadona por via intravenosa ou epidural foi avaliada em cadelas submetidas a mastectomias, em que se concluiu que a dose de 0,5

mg/kg por via intravenosa foi menos efetiva do que a mesma dose por via epidural, porém ambas foram efetivas no controle da dor no pós-operatório (Campagnol et al, 2012).

Efeitos adversos comumente observados após o uso de morfina, como náusea e vômitos raramente são observados com o uso da metadona. Pode haver salivação intensa, micção e defecação, taquipneia com consequente acidose e bradicardia, porém a incidência é baixa, tornando a metadona uma boa opção ao uso de morfina para analgesia.

3.3 Tramadol

O tramadol, opioide de ação central muito utilizado na rotina clínica, é um análogo sintético da codeína de baixa afinidade por receptores μ , cerca de 6.000 vezes menor que a da morfina. Apesar desse fato, possui analgesia comparada à produzida pela morfina quando administrado em doses equipotentes, pela ação de seu metabólito mono-O-desmetiltramadol (M1), resultante da metabolização hepática do fármaco e que possui alta afinidade ao receptor opioide. Ainda, sua ação analgésica é resultado de efeito monoaminérgico, por meio da inibição da recaptação de norepinefrina e liberação de serotonina (Vettorato et al., 2010). Os mecanismos não opioides deste fármaco podem potencializar a analgesia sem acarretar depressão respiratória e cardíaca (Mastrocinque e Fantoni, 2003). O estudo de seus efeitos nas diferentes espécies animais ainda é escasso, porém tem sido de grande interesse frente a vantagens observadas no uso em humanos.

O tramadol, além de promover mínimas alterações cardiovasculares, respiratórias, baixos efeitos na motilidade gastrintestinal, tem sido efetivo na analgesia pós-operatória, principalmente em dor moderada, associado ou não a outros fármacos, além de ser empregado no tratamento de dores crônicas.

Côrtes (2006) relatou que o tramadol, administrado pela via intravenosa na dose de 1 mg/kg, promoveu analgesia em 83% das cadelas submetidas à ovariossalpingohisterectomia (OSH) com duração de até 150 minutos, enquanto a dose de 4 mg/kg produziu efeito semelhante por até 240 minutos. Na dose de 2 mg/kg por via intravenosa, administrada antes do estímulo cirúrgico, o tramadol demonstrou promover analgesia semelhante à produzida pela morfina (dose de 0,2 mg/kg) em cães. Ambos os agentes reduziram as concentrações de isoflurano expirado e modularam a resposta neuroendócrina à dor, reduzindo os níveis plasmáticos de catecolaminas e cortisol (Mastrocinque e Fantoni, 2003; Mastrocinque et al, 2012). Ainda, a administração de tramadol por infusão contínua em duas taxas distintas (1,3 ou 2,6 mg/kg/h) resultou em redução da CAM do sevoflurano, contudo sem efeitos dose-dependentes (Seddighi et al, 2009). O uso do tramadol por via epidural também tem se mostrado eficaz no controle da dor pós-operatória. Vetoratto et al (2010), em estudo farmacológico da via intravenosa e epidural em animais submetidos a artroplastias, observaram que o tramadol, na dose de 2 mg/kg por ambas as vias, promoveu efeitos analgésicos satisfatórios e similares.

Seus efeitos sedativos são descritos como fracos quando empregado de forma isolada. Esse fato pode ser devido a sua baixa afinidade aos receptores opioides μ . Contudo, uma das vantagens dessa baixa afinidade é a baixa incidência de efeitos adversos como náusea e vômito (Monteiro et al, 2009).

Em estudo que, além da analgesia, avaliou os efeitos do tramadol sobre parâmetros de gasometria, observou-se que há pequeno efeito sobre os valores de pH, SatO₂, PaO₂ e PaCO₂ após sua administração pela via epidural e intramuscular, principalmente quando comparado a morfina (Mastrocinque e Fantoni, 2003; Mastrocinque et al., 2012).

No que diz respeito a sua ação sobre as respostas endócrinas, que podem auxiliar na avaliação de dor, o tramadol por via intravenosa, intramuscular ou epidural resultou em leve

aumento nos níveis de epinefrina, norepinefrina e cortisol no transoperatório, sem contudo haver diferenças significativas dos valores basais mensurados (Mastrocinque e Fantoni, 2003; Mastrocinque et al., 2012).

4. Métodos

4.1 Animais e critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo 28 cães, de idades variadas, com peso acima de 12 quilos, sem padrão racial estabelecido, classificados - de acordo com a ASA (*American Society of Anesthesiology*) - como risco anestésico I e II, que foram submetidos a osteotomias corretivas em casos de ruptura de ligamento cruzado, para readequação do platô tibial e que apresentavam grau leve de dor, segundo relatos dos proprietários, avaliação dos ortopedistas e escore nas escalas de dor. Todos os animais foram submetidos a exame clínico completo e coleta de sangue para realização de hemograma, contagem de plaquetas, proteína total, albumina e dosagem sérica de uréia, creatinina, alanina-transferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA) no período pré-operatório.

Os proprietários eram informados sobre o protocolo anestésico e cirúrgico ao qual seu animais seriam submetidos, autorizando por escrito a inclusão dos mesmos no estudo conforme o termo de ciência e autorização (anexo A), podendo optar pela retirada do animal do estudo a qualquer momento.

4.2 Critérios de Exclusão

Animais com alterações cardiológicas, hematológicas, indicadores de insuficiência renal e/ou hepática, além daqueles apresentando alterações como êmese e diarreia eram devidamente excluídos. Ainda, presença de dor moderada a grave e de duração maior que 15

dias, doenças crônicas ou uso concomitante de outros fármacos analgésicos foram considerados fatores de exclusão.

4.3 Procedimentos anestésico e cirúrgico

Os animais encaminhados ao Serviço de Anestesia do Departamento de Cirurgia (VCI) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo foram submetidos a avaliação pré-anestésica na qual se aferiu a frequência cardíaca, frequência respiratória, pressão arterial não invasiva¹, tempo de preenchimento capilar, grau de hidratação, coloração das mucosas e temperatura. Todos os cães foram submetidos a jejum alimentar de, no mínimo, oito horas e hídrico de, no mínimo, duas horas. O protocolo anestésico utilizado foi constituído do uso de 0,5 ou 0,7 mg/kg de metadona² pela via intramuscular (IM) ou 4 mg/kg de tramadol³, pela mesma via, como medicação pré-anestésica (MPA). Decorridos 30 minutos da aplicação da MPA, o acesso venoso era realizado pela fixação de cateter na veia cefálica e iniciada a administração de solução de Ringer com lactato⁴, na taxa de 10 ml/kg/hora. A indução anestésica foi realizada pela administração de propofol⁵ por via intravenosa (IV) até que se alcançasse o efeito desejado de relaxamento muscular, perda de reflexo interdigital e laringotraqueal (dose de 5-8 mg/kg). Os animais foram intubados e mantidos sob anestesia com isoflurano⁶ em 100% de oxigênio, em circuito circular de anestesia e sob ventilação mecânica controlada por pressão (10-12 cmH₂O) e frequência respiratória ajustada a fim de manter normocapnia (35-45 mmHg).

¹ PetMAP®, Ramsey Medical Inc., Flórida, EUA

² Mytedon®, Cristália, SP

³ Tramadon®, Cristália, SP

⁴ Ringer Lactato, Baxter Hospitalar Ltda., SP

⁵ Propovan®, Cristália, SP

⁶ Isoflorane®, Cristália, SP

A concentração expirada de isofluorano foi mantida inicialmente em 1,4%, sendo que alterações de pressão arterial superiores a 20% do valor obtido imediatamente antes do estímulo cirúrgico ocasionaram o incremento em 0,1%. Em todos os animais, administrou-se 3 mcg/kg de fentanil⁷ lentamente pela via intravenosa cinco minutos antes do início da osteotomia. Os animais foram mantidos sobre colchão térmico para diminuir a perda de temperatura durante a intervenção cirúrgica. Pressão arterial média inferior a 65 mmHg foi corrigida por administração de efedrina⁸ na dose de 0,1mg/kg.

Anteriormente ao início do procedimento cirúrgico, foi realizada a fixação de um cateter no interior da veia jugular de cada animal, posteriormente à tricotomia e antisepsia da região, com o intuito de facilitar as colheitas de sangue, evitar hemólise e excesso de manipulação dos animais, diminuindo fatores de estresse.

Foram realizadas três diferentes técnicas de artroplastia - TTA (*Tibial Tuberosity Advancement*), TPLO (*Tibial Plateau Leveling Osteotomy*) e CWO (*Closing Wedge Osteotomy*), para readequação do platô tibial. Todas as técnicas envolveram osteotomia, por isso, foram selecionadas pela alta probabilidade de dor moderada a intensa. As intervenções cirúrgicas foram realizadas sempre pelo mesmo cirurgião e são técnicas comumente aplicadas na rotina do Laboratório de Ortopedia e Traumatologia Comparada do VCI.

4.4 Planejamento do estudo

O projeto foi realizado de maneira prospectiva, comparativa, aleatória e encoberta, em acordo com as normas éticas aprovadas pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, protocolo

⁷ Fentanest®, Cristália, SP

⁸ Efedrin®, Cristália, SP

0169/05 e Comissão de Ética no Uso de Animais da FMVZ-USP (1077/2007). Assim, os animais incluídos no estudo foram distribuídos, por meio de sorteio, em três grupos:

- Grupo MET 0,5 – os animais receberam metadona na dose de 0,5 mg/kg por via intramuscular, diluída em solução fisiológica até completar 3 ml, na medicação pré-anestésica.

- Grupo MET 0,7 – os animais receberam metadona na dose de 0,7 mg/kg por via intramuscular, diluída em solução fisiológica até completar 3 ml, na medicação pré-anestésica.

- Grupo TRA – os animais receberam tramadol na dose de 4 mg/kg por via intramuscular, diluída em solução fisiológica até completar 3 ml, na medicação pré-anestésica.

Após o procedimento cirúrgico, os animais foram remanejados para o centro de recuperação pós anestésica (RPA), onde foram submetidos a avaliações de intensidade da dor por meio de distintas escalas de avaliação (ver item 4.6) em diferentes momentos do período pós-operatório, realizadas sempre pelo mesmo observador.

4.5 Tempos e parâmetros de avaliação

4.5.1 Tempos de avaliação e delineamento

As avaliações (parâmetros fisiológicos e escores de dor) foram realizadas nos seguintes momentos :

1. TBL: basal, antes da aplicação da medicação pré-anestésica
2. T1: uma hora após a MPA
3. T2: duas horas após a MPA (trans-operatório)
4. T4: quatro horas após a MPA (30 minutos pós-extubação)

5. T6: seis horas após a MPA
6. T24: 24 horas após a MPA

Após o período de observação dentro do ambiente hospitalar, os animais eram liberados para retorno a sua residência, pelo caráter ambulatorial dos procedimentos. Assim, os proprietários recebiam seringas para aplicação da medicação analgésica correspondente ao grupo em que o animal foi alocado, calculando-se para que a analgesia fosse realizada a cada seis horas. No dia seguinte ao procedimento, os animais retornavam ao hospital para avaliação de dor e coleta de amostra sanguínea para mensuração de níveis de IL-6.

Quando finalizado o período de observação do estudo, os animais receberam prescrição para uso do analgésico antiinflamatório carprofeno (4,4 mg/kg, uma vez ao dia), durante sete dias, até retorno para retirada de sutura.

4.5.2 Frequências Cardíaca (FC) e Respiratória (FR) e Pressão Arterial Sistólica (PAS), Média (PAM) e Diastólica (PAD)

Esses parâmetros foram avaliados em todos os momentos por meio da auscultação com estetoscópio para mensuração da frequência cardíaca e da inspeção para mensuração da

frequência respiratória, com auxílio de monitor cardíaco⁹ no período trans-operatório e da utilização de aparelho de pressão não invasiva, cujo manguito foi conectado acima da articulação úmero-rádio-ulnar dos animais para mensuração das pressões arteriais sistólica, média e diastólica nos períodos pré e pós-operatórios. Durante o procedimento cirúrgico, foi utilizado o método invasivo de aferição da pressão arterial, por cateterização de artéria metatarsiana com cateter de tamanho adequado, conectado por extensores ao transdutor do monitor multiparamétrico⁹.

4.6 Avaliações de escores de dor e sedação

Os animais foram avaliados nos momentos em que não estavam sob anestesia geral (TBL, T1, T4, T6 e T24):

4.6.1 Escala análoga visual (EAV)

Escala utilizada para quantificar a dor de maneira subjetiva, representada por uma linha horizontal que varia de 0 a 10 cm, em que 0 indica ausência de dor e 10, dor insuportável. O avaliador deve marcar um ponto nessa linha que corresponda a intensidade da dor observada (Lloyd- Thomas, 1990; Mich et al., 2010).

4.6.2 Escala de medida composta de dor de Glasgow (*Glasgow Composite Measure Pain Scale*)

⁹ Monitor portal DX 2020, Dixtal, SP

Escala baseada em sinais observados à distância, além de postura, comportamento e reação ao toque, em que as respostas são convertidos em números, método conhecido como “escalamento”, quantificando os atributos da escala, em que a máxima pontuação é 10. Ao final da avaliação, é realizada a soma dos valores, que foram definidos por análise estatística do peso e importância do parâmetro observado (Morton et al., 2005). Os sinais e seus valores correspondentes podem ser observados no anexo B.

Após teste com 80 animais com diferentes graus de dor, resultante de cirurgias ortopédicas, de tecidos moles ou de alguma afecção clínica, os autores sugeriram que o uso da escala consegue refletir a diferença nos graus de dor. Em dor ortopédica pós-operatória, o maior valor foi encontrado duas horas após o trauma cirúrgico, com sequente queda gradual nos escores. A escala foi idealizada para que os descritores fossem de fácil entendimento, podendo ser utilizada até por pessoas leigas em avaliações de dor, para que se incremente o diagnóstico e tratamento analgésico (Morton et al., 2005).

4.6.3 Escala da *Colorado State University* para avaliação da dor aguda em cães (“*Canine Acute Pain Scale*”)

Escala que varia de zero a quatro e baseia-se em sinais avaliados no pós-operatório após observação de comportamento, atitude e resposta a palpação, em que zero representa animal confortável, feliz, sem resposta a palpação e corresponde a mínima dor, enquanto o máximo escore é definido quando o animal apresenta-se vocalizando, pode estar agressivo e até morder, sem movimentar-se. A recomendação é que avaliações que resultem em escore igual ou maior que dois indicam dor moderada a severa, sendo necessário resgate analgésico (anexo C).

4.6.4 Grau de sedação

Foi avaliado por observação de postura e comportamento dos animais, de acordo com escala descrita por Valverde et al. (2004), em que:

- 0 – ausência de sedação
- 1 – sedação leve: animal alerta, porém menos ativo
- 2 – sedação moderada: animal sonolento e em decúbito, mas ainda capaz de se locomover
- 3 – sedação intensa: animal muito sonolento e incapaz de se locomover

4.7 Avaliação dos efeitos adversos

A ocorrência de efeitos adversos foi avaliada durante o período de observação dos animais. Episódios como êmese, náusea, salivação intensa, midríase, excitação e disforia foram registrados na ficha de avaliação para posterior comparação.

4.8 Medicação resgate

Aqueles com avaliação de dor EAV ≥ 4 , Escala de Glasgow modificada ≥ 5 ou Colorado “*Canine Acute Pain Scale*” ≥ 2 receberam medicação resgate, constituída pela administração do mesmo fármaco correspondente ao grupo em que o animal foi alocado (metadona – 0,2 mg/kg ou tramadol – 1 mg/kg), quando da permanência no hospital veterinário, para melhor avaliação de sua influência sobre a liberação de IL-6 e devido ao fato da eficácia e potência dos fármacos opioides serem dose-dependentes, em que se espera que um incremento na dose resulte em melhor analgesia (Lamont e Mathews, 2007). Após esse

período, os animais eram liberados com a prescrição do mesmo analgésico a cada seis horas por via subcutânea, realizada pelo proprietário, até o retorno 24 horas após o início do procedimento anestésico.

4.9 Dosagens de IL-6

Amostras sanguíneas foram colhidas para a dosagem de interleucina-6, para futura correlação aos dados clínicos coletados, nos momentos: TBL, T1, T6 e T24. Estas foram colhidas em seringas de 5 mL e transferidas para tubos de vidro contendo 100µL de anti-coagulante (EGTA + glutathione), processadas em centrífuga refrigerada a 4°C e 2500 g, durante 10 minutos e o soro obtido foi imediatamente congelado a -80°C para posterior processamento. As concentrações de IL-6 foram mensuradas com o uso de *kit* comercial específico para a espécie canina¹⁰, em duplicata, pela técnica de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), no Laboratório do Departamento de Patologia (VPT) da FMVZ-USP.

4.10 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por meio de software Sigma Plot¹¹, versão 11.0. Para análise dos parâmetros fisiológicos, utilizou-se análise de variância para medidas repetidas (ANOVA) com pós teste de Tukey. Os escores de dor e sedação foram comparados entre diferentes momentos de um mesmo grupo pelo teste de Friedman, seguido de teste de Tukey. Os grupos em um mesmo momento foram comparados por teste não-paramétrico Kruskal-Wallis, seguido de teste post hoc de Dunn. O nível de significância considerado foi

¹⁰ Quantikine®, R&D Systems, EUA

¹¹ Systat Software, Chicago, EUA

de $p < 0,05$ para os testes realizados. O número da amostra foi definido baseado em estudos anteriores que se assemelham ao presente estudo. Os valores absolutos estão demonstrados em média $\pm$ desvio padrão.

5. Resultados

5.1 Características demográficas

5.1.1 Animais – idade, peso, sexo e raças

Foram incluídos no estudo 28 animais. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$) com relação a idade, peso e sexo (Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente). Houve maior incidência de animais fêmeas, totalizando 17 animais (60,7%), enquanto o número de machos foi de 11 animais (39,3%). A raça mais frequente foi Labrador (17,85 %), seguida da raça Boxer e de animais SRD – sem raça definida - (14,28%) (Tabela 4), não havendo entretanto diferença significativa da incidência de uma determinada raça nos grupos estudados.

Tabela 1 - Média e desvio-padrão das idades dos animais (n=28) nos diferentes grupos do estudo – FMVZ – São Paulo – 2012

Grupo	N	Média (anos)	Desvio-padrão
Tramadol	9	4	2,1
Metadona 0,5	10	5,1	2,2
Metadona 0,7	9	3,5	2,0

Tabela 2 - Média e desvio-padrão dos pesos dos animais (n=28) nos diferentes grupos do estudo – FMVZ – São Paulo – 2012

Grupo	N	Média (kg)	Desvio-padrão
Tramadol	9	29,7	8,8
Metadona 0,5	10	34,6	9,4
Metadona 0,7	9	38,8	17,7

Tabela 3 - Distribuição de sexo por número absoluto e de porcentagem dentro dos diferentes grupos estudados – FMVZ – São Paulo – 2012

Grupo	Machos		Fêmeas	
	Total	%	Total	%
Tramadol	3	27,4	6	35,3
Metadona 0,5	4	36,3	6	35,3
Metadona 0,7	4	36,3	5	29,4
Total	11	100	17	100

Tabela 4 - Raças dos animais incluídos no estudo e sua incidência (%) – FMVZ – São Paulo – 2012

Raça	Tramadol	Metadona 0,5	Metadona 0,7	Total	%
Beagle	1			1	3,58
Border Collie	1			1	3,58
Boxer	1	1	2	4	14,28
Buldogue Inglês	1	1		2	7,14
Dogue de Bordeaux		1		1	3,58
Golden Retriever		1		1	3,58
Kuvasz	1		1	2	7,14
Labrador	1	3	1	5	17,85
Pastor de Brie	1			1	3,58
Pit Bull	1	2		3	10,70
Rottweiler		1	1	2	7,14
Schnauzer gigante			1	1	3,57
SRD	1		3	4	14,28

5.1.2 Tipos de cirurgia

Dentro dos grupos estudados, a técnica operatória mais utilizada foi a TPLO, correspondendo a 53,6% das cirurgias realizadas no estudo, seguida da técnica de TTA (42,8%). A técnica de CWO correspondeu a 3,6% dos procedimentos (tabela 5).

Tabela 5 - Tipos de procedimentos cirúrgicos realizados nos diferentes grupos em números absolutos – FMVZ – São Paulo – 2012

	TTA	TPLO	CWO
Grupo			
Tramadol	4	5	-
Metadona 0,5	6	4	-
Metadona 0,7	2	6	1

5.2 Tempos cirúrgico e de extubação

Não houve diferença estatística entre os tempos de duração dos procedimentos cirúrgicos e de extubação entre os grupos avaliados (tabela 6).

Tabela 6 - Tempos de cirurgia e extubação (média $\pm$ desvio padrão) dos diferentes grupos – FMVZ – São Paulo – 2012

	Tempo de cirurgia	Tempo de extubação
Grupo	(média $\pm$ DP min)	(média $\pm$ DP min)
Tramadol	95, 3 $\pm$ 17,4	6,6 $\pm$ 2,4
Metadona 0,5	98, 2 $\pm$ 15,2	7,2 $\pm$ 1,6
Metadona 0,7	98, 5 $\pm$ 12,8	7,3 $\pm$ 2,2

5.3 Parâmetros cardiovasculares e respiratórios

5.3.1 Frequência cardíaca

Dentro do grupo TRA, houve diferença entre os momentos TBL e T6 com relação ao T2 ($p < 0,001$), em que houve queda nos valores de FC. No grupo MET 0,5, TBL diferiu de T1 ($p = 0,017$), de T2 ($p < 0,001$) e T6 ($p = 0,012$), sendo maiores as médias encontradas em TBL. Em MET 0,7, houve diferença significativa entre TBL e T2, T4 e T6 ($p < 0,001$), pois os valores em TBL eram maiores.

Houve diferença entre os grupos TRA e MET 0,7 em T2 ($p < 0,002$), T4 ($p < 0,002$) e T6 ($p < 0,001$); entre os grupos TRA e MET 0,5 em T6 ($p < 0,001$) e T24 ($p < 0,009$) e entre os grupos MET 0,5 e MET 0,7 em T4 ($p < 0,037$). Apenas um animal, do grupo MET0,7, apresentou bradicardia intensa com arritmia em T2, sendo prontamente tratada pela administração de atropina. Os valores estão apresentados na tabela 7.

5.3.2 Frequência respiratória

Todos os grupos apresentaram comportamento semelhante com relação a frequência respiratória. Houve aumento significativo em TBL com relação a T1, T2, T4 e T6 ($p < 0,001$). Em T2, os animais estavam sob ventilação controlada em frequência adequada para manutenção de normocapnia. Os valores mantiveram-se dentro do normal para os parâmetros respiratórios durante todo o período de observação. Estes estão demonstrados na tabela 7.

5.3.3 Pressão arterial sistólica

Dentro do grupo TRA, houve aumento significativo em TBL quando comparado a T2 ($p < 0,001$) e T4 ($p = 0,002$). No grupo MET 0,5, T2 diferiu de TBL, T1, T4 e T6 ($p < 0,001$),

tendo havido queda nos valores pressóricos em T2. No grupo MET 0,7, T2 apresentou redução significativa comparado a TBL, T1, T4, T6 e T24 ($p<0,001$). Entre os grupos, quando comparados num mesmo momento, em T1 houve diferença entre TRA e MET 0,7 ($p=0,32$) e entre MET 0,5 e MET 0,7 ($p<0,001$). Em T24, houve diferença entre TRA e MET 0,5 ($p=0,041$). Os valores mantiveram-se dentro dos parâmetros aceitáveis nas condições avaliadas e estão demonstrados na tabela 7.

5.3.4 Pressão arterial média

No grupo TRA, houve aumento significativo em TBL com relação a T2 ($p<0,001$). Em MET 0,5, T2 apresentou redução significativa quando comparado a todos os outros momentos: TBL ($p<0,001$), T1 ($p=0,002$), T4 ($p=0,003$), T6 ($p=0,011$) e T24 ($p<0,001$). Dentro do grupo MET 0,7, houve aumento significativo em TBL com relação a T2 ($p<0,001$) e T4 ($p=0,05$).

Entre os grupos, houve diferença somente em T1, entre os grupos MET 0,5 e MET 0,7 ($p<0,005$). Os valores mantiveram-se dentro dos parâmetros aceitáveis nas condições avaliadas e estão demonstrados na tabela 7.

5.3.5 Pressão arterial diastólica

No grupo MET 0,5, em TBL houve aumento significativo comparado a T1 ($p=0,01$), T2 ($p<0,001$), T4 ($p=0,003$) e T24 ($p<0,001$). No grupo MET 0,7, houve queda significativa em T2 quando comparado aos outros momentos ($p<0,001$). Entre os grupos, quando comparados num mesmo momento, houve diferença de MET 0,5 com relação a TRA ($p=0,05$) e MET 0,7 ($p=0,025$) em T1 e T24. Os valores estão demonstrados na tabela 7.

Tabela 7 - Frequência cardíaca - batimentos por minuto (FC - bpm), frequência respiratória - movimentos por minuto (FR - mpm), pressão arterial sistólica (PAS - mmHg), pressão arterial diastólica (PAD - mmHg) e pressão arterial média (PAM - mmHg) dos animais nos diferentes grupos e momentos (média $\pm$ desvio padrão) – FMVZ – São Paulo – 2012

		Tempo (horas)					
		TBL	T1	T2	T4	T6	T24
FC	Tramadol	136 $\pm$ 25	123 $\pm$ 12	101 $\pm$ 25 ^b	121 $\pm$ 25 ^b	143 $\pm$ 25 ^{*,a,b}	151 $\pm$ 27 ^a
	Metadona 0,5	133 $\pm$ 25	107 $\pm$ 30 [*]	83 $\pm$ 20 [*]	110 $\pm$ 26 ^b	106 $\pm$ 27 [*]	121 $\pm$ 8
	Metadona 0,7	140 $\pm$ 23	117 $\pm$ 16	64 $\pm$ 17 [*]	86 $\pm$ 26 [*]	105 $\pm$ 17 [*]	140 $\pm$ 14
FR	Tramadol	56 $\pm$ 9	46 $\pm$ 11 [*]	10 $\pm$ 2 [*]	26 $\pm$ 13 [*]	36 $\pm$ 18 [*]	55 $\pm$ 10
	Metadona 0,5	52 $\pm$ 13	55 $\pm$ 15 [*]	10 $\pm$ 2 [*]	31 $\pm$ 21 [*]	41 $\pm$ 17 [*]	60 $\pm$ 10
	Metadona 0,7	58 $\pm$ 7	60 $\pm$ 5 [*]	10 $\pm$ 2 [*]	25 $\pm$ 14 [*]	39 $\pm$ 14 [*]	52 $\pm$ 18
PAS	Tramadol	183 $\pm$ 15	161 $\pm$ 17 ^b	106 $\pm$ 17 [*]	156 $\pm$ 25 [*]	163 $\pm$ 24	176 $\pm$ 17 ^a
	Metadona 0,5	168 $\pm$ 24	146 $\pm$ 43 ^b	90 $\pm$ 17 [*]	147 $\pm$ 19	147 $\pm$ 23	173 $\pm$ 10
	Metadona 0,7	179 $\pm$ 23	187 $\pm$ 21	98 $\pm$ 20 [*]	120 $\pm$ 34	170 $\pm$ 23	165 $\pm$ 40
PAM	Tramadol	121 $\pm$ 3	128 $\pm$ 18	89 $\pm$ 19 [*]	104 $\pm$ 28	119 $\pm$ 25	140 $\pm$ 26
	Metadona 0,5	126 $\pm$ 19	109 $\pm$ 31 ^b	77 $\pm$ 13 [*]	108 $\pm$ 23	108 $\pm$ 23	123 $\pm$ 9
	Metadona 0,7	134 $\pm$ 24	137 $\pm$ 18	74 $\pm$ 14 [*]	110 $\pm$ 21 [*]	124 $\pm$ 21	122 $\pm$ 14
PAD	Tramadol	91 $\pm$ 5	111 $\pm$ 5 ^a	78 $\pm$ 17	87 $\pm$ 26	92 $\pm$ 23	100 $\pm$ 5 ^a
	Metadona 0,5	100 $\pm$ 19	85 $\pm$ 28 ^b	60 $\pm$ 12	60 $\pm$ 18	87 $\pm$ 23	77 $\pm$ 12 ^b
	Metadona 0,7	106 $\pm$ 22	107 $\pm$ 18	58 $\pm$ 14	84 $\pm$ 16	96 $\pm$ 21	100 $\pm$ 18

Diferença significativa $p < 0,05$; *:diferiu de TBL; a: diferiu de MET 0,5, b: diferiu de MET 0,7

5.4 Grau de sedação

Os valores de grau de sedação apresentados pelos animais dos grupos estudados estão demonstrados na tabela 8. No momento T2 não foi realizada avaliação da sedação, visto que os animais estavam sob anestesia geral (inconscientes). Os valores são apresentados em

mediana e os menores valores e maiores valores de escore observados no grupo, entre parênteses. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos e os momentos.

Tabela 8 - Escores de sedação dos animais nos momentos de avaliação apresentados em mediana (menor-maior valor encontrado) – FMVZ – São Paulo – 2012

	TBL	T1	T4	T6	T24
Tramadol	0 (0-0)	1 (0-1)	1 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-0)
Metadona 0,5	0 (0-0)	1 (0-2)	1 (1-2)	1 (0-1)	0 (0-0)
Metadona 0,7	0 (0-0)	2 (1-2)	2 (1-2)	1 (0-2)	0 (0-0)

5.5 Escala análoga visual (EAV)

Dentro do grupo TRA, houve diferença no momento T4 com relação a TBL, T1 e T24 e entre T1 e T6 ($p < 0,001$), com aumento significativo dos escores em T4. No grupo MET 0,5, somente houve diferença entre T1 e T4 ($p < 0,001$). Em MET 0,7, não foi possível detectar diferença significativa de EAV entre os momentos avaliados.

Os grupos TRA e MET 0,5 apresentaram valores mais altos ($3,4 \pm 2,5$ e $2,5 \pm 2,6$, respectivamente) que MET 0,7 ($1,1 \pm 1,5$) em T4. Os valores nos diferentes momentos estão demonstrados no gráfico 1.

Gráfico 1 - Escores de dor obtido por EAV no período perioperatório nos momentos de avaliação – FMVZ – São Paulo – 2012

5.6 Escalas de Colorado

Não houve diferença estatística entre os grupos para os escores de avaliação de dor aguda na escala de Colorado. Os valores são apresentados em mediana e os menores valores e maiores valores de escore observados no grupo, entre parênteses, na tabela 9.

Tabela 9 – Escores de avaliação de dor aguda na escala da Universidade do Colorado apresentados em mediana (menor-maior valor encontrado) nos diferentes grupos avaliados – FMVZ – São Paulo – 2012

	TBL	T1	T4	T6	T24
Tramadol	0 (0-0)	0 (0-0)	1,5 (0-3)	1 (0-2)	0 (0-1)
Metadona 0,5	0 (0-0)	0 (0-0)	1 (1-3)	0 (0-0)	0 (0-1)
Metadona 0,7	0 (0-0)	0 (0-0)	0,5 (0-2)	0 (0-1)	0 (0-0)

5.7 Escala composta modificada de Glasgow

Dentro do grupo TRA, não foi possível detectar diferença entre os momentos avaliados. Em MET 0,5, houve aumento significativo em T4 com relação aos momentos T6 e T24 ($p<0,001$). No grupo MET 0,7, houve aumento significativo de T4 para TBL e T24 ($p<0,001$).

Os grupos TRA e MET 0,5 apresentaram maiores escores ($3,39\pm2,78$ e $3,08\pm2,43$, respectivamente) que o grupo MET0,7 ($2,2\pm1,55$) em T4, diferindo dos outros momentos de avaliação. Os valores e sua tendência ao longo do período de observação estão demonstrados na gráfico 2.

Gráfico 2 - Escores de dor avaliados por escala de Glasgow modificada no período perioperatório nos momentos de avaliação – FMVZ – São Paulo – 2012

5.8 Interleucina-6

Em relação aos valores séricos de IL-6, não houve diferença significativa entre os diferentes momentos e grupos avaliados ($p>0,05$). Os valores em média e desvio-padrão estão demonstrados na gráfico 3.

Gráfico 3 - Valores séricos de IL-6 (pg/ml) obtidos nos momentos de avaliação nos diferentes grupos de tratamento analgésico – FMVZ – São Paulo – 2012

5.9 Resgate analgésico

Não houve diferença significativa entre os grupos com relação a necessidade e administração de resgate analgésico ($p>0,05$). No grupo TRA, quatro animais (44,4%) receberam resgate em T4 e dois animais (22,22%) em T6. No grupo MET 0,5, três animais (30%) receberam resgate em T4, enquanto em MET 0,7 apenas um animal (11,11%) recebeu resgate no momento T4.

6. Discussão

Os resultados de estudos que seguem a metodologia para avaliação da eficácia da analgesia preemptiva (comparação da ação do fármaco administrado antes ou após o estímulo cirúrgico) ainda são contraditórios, principalmente quando conduzidos na rotina clínica. Tendo-se em vista essa importante controvérsia, sugere-se atualmente que não importa o momento em que é administrado o analgésico, mas sim se sua duração e eficácia terão ação direta sobre a possibilidade de haver ou não dor pós-operatória e hiperalgesia. Assim, o que deve ser considerado é o emprego do fármaco analgésico de forma preventiva, que envolve em seu conceito o uso de analgésicos em qualquer momento do perioperatório, com o objetivo de reduzir as respostas ao estresse cirúrgico (Pogatzki-Zhan e Zhan, 2006; Hariharan et al., 2009), como aplicado no estudo apresentado.

Em uma revisão sistemática, foram estabelecidas cinco maneiras de se promover analgesia preventiva: infiltração perineural de anestésicos locais, analgesia epidural, uso sistêmico de antagonistas NMDA, AINEs e/ou opioides (Martinez et al., 2007). No presente estudo optou-se pelo emprego da metadona de forma preventiva. A sensibilização central é dependente da ativação dos receptores NMDA (Aida et al., 2000) e, a metadona, por possuir características de fármaco opioide agonista μ e de antagonista NMDA, é uma boa opção a ser considerada no controle da dor (Ebert et al., 1998), fato verificado neste estudo, tendo-se em vista que todos os animais tratados com esse fármaco apresentaram baixos escores de dor no período pós-operatório.

O tratamento da dor em cirurgias ortopédicas é importante pela possibilidade de efeitos deletérios na recuperação e reabilitação do paciente quando esta não é tratada de forma adequada e, como hoje há diversas técnicas possíveis de se promover analgesia, fica claro que

esse fato pode ser facilmente evitado (Rosenberg, 2006). A recuperação dos animais do estudo foi adequada, sendo relatado pelos proprietários a volta as funções usuais no mesmo dia da cirurgia (movimentação, ingestão de alimentos, defecação e micção). Ainda, não houve atraso na cicatrização das feridas e retirada de pontos, concluindo a alta em período normalmente observado (7 dias após o procedimento). Nenhum animal apresentava sinais de dor nas avaliações realizadas após o termino do período de avaliação do estudo.

No presente estudo, optou-se por não se incluir um grupo controle (sem tratamento analgésico), pois se acredita ser desnecessário e antiético alocar animais em um grupo que não recebe medicação analgésica em cirurgias em que o grau de dor é alto. É muito discutida a questão da ética no uso de grupo sem tratamento em estudos controlados, quando se há uma opção disponível. Diretrizes de ética em pesquisa recomendam a manutenção do bem-estar e redução de riscos de um paciente (Stein e Ray, 2010). Assim sendo, o tramadol, cujos efeitos analgésicos e farmacocinética em cães são bem definidos (Mastrocinque e Fantoni, 2003; McMillan et al., 2008; Vettorato et al., 2010), foi escolhido como o fármaco com o qual a metadona poderia ser comparada, em doses consideradas equipotentes, caracterizando um controle positivo (Monteiro et al., 2009).

Os opioides podem causar alguns efeitos adversos e existem diferentes respostas aos mesmos, dependendo da espécie animal observada. Sedação, ou seja, depressão do SNC, geralmente é observada em cães e humanos, enquanto estimulação central (excitação, aumento da atividade locomotora espontânea) ocorre geralmente em gatos e cavalos, estando provavelmente relacionada à distribuição dos receptores no SNC (Papich, 2000; Lamont e Mathews, 2007). Outros fatores, como o quadro clínico do paciente, a presença de dor prévia, o ambiente em que se encontra e a dose utilizada também influenciam este efeito.

Em estudo em *Greyhounds*, KuKanich e Borum (2008) relataram que, após administração de 0,5 mg/kg de metadona racêmica por via intravenosa, os animais

apresentaram leve sedação, não havendo ocorrência de efeitos adversos. A dose de 2 mg/kg de tramadol não causou efeitos adversos e sedação em cães submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico (TPLO) (Vettorato et al., 2010). Mesmo em doses mais elevadas, como no presente estudo, o tramadol e a metadona são boas opções para uso pré-operatório de cirurgias de grande potencial de dor, sem efeitos adversos significativos.

Os animais incluídos no estudo apresentavam baixos escores de dor na avaliação pré-operatória, em que o sinal mais observado era claudicação. Contudo, não foram observados sinais de excitação ou disforia em nenhum animal dos distintos grupos. Não houve, ainda, ocorrência de emese ou náusea nos animais, fato importante a ser considerado no protocolo anestésico e que comumente ocorre por estimulação do centro do vômito causada por opioides, principalmente os mais potentes, como a morfina. Náusea e vômito no pós-operatório, em humanos, são considerados uma complicação anestésica, devendo ser levados em consideração e tratados tanto quanto a dor.

A avaliação da sedação foi realizada com auxílio da tabela indicada por Valverde et al. (2004), baseada na observação da reação do animal ao meio e sua capacidade de movimentar-se após a MPA (conforme descrição no item 4.6.4).

A sedação observada no tratamento com metadona foi maior do que no grupo tramadol, corroborando com estudo de Monteiro et al. (2009), em que foram observados os efeitos sedativos dos opioides morfina, metadona, butorfanol e tramadol e concluíram ainda que o uso da metadona na medicação pré-anestésica resulta em melhor sedação, quando associada a acepromazina. A ocorrência de efeitos adversos geralmente aumenta nesses casos, pois a acepromazina é um fármaco que leva a hipotensão e os alfa-2 agonistas, bradicardia, como os opioides, havendo a necessidade de correta monitoração quando da utilização dessa associação. No presente estudo, não foram feitas associações de outros fármacos aos opioides para melhor avaliação dos efeitos destes isoladamente.

Os opioides podem promover depressão respiratória por ação direta nos centros respiratórios do tronco cerebral. Houve mínima redução da frequência respiratória nos três grupos do estudo após administração dos fármacos, sem consequências aparentes no transoperatório. A administração intravenosa de 0,3 mg/kg de metadona resultou em apneia e necessidade de ventilação mecânica em 50% de animais em anestesia com isoflurano em estudo comparativo com a administração da mesma dose por via epidural (Leibetseder et al., 2006).

Em estudo avaliando os efeitos cardiorrespiratórios da metadona em cães conscientes ou anestesiados com isoflurano, Garofalo et al. (2012) relatam que houve considerável aumento da pressão parcial de dióxido de carbono (PaCO_2) entre 30 e 90 minutos, resultando em diminuição de pH após administração intravenosa de 1 mg/kg de metadona. Estudos com tramadol administrado pela via intravenosa afirmam que há pouca depressão respiratória. O tramadol, na dose de 2 mg/kg por via intravenosa, não resultou em alterações significativas do pH e PCO_2 , mantendo os valores dentro dos valores normais, tanto durante anestesia geral como no pós-operatório (Mastrocinque e Fantoni, 2003).

A depressão respiratória induzida por opioides depende da dose e via de administração. Esse efeito pode não ter sido evidente no presente estudo por ter sido utilizada a via intramuscular, alterando a cinética de absorção e pico plasmático dos fármacos.

Não foram observadas diferenças na fração expirada de isoflurano durante o estudo, que se manteve entre 1,3 e 1,5 % em todos os grupos nos momentos de anestesia geral, índices menores do que os indicados para cirurgia (entre 1,6 e 1,9%). Credie et al. (2010) relataram que houve redução significativa na CAM do isoflurano quando da administração intravenosa da metadona na dose de 0,5 e 1,0 mg/kg, dose-dependente, ou seja, quanto maior a dose do analgésico, maior foi a redução da CAM nas condições do estudo. Contudo, este foi

realizado sem que os animais fossem submetidos a procedimento cirúrgico, o que pode ser a causa do resultado encontrado no presente estudo.

Não se objetivou avaliar a redução da CAM do anestésico inalatório no presente estudo. Houve a utilização de fentanil no trans-operatório para estabilizar os parâmetros dos animais logo antes do momento de maior estímulo doloroso do procedimento cirúrgico. O fentanil é um opioide de curta duração, sendo escolhido para que não tivesse efeito sobre as avaliações de dor no período pós-operatório.

Um animal do grupo MET0,7 apresentou alterações no traçado eletrocardiográfico (escapes ventriculares e bloqueios átrio-ventriculares de 3º grau) e importante bradicardia sendo necessário tratamento com atropina (0,025 mg/kg, IV). Segundo Krantz et al. (2009), a administração prolongada de metadona em humanos resulta em prolongamento do intervalo QT, podendo até causar arritmias severas como *Torsades de points*. Os mesmos autores sugerem que a ação deletéria do fármaco pode resultar de hipocalemia, hipomagnesemia, defeitos cardíacos estruturais, uso de inibidores do citocromo P450 e predisposição genética.

Outros autores comentam que a metadona pode causar bradicardia grave por bloqueio de canais de cálcio, efeito observado em viciados em heroína sob tratamento, em que foram administradas doses sequentes, cujos efeitos cessaram após sua suspensão. Esse efeito pode ser devido a sua estrutura química tridimensional assemelhar-se à do verapamil, um antiarrítmico com forte efeito sobre a resposta ventricular, diminuindo a resistência coronariana e periférica. Ambos foram capazes de causar bradicardia em ratos vagotomizados, do que se conclui que, diferente de outros opioides, o efeito depressor cardíaco da metadona não ocorre por bloqueio vagal (Wheeler e Tobias, 2006).

Alguns fatores que podem estar associados ao aparecimento de arritmias concomitante ao uso da metadona são: idade avançada, doses altas e uso de antidepressivos, que também podem causar bradicardia (Fonseca et al., 2009) e uso de fármacos que dependam de

metabolização hepática (Walker et al., 2003). Esses efeitos são atribuídos à porção S do fármaco (Lin et al., 2009), corroborando com estudos que afirmam que os dois isômeros de um fármaco possuem efeitos diferentes: enquanto um tem o efeito terapêutico, o outro pode ser o desencadeador dos efeitos deletérios (Caslavska e Thormann, 2011). O uso de composto racêmico, então, predispõe maior surgimento de efeitos adversos. Entretanto, esses efeitos são observados quando há uso crônico do fármaco e não parece ter relevância em uso agudo, como aplicado no estudo em questão.

Durante a recuperação não foram observados efeitos adversos graves em nenhum grupo tratado, porém oito animais do grupo tramadol apresentaram salivação intensa logo após sua administração até o fim do período de avaliação. O tramadol é amplamente utilizado em cães por proporcionar analgesia moderada e é utilizado por diversas vias (oral, subcutânea, intramuscular e epidural) sem maiores efeitos colaterais, sendo possível ser receitado aos proprietários para administração oral fora do ambiente hospitalar.

Em estudo da farmacocinética do tramadol por via intravenosa em cães, os autores relataram náusea e salivação intensa em cão tratado com 4 mg/kg (McMillan et al., 2008). Esse efeito não deve ser considerado grave, visto que, em animais que serão submetidos a tratamento prolongado no período pós-operatório ou em dores crônicas, a dose utilizada é menor que a utilizada nos estudos, podendo ser adequada de acordo com os sinais que o animal apresenta como resposta ao tratamento analgésico.

As avaliações dos escores de dor foram realizadas pela utilização de escala análoga visual (EAV). Apesar desse tipo de escala ser largamente utilizada para tal avaliação, ainda não há um consenso sobre qual escala é mais adequada (Price et al., 2008), principalmente em Medicina Veterinária, em que a falta de comunicação do paciente é um fator que dificulta a correta avaliação e diagnóstico. Por isso, novas escalas tem sido desenvolvidas para

avaliação de dor em animais, como a escala de dor composta de Glasgow e a escala de dor aguda em cães da Universidade do Colorado.

Houve correlação dos resultados observados pelas três escalas, porém a avaliação na escala de Glasgow foi a que mais se assemelhou ao estado clínico do paciente. Provavelmente, isso se deve a descrição detalhada dos comportamentos observados que constam na tabela, assim como a transcrição destes em número, tornando mais objetivo o resultado final da avaliação. Além disso, os números atribuídos na escala são resultado de estudo estatístico, em que o devido peso foi dado ao parâmetro observado, fazendo com que não haja diferenças entre um intervalo e outro da escala (Morton et al., 2005). Os maiores escores de dor encontrados nos três grupos foram observados em T4, ou seja 30 minutos após o fim da cirurgia. Nesse momento, era possível avaliar os animais sem que eles ainda estivessem sob efeito residual da anestesia geral, o que pode gerar interpretações errôneas.

Foi observado que no grupo TRA houve pior qualidade da recuperação e seis animais precisaram de analgesia resgate, enquanto os grupos que receberam metadona necessitaram de menor número de resgates. Em estudo realizado em cães, Mastrocinque e Fantoni (2003) compararam a dose de 2 mg/kg de tramadol com 0,2 mg/kg de morfina e observaram que ambas foram efetivas no controle de dor pós-operatória em cadelas submetidas a ovariectomia (OVH). Porém, o grau de dor causado pelas cirurgias são diferentes: enquanto a OVH causa dor leve a moderada, as osteotomias geram dor moderada a intensa.

A dose de tramadol utilizada no estudo não foi suficiente para controle da dor no pós-operatório imediato, havendo necessidade de um incremento da dose administrada. Assim, foi realizado resgate (1 mg/kg de tramadol) e os animais foram novamente submetidos a avaliação, em que se observou diminuição nos escores, indicando analgesia adequada após o complemento analgésico. Isso pode se dever ao fato de que a potência dos opioides é dose-

dependente. Assim, num quadro de dor grave, a dose deve ser ajustada de maneira que promova analgesia adequada (Lamont e Mathews, 2007).

Os animais do grupo MET 0,7 apresentaram melhor recuperação, com despertar mais tranquilo entre os três grupos e somente um animal (11,1%) necessitou de analgesia complementar (0,2 mg/kg de metadona). O resgate foi realizado pelo incremento de dose do mesmo fármaco utilizado na medicação pré-anestésica para que se avaliasse melhor somente seu efeito sobre a liberação de interleucinas. Após a avaliação de seis horas, os grupos receberam injeções a cada seis horas até a avaliação de 24 horas.

A maior incidência de indivíduos do sexo feminino no estudo é um dado a ser considerado na avaliação de dor. Diversos estudos recentes relacionam sexo e gênero a diferentes respostas a dor e aos fármacos analgésicos (Palmeira et al., 2011). Ainda há resultados controversos com relação a dor aguda pós-operatória, contudo há uma tendência de haver maior incidência de dor em fêmeas (Fillingim et al., 2009).

Pelo fato de parâmetros fisiológicos serem influenciados por alguns fatores indefinidos, como fármacos administrados e temperamento do animal, recomenda-se que sua avaliação seja acompanhada da mensuração de outros fatores para melhor diagnóstico e tratamento da dor.

A mensuração do nível de cortisol e interleucinas séricos são boas opções para que se relacione às observações clínicas e se obtenha dados mais relacionados ao estado real do paciente no momento avaliado. O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal gera variações circadianas nos níveis de cortisol. Apesar de ser uma análise exata (numérica), essa mensuração pode não condizer com o quadro clínico somente de dor, como também pelo comportamento do animal e horário da coleta. Kirwan et al. (2010) realizaram estudo em que os níveis de cortisol e IL-6 eram analisados durante 24 horas, por duas semanas, observando que há um ciclo circadiano para ambos, em que há picos nos valores de pacientes com artrite

reumatóide, especialmente no período da manhã, entre 7:45 e 8:00. Assim, o horário de tratamento e coleta das amostras pode alterar os resultados obtidos. As cirurgias do estudo foram todas realizadas no período da manhã, com início do procedimento anestésico (avaliação pré-anestésica) às 8:30 e início da cirurgia às 10:00.

A IL-6 desempenha a função de controlar o recrutamento de leucócitos durante a resposta inflamatória aguda, modulando a dor. Relata-se que, em modelos de dor inflamatória, a IL-6 resulta em liberação de prostaglandinas, causando hiperalgesia, mas também analgesia local pela liberação de opioides endógenos. Os níveis de IL-6 liberados tem associação ao tamanho da lesão, mas são encontrados aumentos em todos os tipos de cirurgia, não só as de grande porte (Wang et al., 2009).

Em estudo recente, verificou-se o comportamento desta citocina em cães com neoplasia oral, verificando-se pequeno incremento após o trauma cirúrgico (pico médio de 140 pg/ml). Entretanto, quando os valores obtidos foram comparados aos de animais hígidos ou positivos para leishmaniose visceral, verificou-se que os animais com câncer apresentaram níveis de IL-6 significativamente mais altos, mesmo no momento basal (média de 100 pg/ml). Os animais hígidos apresentaram média de 7,4 pg/ml e aqueles com leishmaniose, 16,2 pg/ml (Lima et al., 2007; Martins et al., 2010).

No presente estudo, houve aumento nos níveis de IL-6 em todos os grupos, contudo, pode-se observar que ocorreu de maneira semelhante nos mesmos. É provável que esse aumento seja decorrente da liberação durante o procedimento cirúrgico, perdurando até as 6 horas observadas após a MPA. Em humanos, relata-se que os níveis de IL-6 podem estar aumentados até 10 dias após a liberação (Oliveira et al., 2011). A IL-6 está presente também em lesões e infecções ósseas, participando da reabsorção óssea por ativação de osteoclastos (Claro et al., 2013).

Em cães submetidos a cirurgia laparoscópica, os níveis de IL-6 aumentaram com relação ao basal nos momentos de 2 a 6 horas após o estímulo, atingindo níveis séricos de 100 pg/ml, valores próximos àqueles encontrados no presente estudo, indicando que a liberação de IL-6 em cirurgias de animais hígidos ocorre, mas não de maneira exuberante (Freeman et al., 2009). Não foram utilizados quaisquer outros fármacos analgésicos nos grupos para que não houvesse interferência na interpretação dos níveis plasmáticos de IL-6. Não há na literatura disponível atualmente estudo envolvendo mensuração de citocinas pró-inflamatórias com o uso de metadona ou tramadol em cães.

A mensuração de interleucinas séricas pode ter menor poder indicador de dor aguda quando comparada à análise no sítio da lesão. Em estudos em humanos comparando níveis encontrados no sangue com níveis de lavados coletados de drenos cirúrgicos, observou-se que os níveis séricos podem muitas vezes ser indetectáveis (muito próximos de zero), indicando que a lesão cirúrgica desencadeia uma resposta inflamatória muito localizada, sem maiores efeitos sistêmicos, diferente do que ocorre em quadros mais graves, como sepse (Carvalho et al., 2008; Cuellar et al., 2009). Ainda assim, não há correlação entre os níveis encontrados no local da lesão e os escores de dor relatados pelos pacientes, sendo necessários mais estudos que associem os dois fatores de maneira positiva.

7. Conclusões

Os resultados observados no presente estudo nos permite tecer as seguintes conclusões:

- Os protocolos analgésicos propostos foram efetivos para o controle da dor pós operatória mediante incremento de dose para adequação da analgesia. Entretanto, a metadona na dose de 0,7 mg/kg mostrou ser o protocolo mais adequado, uma vez que apenas um animal desse grupo necessitou de incremento;
- Os fármacos não causaram efeitos cardiovasculares e efeitos adversos graves, podendo ser aplicados na medicação pré-anestésica em cães;
- Os níveis de IL-6 encontrados sugerem modulação da resposta inflamatória pela metadona e pelo tramadol.

8. Anexos

Anexo A – Termo de ciência e autorização

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 - CEP 05508-900
Cidade Universitária- São Paulo -SP - Brasil
TEL (011) 3818- 7676/7691

TERMO DE CIÊNCIA E AUTORIZAÇÃO

Eu, _____, responsável pelo animal da espécie _____, raça _____, sexo _____, registrado no Hospital Veterinário da FMVZ sob nº _____, ESTOU CIENTE de que o animal de minha propriedade fará parte do protocolo de pesquisa intitulado: “Avaliação da eficácia analgésica e resposta inflamatória em cães tratados com metadona ou tramadol e submetidos a osteotomias corretivas”, em desenvolvimento no Serviço de Anestesia desta Faculdade, sob a responsabilidade da Professora Doutora Denise Tabacchi Fantoni, do Departamento de Cirurgia, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Outrossim, declaro ter sido esclarecido de forma pormenorizada sobre os procedimentos que serão aplicados nesse animal.

Por estar plenamente concorde firmo o presente.

São Paulo, ____ de _____ de _____

ASSINATURA

RG nº:

Anexo B – Escala modificada composta de Glasgow

	Parâmetros	Critério	P	TBL	T1	T2	T4	T6	T24
Do lado de fora do canil, olhar para o cão e responder as seguintes questões:	Postura	Rígido	1.20						
		Corcunda	1.13						
		Normal	0.00						
	Vocalização	Chora	0.83						
		Geme	0.92						
		Grita	1.75						
		Não vocaliza	0.00						
	Atenção à ferida cirúrgica	Mordendo	1.40						
		Lambendo/ olhando/ esfregando	0.94						
		Ignorando	0.00						
Entre no canil e chame o animal pelo nome. Encorage-o a se levantar e andar até você. Avalie a mobilidade	Mobilidade	Recusa-se a se mover	1,56						
		Rígido, duro, inflexível	1.17						
		Lento ou relutante para levantar e sentar	0.87						
		Claudicando	1.46						
		Normal	0						
Avalie em seguida a reação do animal à manipulação da ferida cirúrgica	Resposta ao toque	Chora	1.37						
		Foge/tira o corpo fora antes/ao toque	0.81						
		Tenta morder antes/ao toque	1.38						
		Rosna/guarda antes/ao toque	1.12						
		Não reage	0						
Finalmente dê sua impressão sobre o comportamento e o conforto	Comporta/o	Agressivo/ Deprimido	1.22						
		Desinteressado	1.56						
		Nervoso, ansioso, medroso	1.13						
		Quieto Indiferente	0.87						
		Contente/ Saltitante	0.08						
	Conforto	Desconfortável	1.17						
		Confortável	0.00						
			Total						

Anexo C – Escala de dor aguda em cães da Universidade do Colorado

Date _____

Time _____

Colorado State University Veterinary Medical Center Canine Acute Pain Scale

Rescore when awake

- ☐ Animal is sleeping, but can be aroused - Not evaluated for pain
- ☐ Animal can't be aroused, check vital signs, assess therapy

Pain Score	Example	Psychological & Behavioral	Response to Palpation	Body Tension
0		☐ Comfortable when resting ☐ Happy, content ☐ Not bothering wound or surgery site ☐ Interested in or curious about surroundings	☐ Nontender to palpation of wound or surgery site, or to palpation elsewhere	Minimal
1		☐ Content to slightly unsettled or restless ☐ Distracted easily by surroundings	☐ Reacts to palpation of wound, surgery site, or other body part by looking around, flinching, or whimpering	Mild
2		☐ Looks uncomfortable when resting ☐ May whimper or cry and may lick or rub wound or surgery site when unattended ☐ Droopy ears, worried facial expression (arched eye brows, darting eyes) ☐ Reluctant to respond when beckoned ☐ Not eager to interact with people or surroundings but will look around to see what is going on	☐ Flinches, whimpers cries, or guards/pulls away	Mild to Moderate Reassess analgesic plan
3		☐ Unsettled, crying, groaning, biting or chewing wound when unattended ☐ Guards or protects wound or surgery site by altering weight distribution (i.e., limping, shifting body position) ☐ May be unwilling to move all or part of body	☐ May be subtle (shifting eyes or increased respiratory rate) if dog is too painful to move or is stoic ☐ May be dramatic, such as a sharp cry, growl, bite or bite threat, and/or pulling away	Moderate Reassess analgesic plan
4		☐ Constantly groaning or screaming when unattended ☐ May bite or chew at wound, but unlikely to move ☐ Potentially unresponsive to surroundings ☐ Difficult to distract from pain	☐ Cries at non-painful palpation (may be experiencing allodynia, wind-up, or fearful that pain could be made worse) ☐ May react aggressively to palpation	Moderate to Severe May be rigid to avoid painful movement Reassess analgesic plan

RIGHT

LEFT

Comments _____

9. Referências bibliográficas

Aida S, Fujihara H, Taga K, Fukuda S, Shimoji K. Involvement of presurgical pain in preemptive analgesia for orthopedic surgery: a randomized double blind study. *Pain*. 2000 Feb; 84(2-3):169–73.

Beilin B, Bessler H, Mayburd E, Smirnov G, Dekel A, Yardeni I, Shavit Y. Effects of Preemptive Analgesia on Pain and Cytokine. *Anesthesiology*. 2003 Jan; 98(1):151-5.

Brown R, Kraus C, Fleming M, Reddy S. Methadone: applied pharmacology and use as adjunctive treatment in chronic pain. *Postgrad Med J*. 2004 Nov; 80 (949):654-9.

Campagnol D, Teixeira-Neto FJ, Peccinini RG, Oliveira FA, Alvaides RK, Medeiros LQ. Comparison of the effects of epidural or intravenous methadone on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Vet J*. 2012 Jun;192(3):311–5.

Carvalho B, Clark DJ, Angst MS. Local and systemic release of cytokines, nerve growth factor, prostaglandin E2, and substance P in incisional wounds and serum following cesarean delivery. *J Pain*. 2008 Jul; 9(7):650–7.

Caslavska J, Thormann W. Stereoselective determination of drugs and metabolites in body fluids, tissues and microsomal preparations by capillary electrophoresis (2000-2010). *J Chromatogr A*. 2011 Jan 28; 1218(4):588–601.

Claro T, Widaa A, McDonnell C, Foster DJ, O'Brien FJ, Kerrigan SW. *Staphylococcus aureus* protein A binding to osteoblast tumour necrosis factor receptor 1 results in activation of nuclear factor kappa B and release of interleukin-6 in bone infection. *Microbiology*. 2013; 159: 147-154.

Codd EE, Shank RP, Schupsky JJ, Raffa RB. Serotonin and Norepinephrine Uptake Inhibiting Activity of Centrally Acting Analgesics: Structural Determinants and Role in Antinociception. *Journal Pharmacol Exp Ther*. 1995 Sep; 274(3):1263–70.

Côrtes L. *Avaliação do perfil analgésico do tramadol através da verificação temporal de sua concentração plasmática em cadelas submetidas a ovário-salpingo-histerectomia* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2006.

Credie RG, Teixeira Neto FJ, Ferreira TH, Aguiar AJA, Restitutti FC, Corrente JE. Effects of methadone on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2010 May; 37(3):240–9.

Cuellar JM, Scuderi GJ, Cuellar VG, Golish SR, Yeomans DC. Diagnostic utility of cytokine biomarkers in the evaluation of acute knee pain. *J Bone Joint Surg Am*. 2009 Oct; 91(10):2313–20.

Dole VP, Nyswander M. A Medical Treatment for Diacetylmorphine (Heroin) Addiction: A Clinical Trial With Methadone Hydrochloride. *JAMA*. 1965 Aug 23; 193(8):646–50.

Ebert B, Thorkildsen C, Andersen S, Christrup LL, Hjeds H. Opioid analgesics as noncompetitive N-Methyl-D-aspartate (NMDA) antagonists. *Biochem Pharmacol*. 1998 Sep 1; 56(5):553–9.

Ferrari A, Coccia CPR, Bertolini A, Sternieri E. Methadone — metabolism, pharmacokinetics and interactions. *Pharmacol Res*. 2004 Dec; 50(6):551–9.

Ferreira TH, Steffey EP, Mama KR, Rezende ML, Aguiar AJA. Determination of the sevoflurane sparing effect of methadone in cats. *Vet Anaesth Analg*. 2011 Jul; 38(4):310–9.

Fillingim RB, King CD, Ribeiro-Dasilva MC, Rahim-Williams B, Riley III JL. Sex, gender, and pain: a review of recent clinical and experimental findings. *J Pain*. 2009 May; 10(5): 447-485.

Fonseca F, Marti-Almor J, Pastor A, Cladellas M, Farré M, de la Torre R, Torrens M. Prevalence of long QTc interval in methadone maintenance patients. *Drug Alcohol Depend*. 2009 Jan 1; 99(1-3):327–32.

Freeman LJ, Rahmani EY, Sherman S, Chiorean MV, Selzer DJ, Constable PD, Snyder PW. Oophorectomy by natural orifice transluminal endoscopic surgery: feasibility study in dogs. *Gastrointest Endosc*. 2009 Jun; 69(7):1321–32.

Gallagher R. Methadone: an effective, safe drug of first choice for pain management in frail older adults. *Pain Med*. 2009 Mar; 10(2):319–26.

Garofalo NA, Teixeira Neto FJ, Pereira CDN, Pignaton W, Vicente F, Alvaides RK. Cardiorespiratory and neuroendocrine changes induced by methadone in conscious and in isoflurane anaesthetised dogs. *Vet J*. 2012; 194(3): 398-404.

Gorman AL, Elliott KJ, Inturrisi CE. The d- and l-isomers of methadone bind to the non-competitive site on the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in rat forebrain and spinal cord. *Neurosci Lett*. 1997 Feb 14; 223(1):5–8.

Gurney MA. Pharmacological options for intra-operative and early postoperative analgesia: an update. *J Small Anim Pract*. 2012 Jul; 53(7):377–86.

Hariharan S, Moseley H, Kumar A, Raju S. The effect of preemptive analgesia in postoperative pain relief-a prospective double-blind randomized study. *Pain Med*. 2009 Jan; 10(1):49–53.

Holtman JR, Wala EP. Characterization of the antinociceptive and pronociceptive effects of methadone in rats. *Anesthesiology*. 2007 Mar; 106(3):563–71.

Hutchinson MR, Somogyi AA. (S)(+)-methadone is more immunosuppressive than the potent analgesic (R)(-)-methadone. *Int Immunopharmacol*. 2004 Nov; 4(12):1525–30.

Ingvast-Larsson C, Holgersson A, Bondesson U, Lagerstedt AS, Olsson K. Clinical pharmacology of methadone in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2010 Jan; 37(1):48–56.

Inturrisi CE. Pharmacology of methadone and its isomers. *Minerva Anesthesiol*. 2005 Jul-Aug; 71(7-8):435–7.

Kapur BM, Hutson JR, Chibber T, Luk A, Selby P. Methadone: a review of drug-drug and pathophysiological interactions. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2011 Jul-Aug; 48(4):171–95.

Kirwan JR, Clarke L, Hunt LP, Perry MG, Straub RH, Jessop DS. Effect of novel therapeutic glucocorticoids on circadian rhythms of hormones and cytokines in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Apr;1193:127–33.

Krantz MJ, Martin J, Stimmel B, Mehta D, Haigney MC. QTc interval screening in methadone treatment. *Ann Intern Med*. 2009 Mar 17; 150(6):387–95.

KuKanich B, Borum SL. The disposition and behavioral effects of methadone in Greyhounds. *Vet Anaesth Analg*. 2008 May; 35(3):242–8.

KuKanich B, Lascelles BD, Aman AM, Mealey KL, Papich MG. The effects of inhibiting cytochrome P450 3A, p-glycoprotein, and gastric acid secretion on the oral bioavailability of methadone in dogs. *J Vet Pharmacol Ther*. 2005 Oct; 28(5):461–6.

Lamont LA, Mathews, KA. Opioids, Non-steroidal Anti-inflammatories, and analgesic adjuvants. In: Tranquilli, WJ, Thurmon, JC, Grimm, KA, eds. *Lumb and Jones Veterinary Anesthesia and Analgesia*, 4th edition. Iowa: Blackwell, 2007. 241-272.

Ledowski T, Reimer M, Chavez V, Kapoor V, Wenk M. Effects of acute postoperative pain on catecholamine plasma levels, hemodynamic parameters, and cardiac autonomic control. *Pain*. 2012 Apr; 153(4):759–64.

Leibetseder EN, Mosing M, Jones RS. A comparison of extradural and intravenous methadone on intraoperative isoflurane and postoperative analgesia requirements in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2006 Mar; 33(2):128–36.

de Lima VM, Peiro JR, de Oliveira Vasconcelos R. IL-6 and TNF-alpha production during active canine visceral leishmaniasis. *Vet Immunol Immunopathol*. 2007 Jan 15;115(1-2):189–93.

Lin C, Somberg T, Molnar J, Somberg J. The effects of chiral isolates of methadone on the cardiac potassium channel IKr. *Cardiology*. 2009;113(1):59–65.

Liu YM, Zhu SM, Wang KR, Feng ZY, Chen QL. Effect of tramadol on immune responses and nociceptive thresholds in a rat model of incisional pain. *J Zhejiang Univ Science*. 2008 Nov; 9(11):895–902.

Lloyd-Thomas AR. Pain management in paediatric patients. *Br J Anaesth*. 1990 Jan; 64(1):85–104.

Loeser JD, Treede RD. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. *Pain*. 2008 Jul 31; 137(3):473–7.

Lorenz KA, Sherbourne CD, Shugarman LR, Rubenstein LV, Wen L, Cohen A, Goebel JR, Hagenmeier E, Simon B, Lanto A, Asch SM. How reliable is pain as fifth vital sign? *J Am Board Fam Med*. 2009; 22 (3): 291-298.

Martinez V, Belbachir A, Jaber A, Cherif K, Jamal A, Sessler DI, Chauvin M, Fletcher D. The influence of timing of administration on the analgesic efficacy of parecoxib in orthopedic surgery. *Anesth Analg*. 2007 Jun;104(6):1521–7.

Martins T, Kahvegian MA, Noel-Morgan J, Leon-Román MA, Otsuki DA, Fantoni DT. Comparison of the effects of tramadol, codein, and ketoprofen alone or in combination on postoperative pain and on concentrations of blood glucose, serum cortisol, and serum interleukin-6 in dogs undergoing maxillectomy or mandibulectomy. *Am J Vet Res*. 2010 Sep;71(9):1019–26.

Mastrocinque S, Almeida TF, Tatarunas AC, Imagawa VH, Otsuki DA, Matera JM, Fantoni DT. Comparison of epidural and systemic tramadol for analgesia following ovariohysterectomy. *J Am Anim Hosp Assoc*. 2012 Sep-Oct; 48(5):310-9.

Mastrocinque S, Fantoni DT. A comparison of preoperative tramadol and morphine for the control of early postoperative pain in canine ovariohysterectomy. *Vet Anaesth Analg*. 2003 Oct;30(4):220–8.

McMillan CJ, Livingston A, Clark CR, Dowling PM, Taylor SM, Duke T, Terlinden R. Pharmacokinetics of intravenous tramadol in dogs. *Can J Vet Res*. 2008 Jul;72(4):325–31.

Mich PM, Hellyer PW, Rogan L, Schoenfeld-Tacher R. Effects of a pilot training program on veterinary students' pain knowledge, attitude, and assessment skills. *J Vet Med Educ*. 2010; 37(4): 358-68.

Möllenhoff A, Nolte I, Kramer S. Anti-nociceptive efficacy of carprofen, levomethadone and buprenorphine for pain relief in cats following major orthopaedic surgery. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 2005 May;52(4):186–98.

Monteiro ER, Figueroa CD, Choma JC, Campagnol D, Bettini CM. Effects of methadone, alone or in combination with acepromazine or xylazine, on sedation and physiologic values in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2008 Nov;35(6):519–27.

Monteiro ER, Junior AR, Assis HM, Campagnol D, Quitzan JG. Comparative study on the sedative effects of morphine, methadone, butorphanol or tramadol, in combination with acepromazine, in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2009 Jan;36(1):25–33.

Morton C, Reid J, Scott E, Holton L, Nolan A. Application of a scaling model to establish and validate an interval level pain scale for assessment of acute pain in dogs. *Am J Vet Res*. 2005 Dec;66(12):2154–66.

Oliveira CMBD, Sakata RK, Issy AM, Gerola LR. Citocinas e Dor. *Rev Bras Anesthesiol*. 2011;61(2):255–65.

Orita S, Ishikawa T, Miyagi M, Ochiai N, Inoue G, Eguchi Y, Kamoda H, Arai G, Suzuki M, Sakuma Y, Oikawa Y, Toyone T, Aoki Y, Takahashi K, Ohtori S. Percutaneously absorbed NSAIDs attenuate local production of proinflammatory cytokines and suppress the expression of c-Fos in the spinal cord of a rodent model of knee osteoarthritis. *J Orthop Sci*. 2012 Jan;17(1):77–86.

Page G. Acute pain and immune impairment. *Pain: clinical updates*. 2005; XIII(1):1–4.

Palmeira CCA, Ashmawi HA, Posso IP. Sexo e percepção da dor e analgesia. *Rev Bras Anesthesiol*. 2011; 61(6): 814-828.

Papich MG. Pharmacologic considerations for opiate analgesic and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2000 Jul;30(4):815–37, vii.

Pogatzki-Zahn EM, Zahn PK. From preemptive to preventive analgesia. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2006 Oct;19(5):551–5.

Price DD, Patel R, Robinson ME, Staud R. Characteristics of electronic visual analogue and numerical scales for ratings of experimental pain in healthy subjects and fibromyalgia patients. *Pain*. 2008 Nov 15;140(1):158–66.

Rocha APC, Kraychete DC, Lemônica L, Carvalho LR, Barros GAM, Garcia JBS, Sakata RK. Dor: Aspectos Atuais da Sensibilização Periférica e Central. *Rev Bras Anesthesiol*. 2007;57(1):94–105.

Rosenberg AG. Anesthesia and analgesia protocols for total knee arthroplasty. *Am J Orthop*. 2006 Jul;35(7 Suppl):23–6.

Sacerdote P, Franchi S, Panerai AE. Non-analgesic effects of opioids: mechanisms and potential clinical relevance of opioid-induced immunodepression. *Curr Pharm Des*. 2012; 18(37), 6034-6042.

Sakata R. Tratamento da dor. In: Yamashita A, Takaoka F, Auler Junior J, Iwata N, eds. *Anestesiologia - SAESP 5ª edição*. São Paulo: Atheneu; 2001. p. 1165–82.

Searle RD, Howell SJ, Bennett MI. Diagnosing postoperative neuropathic pain: a Delphi survey. *Br J Anaesth*. 2012 Aug;109(2):240–4.

Seddighi MR, Egger CM, Rohrbach BW, Cox SK, Doherty TJ. Effects of tramadol on the minimum alveolar concentration of sevoflurane in dogs. *Vet Anesth Analg*. 2009, 36:334-340.

Skjervold B, Bathen J, Spigset O. Methadone and the QT interval: relations to the serum concentrations of methadone and its enantiomers (R)-methadone and (S)-methadone. *J Clin Psychopharmacol*. 2006 Dec;26(6):687–9.

Steagall PVM, Carnicelli P, Taylor PM, Luna SPL, Dixon M, Ferreira TH. Effects of subcutaneous methadone, morphine, buprenorphine or saline on thermal and pressure thresholds in cats. *J Vet Pharmacol Ther*. 2006 Dec;29(6):531–7.

Stein CM, Ray WA. The ethics of placebo in studies with fracture end points in osteoporosis. *N Engl J Med*. 2010 Sep 30;363(14):1367–70.

Valverde A, Cantwell S, Hernández J, Brotherson C. Effects of acepromazine on the incidence of vomiting associated with opioid administration in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2004 Jan;31(1):40–5.

Vettorato E, Zonca A, Isola M, Villa R, Gallo M, Ravasio G, Beccaglia M, Montesissa C, Cagnardi P. Pharmacokinetics and efficacy of intravenous and extradural tramadol in dogs. *Vet J*. 2010 Mar;183(3):310–5.

Voscopoulos C, Lema M. When does acute pain become chronic? *Brit J Anaesth*. 2010 Dec;105 Suppl 1:i 69–85.

Walker P, Klein D, Kasza L. High dose methadone and ventricular arrhythmias: a report of three cases. *Pain*. 2003;103(3):321–4.

Wang XM, Hamza M, Wu TX, Dionne RA. Upregulation of IL-6, IL-8 and CCL2 gene expression after acute inflammation: correlation to clinical pain. *Pain*. 2009 Apr;142(3):275–83.

Wheeler AD, Tobias JD. Bradycardia during methadone therapy in an infant. *Pediatr Crit Care Med*. 2006 Jan;7(1):83–5.

Xu J, Brennan TJ. The pathophysiology of acute pain: animal models. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2011 Oct;24(5):508–14.